

ПУТИ ОБЕЗВРЕЖИВАНИЯ АММИАКА

Лекция 2

Наумов
Александр Васильевич

Доцент, кандидат мед. наук.

Декарбоксилирование АК - необратимое
отщепления карбоксильной группы аминокислот
в виде **CO₂**
продукты реакции — **биогенные амины**

В животных тканях установлено декарбоксилирование:
тирозина,
триптофана,
валина,
серина,
гистидина,
глутаминовой,
цистеина,
аргинина,
орнитина,
S-аденозилметионина.

Декарбоксилазы аминокислот состоят из апофермента и простетической группы - **PLP - пиридоксальфосфата**

Продуктами декарбоксилирования

триптофана, и его L-изомера

5-окситриптофана и

3,4-диоксифенилаланина (ДОФА) (Tyr, Y);

являются

триптамин,

серотонин и

диоксифенилэтиламин (**дофамин**).

Декарбоксилаза ароматических аминокислот

В больших количествах она содержится в надпочечниках и ЦНС

Серотонин регулирует
артериальное давление,
температуру тела,
дыхание,
почечную фильтрацию и
медиатор нервных процессов в ЦНС.

Серотонин причастен к развитию
аллергии,
токсикоза беременных,
геморрагических диатезов.

Дофамин - предшественник катехоламинов (норадреналина и адреналина).

Гистамин обладает сосудорасширяющим свойством. Образуется в области воспаления. Вызывая расширение сосудов в очаге воспаления - ускоряет приток лейкоцитов. Участвует в секреции HCl в желудке.

ГАМК тормозящим медиатор ЦНС.

Больше всего **ГАМК** и **глутамат** **декарбоксилазы** обнаружено в сером веществе коры мозга, белое вещество и периферическая нервная система их почти не содержат.

При декарбоксилировании производных **цистеина** — **цистеиновой** и **цистеинсульфиновой** кислот - образуется **таурин**.

Декарбоксилирование **орнитина** и **S-аденозилметионина**: осуществляют **орнитиндекарбоксилаза** и **аденозилметиониндекарбоксилаза**.

Продукты реакций используются для синтеза

полиаминов —

путресцина, спермидина и спермина.

Полиамины - играют важную роль: в процессах клеточного роста и дифференцировки, функционирования ионных каналов, упаковке нуклеиновых кислот, репликации ДНК, апоптозе, транскрипции и трансляции, стабилизации мембраны и цитоскелета.

Источники аммиака

Аммиак - конечный побочный продукт метаболизма АК – продукт **дезаминирования** (**глутамат-дегидрогеназа**).

Токсичен в высоких концентрациях

Основные источники аммиака

1. **неокислительное дезаминирование** некоторых аминокислот (серина, треонина, гистидина) – в печени,
2. **окислительное дезаминирование** глутамата во всех тканях (кроме мышечной), особенно в печени и почках,
3. **дезаминирование амидов** - глутамина и аспарагина – в печени и почках,
4. **катаболизм биогенных аминов** – во всех тканях, в наибольшей степени в нервной ткани,
5. распад **пуриновых** и **пиримидиновых** оснований – во всех тканях,
6. жизнедеятельность **бактерий** толстого кишечника.

Аммиак NH_3 (аммониак, нитрид водорода) относится к умеренно-токсичным химическим веществам, однако в больших концентрациях - сильный **яд** для человека.

По физиологическому действию на организм относится к группе веществ **удушающего** и **нейротропного** действия,
при ингаляционном поражении вызывает **токсический отёк лёгких** и тяжёлое **поражение нервной системы**.

Ощущение запаха аммиака свидетельствует о превышении допустимых норм.

Физиологическое действие **нашатырного спирта** - раздражение специфических **рецепторов** слизистой оболочки носа и возбуждение

- **дыхательного** и
- **сосудодвигательного центров** мозга,

вызывает учащение дыхания и повышение артериального давления.

Печень животных преобразует NH_3 в **мочевину** с помощью серии последовательных реакций, известных как **цикл мочевины**.

а) нарушение функции печени (цирроз печени) или **б)** врождённые генетические дефекты ферментов **цикла мочевины** приводят к нарушению способности печени обезвреживать NH_3 и образовывать из него **мочевину**, и, как следствие, к повышению уровня аммиака в крови - **гипераммониемии**.

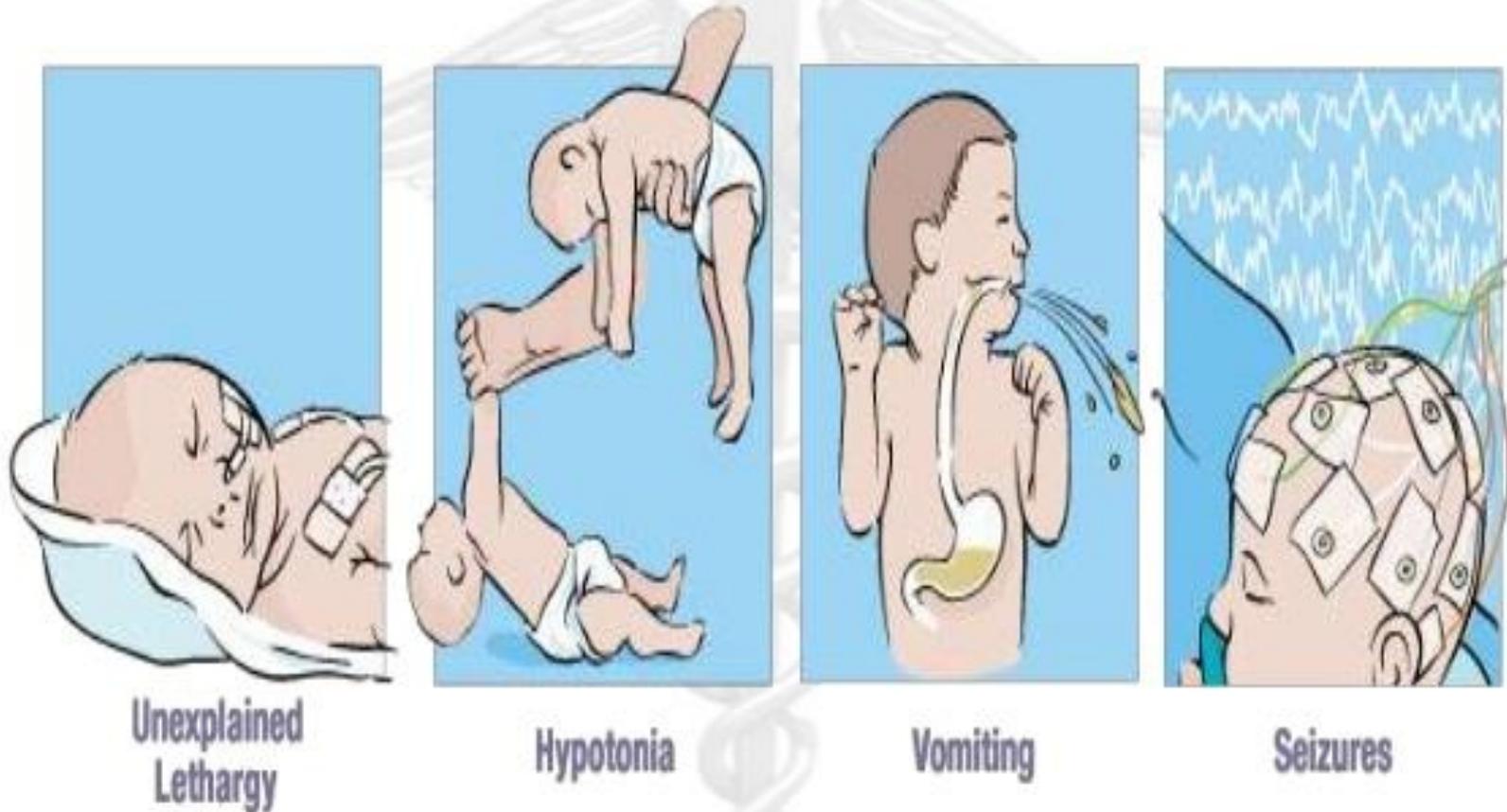
в) нарушение выделительной функции почек при тяжёлой почечной недостаточности (задержка выделения **мочевины**) её уровень в крови возрастает - «цикл мочевины» начинает работать «в обратную сторону» — избыток мочевины гидролизуется обратно почками в CO_2 и NH_3 . уровень **аммиака** в крови возрастает.

Гипераммониемия

Приводит - к **нарушению сознания** и развитию **сопорозных** и **коматозных** состояний при **печёночной энцефалопатии** и **уремии**,
- к развитию **неврологических нарушений**, наблюдаемых у больных со врождёнными дефектами ферментов цикла мочевины.



Signs and symptoms of early-onset hyperammonemia (neonates) may include the following:



Гипераммониемия наблюдается при любых процессах повышенного катаболизма белков:

- при обширных **ожогах**,
- **синдроме сдавления** или разможнения тканей,
- обширных **гнойно-некротических** процессах,
- **гангрене** конечностей,
- **сепсисе** и т. д.,

При некоторых **эндокринных нарушениях**, -
сахарный диабет,
тяжёлый тиреотоксикоз.

Гипотезы токсичности аммиака

1. отток **α -кетоглутарата** из ЦТК,
2. защелачивание плазмы крови - эффект Бора - гипоксия тканей.
3. ион NH_4^+ - конкурирует с ионными насосами для **Na^+** и **K^+** .
4. **глутамин** – осмотически активное вещество. Вызывает отёк мозга, **кому** и **смерть**.
5. снижение синтеза **γ -аминомасляной кислоты (ГАМК)**, тормозного медиатора нервной системы.

Обезвреживание аммиака

Аммиак важен для поддержания **кислотно-щелочного баланса** крови. После образования **NH₃** из **Gln**, **альфа-кетоглутарат** далее расщепляется с образованием двух молекул **гидрокарбоната**.



NH₃ может диффундировать через почечные канальцы, соединяться с ионом водорода и экскретироваться



NH₃ из **Gln** выделяется с мочой, что приводит к сдвигу **pH** крови в щелочную сторону.

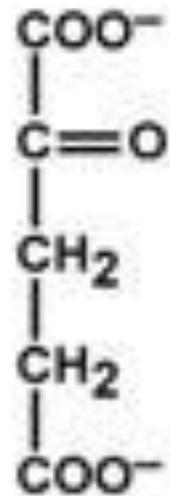
У млекопитающих, включая человека, **аммиак**

а) встраивается в структуру **АК**

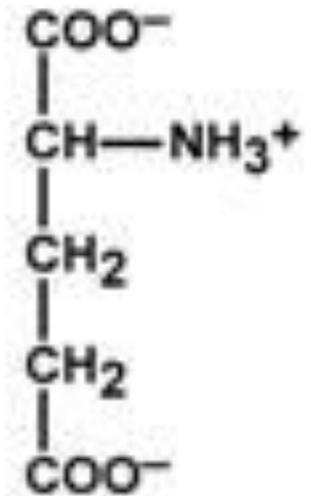
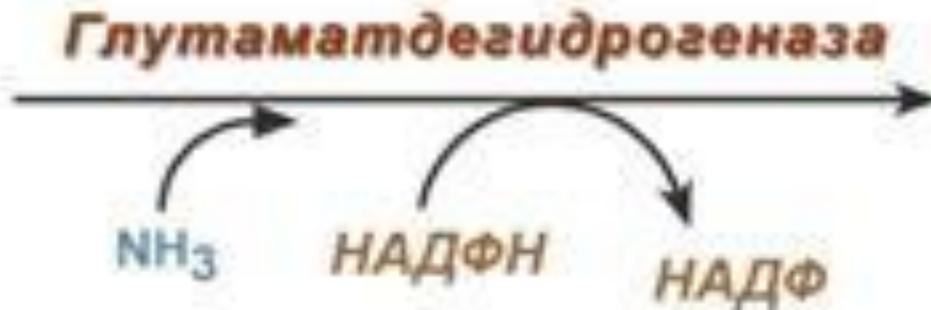
б) превращается в **мочевину**, которая гораздо менее токсична, имеет менее щелочную реакцию и меньшую реакционную способность в качестве восстановителя.

в) выделяться в неизменённом виде – **ион аммония (NH_4^+)**.

Реакция синтеза **глутамата (Glu, E)**

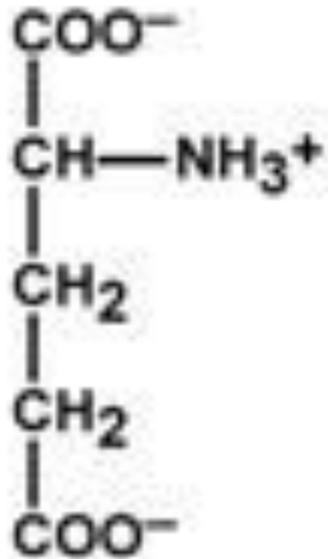


α -Кетоглутарат

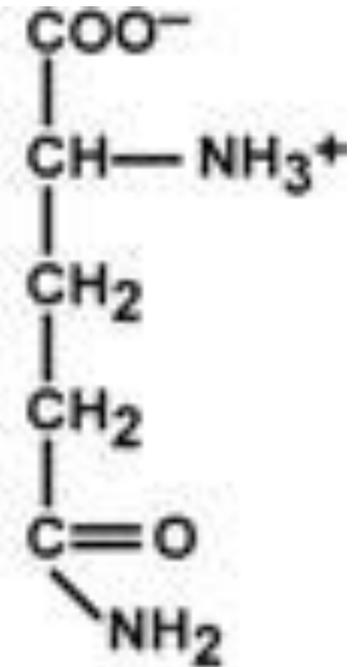
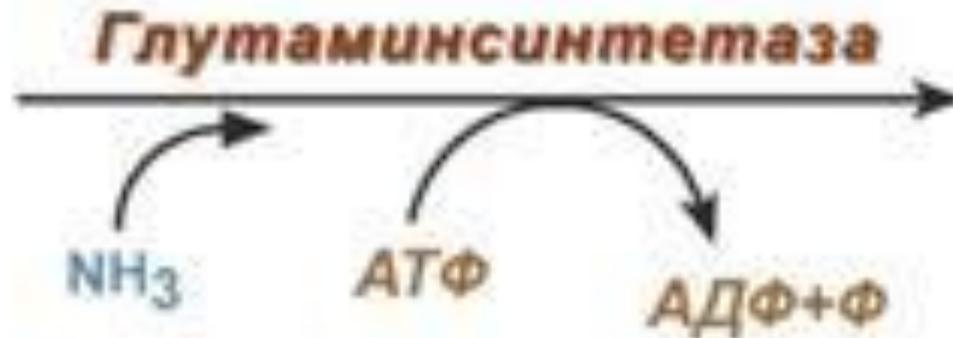


Глутаминовая кислота

Реакция синтеза **глутамина (Gln, Q)**

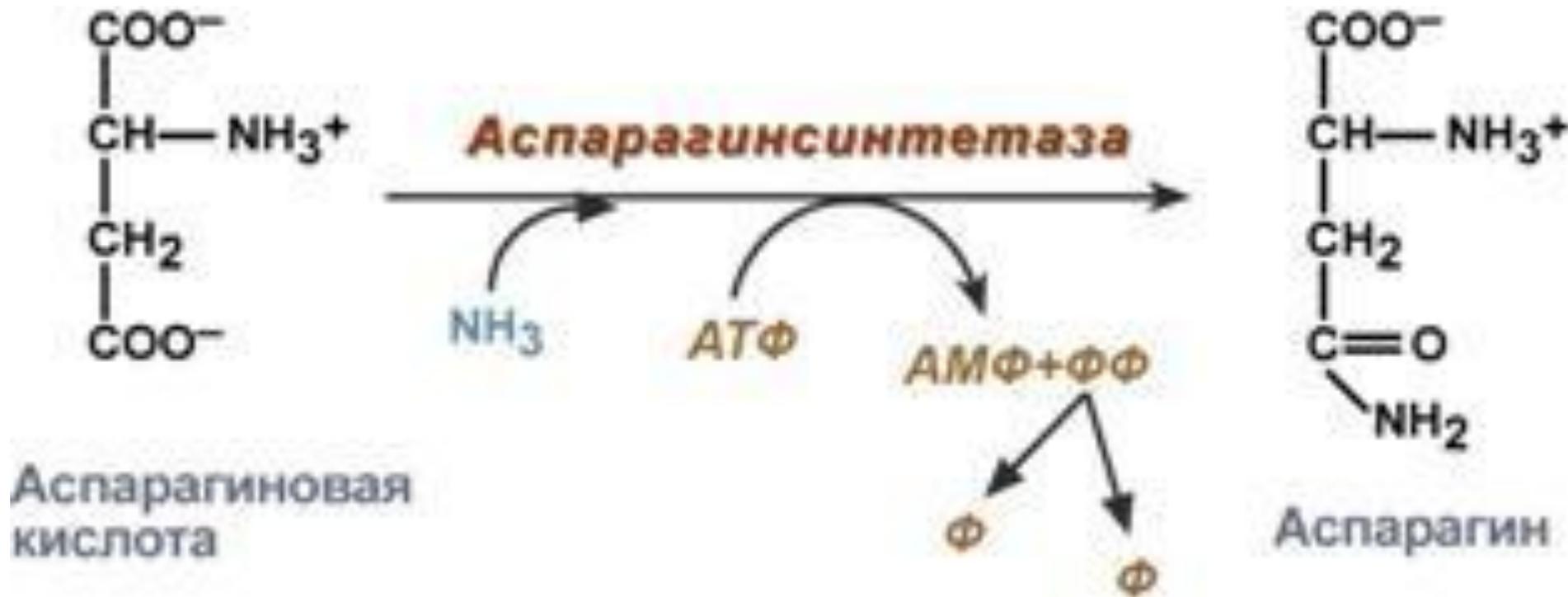


Глутаминовая кислота

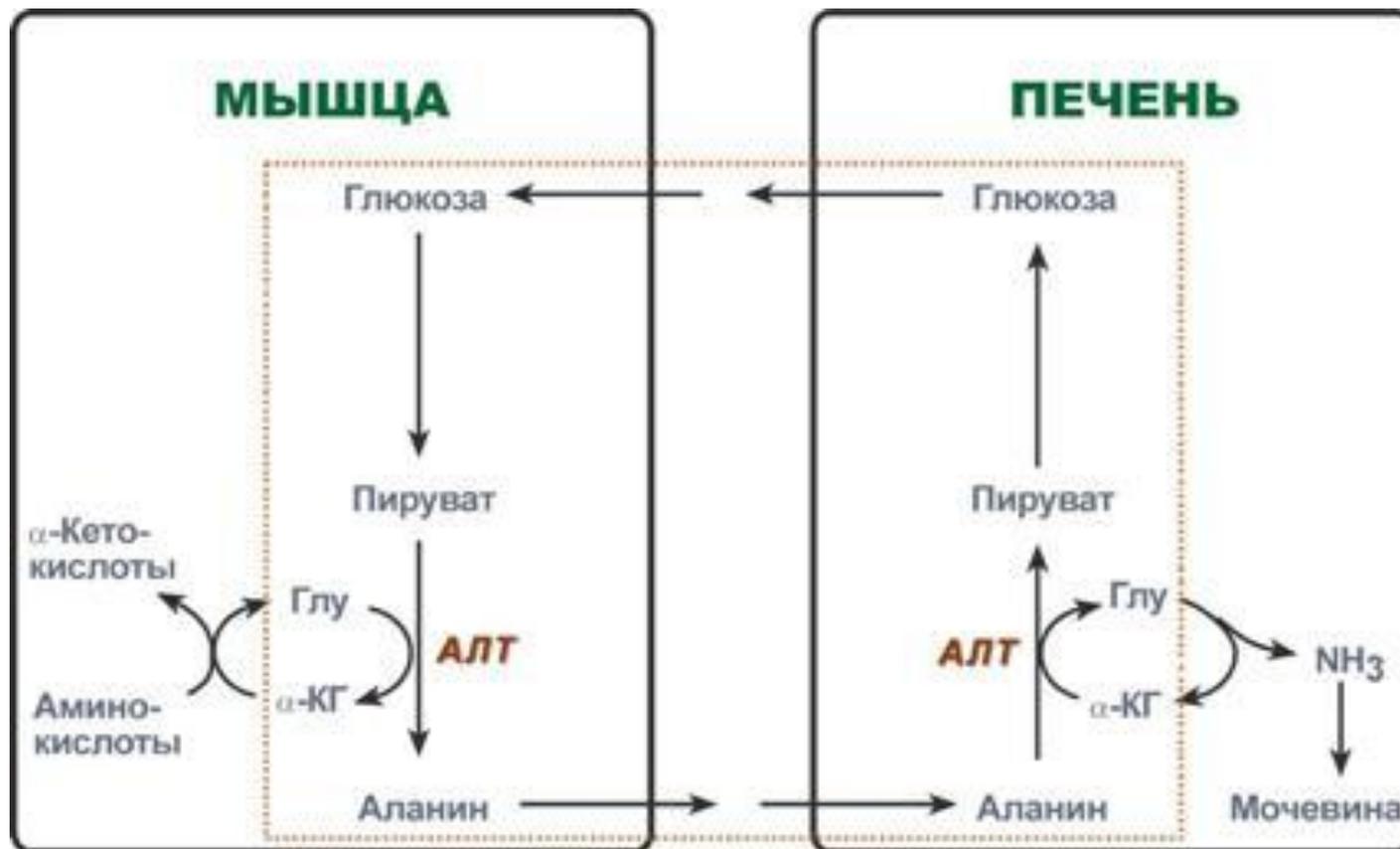


Глутамин

Реакция синтеза **аспарагина (Asn, N)**



Реакции **глюкозо-аланинового** цикла



AMP activated protein kinase (**AMPK**) is recognized as an important **nutrient sensor** contributing to regulation of cellular, tissue, and systemic metabolism.

Alanine acutely activates **AMP kinase** by intracellular **Ala** metabolism, which

- reduces **TCA** cycle metabolites,
- increases **AMP/ATP** ratio, and
- activates **NH₃** generation.

Ala may serve as a distinct **amino acid energy sensor**, providing a positive signal to activate the beneficial **AMPK** signaling pathway.

[**Adachi Y. 2018**]

Синтез мочевины

Концентрация **мочевины** в норме для сыворотки крови человека:

дети до 14 лет	— 1,8–6,4 ммоль/л
взрослые до 60 лет	— 2,5–8,3 ммоль/л
взрослые старше 60 лет	— 2,9–7,5 ммоль/л

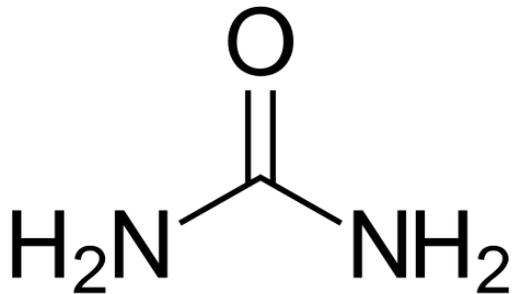
Экскреция **мочевины** с мочой у здорового взрослого человека составляет -

26–43 г/сут
(430–720 ммоль/сут)

Цикл мочевины орнитинового цикла (Кребса — Гензелейта)

Впервые описан **Хансом Кребсом** в **1932** году.

— последовательность биохимических реакций, в результате которой **аммиак** преобразуются в **мочевину**

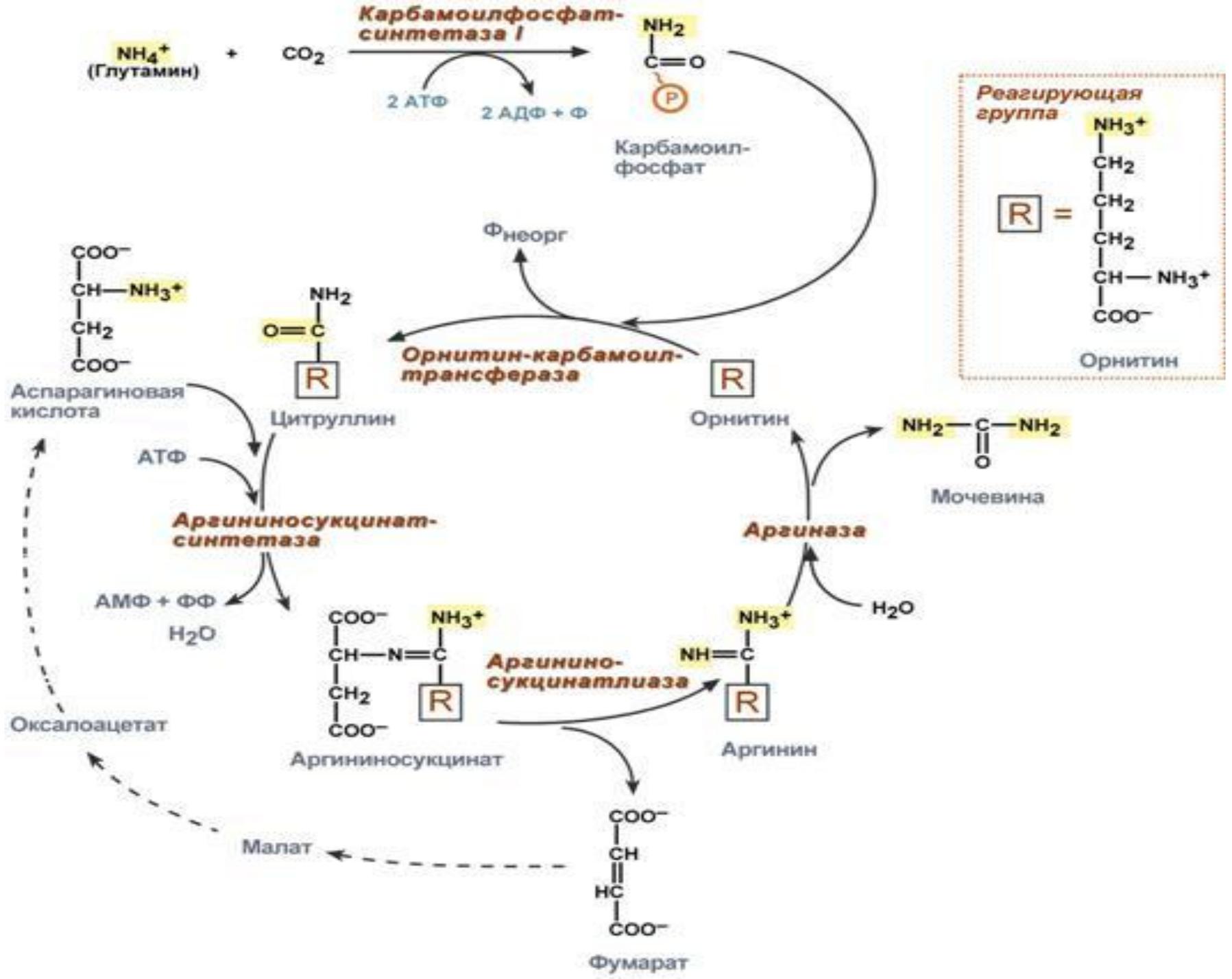


Мочевина являясь нейтральным соединением с небольшими размерами и высокой растворимостью в физиологических жидкостях, способна легко проникать через биологические мембраны, легко переносится кровью и выделяется с мочой.



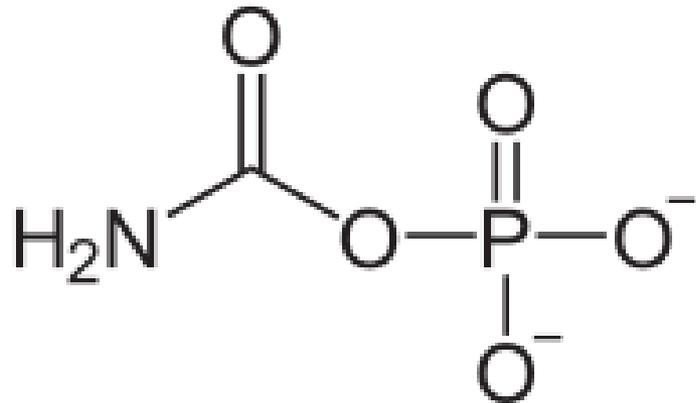
Ханс Кребс

Нобелевская премия по физиологии или медицине **1953** года



Реакции **цикла мочевины** локализованы исключительно в клетках **печени** и протекают частью в митохондриях, а частью в цитозоле - требуются переносчики.

А. цикл начинается в митохондрии с образования **карбамоилфосфата** из **NH₃** (Glu, Gln), **воды** и **CO₂** при участии фермента **карбамоилфосфат-синтетазы 1 (CPS1)**.

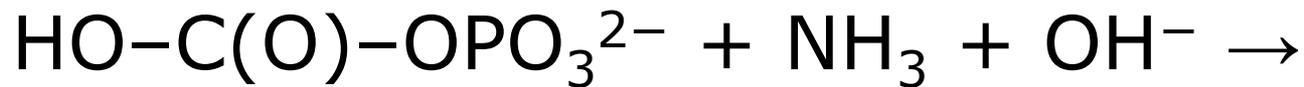


Реакция происходит с затратой энергии 2 молекул **АТФ** и образованием 2 молекул **АДФ**.

1. Фосфорилирование бикарбоната

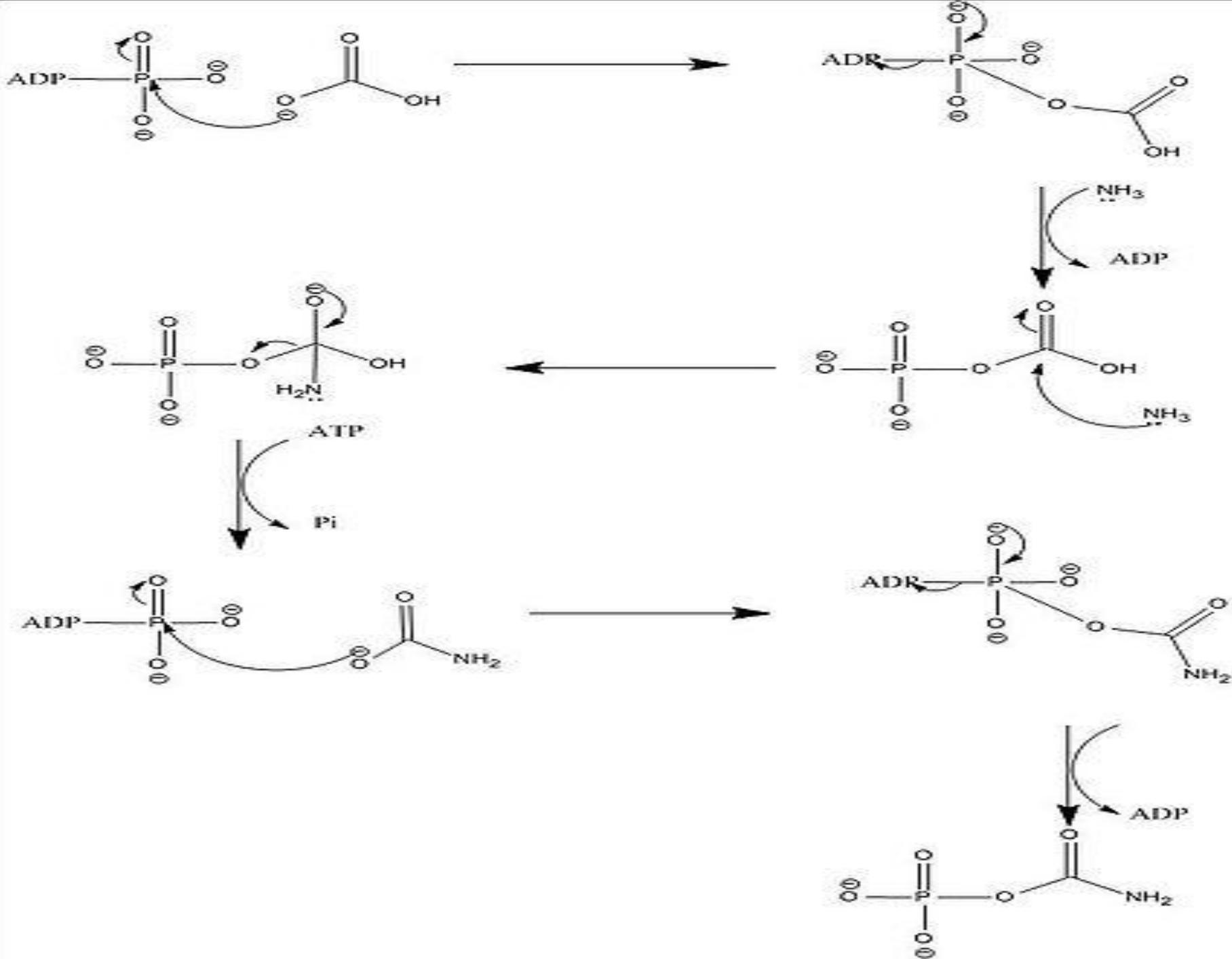


2. Отщепление аммиака у Gln (*glutaminase*) или Glu (*glutamate dehydrogenase*) и присоединение к карбоксил фосфату с образованием **карбомата**



3. Фосфорилирование карбомата - **кабомоилфосфат**





N-acetylglutamic acid (NAG) is the allosteric activator molecule to mitochondrial ***carbonyl phosphate synthetase I (CPSI)***

This interaction with **NAG** and a second interaction, with a **nucleotide**, stabilise the **active form** of **CPSI**.

NAG, is biosynthesized from **Glu** and **acetylornithine** by ***ornithine acetyltransferase***, and from **Glu** and **acetyl-CoA** by the **enzyme N-acetylglutamate synthase**.

In the liver and small intestines, NAG-dependent CPSI produces **citrulline**, the second intermediate in the urea cycle.

Liver cell distribution of NAG:

- **56%** in the mitochondria,
- **24%** in the nucleus,
- **20%** in the cytosol.

Aminoacylase I in liver and kidney cells degrades N-acetylglutamic acid to **Glu** and **acetate**.

In contrast, **NAG** is not the allosteric cofactor to **CPS2** found in the cytoplasm, which is involved in pyrimidine synthesis.

NAG concentrations increase when protein consumption increases due to the accumulation of **ammonia**

NAG can be found in many foods such as **soy**, **corn**, and **coffee**, with **cocoa powder** containing a notably high concentration.



Deficiency in **N-acetylglutamic acid** in humans is an autosomal recessive disorder that results in **blockage of urea production** which ultimately increases the concentration of **ammonia** in the blood - **hyperammonemia**

Б. При участии **орнитин-карбомил-трансферазы** (орнитинтранскарбомилазы) (**B₇** - биотин, **Zn²⁺**) карбомилфосфат присоединяется к молекуле **орнитина**, с образованием **цитруллина**, который переносится в цитозоль.

Several proteins contain **citrulline** as a result of a posttranslational modification.

Proteins that normally contain **citrulline** residues include **myelin basic protein** (MBP), **filaggrin**, and several **histone** proteins.

Individuals with mutations in the gene coding for **filaggrin** are predisposed to a severe form of **dry skin, ichthyosis vulgaris**, and/or **eczema, asthma**.

Autoantibodies in **rheumatoid arthritis** recognizing of citrullinated peptides are cross-reactive with **filaggrin**

Bisgaard H, Simpson A, Palmer CN, et al (**2008**).
"**Gene-environment interaction in the onset of eczema in infancy: filaggrin loss-of-function mutations enhanced by neonatal cat exposure**".
PLoS Medicine. 5 (6): e131.
doi:10.1371/journal.pmed.0050131. PMID 18578563

Fragkos KC. **Citrulline as a marker of intestinal function and absorption in clinical settings**. United European Gastroenterol J. **2018** Mar;6(2):181-191.
doi: 10.1177/2050640617737632. PMID 29511548

В. В цитоплазме **цитруллин** с **Asp** при участии фермента **аргининсукцинат-синтетазы (ASS)** образует **аргининосукцинат**.

В ходе данной реакции расходуется энергия превращения одной молекулы **АТФ** в **АМФ** (эквивалентно превращению двух молекул **АТФ** в **АДФ**).

Образовавшийся **пирофосфат** гидролизуется для обеспечения необратимости процесса

Г. Под действием фермента **аргининосукцинат-лиазы** **аргининосукцинат** распадается на **фумарат** и **аргинин**.

Д. **Arg** гидролизуется при участии **аргиназы** (**аргининогидролазы**) (**Mn²⁺**) с образованием **мочевины** и **орнитина**, который сразу же переносится в митохондрию и цикл повторяется вновь.

Фумарат снижает энергетическую стоимость цикла.

Фумарат в цитозоле, превращается в **малат**.

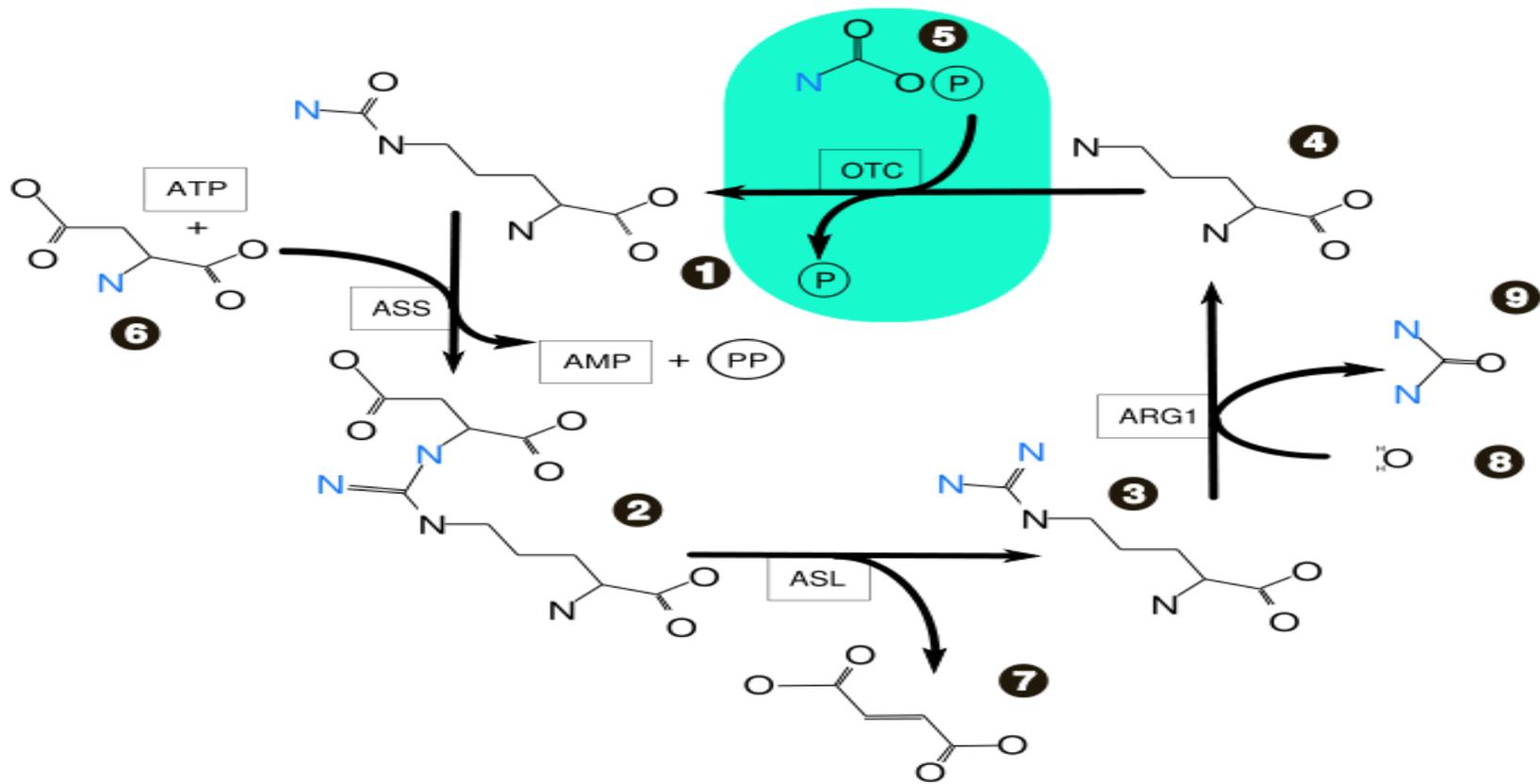


малат окисляется в цикле Кребса в **НАДН₂** и **оксалоацетат**.



НАДН₂ в цепи переноса электронов даёт ~ 3 молекулы **АТФ**.

Нарушения **цикла мочевины** (мутации генов, кодирующих ферменты) приводят в большинстве случаев к **гипераммониемии**.



1-цитруллин, 2-аргининосукцинат, 3-Arg,
 4-орнитин, 5-карбамоилфосфат, 6-Asp, 7-фумарат,
 8-вода, 9-мочевина

OTC-**орнитинтранскарбомилаза**,

ASS-**аргининосукцинатсинтетаза**,

ASL-**аргининосукцинатлиаза**,

ARG1-**аргиназа**

Роль почек

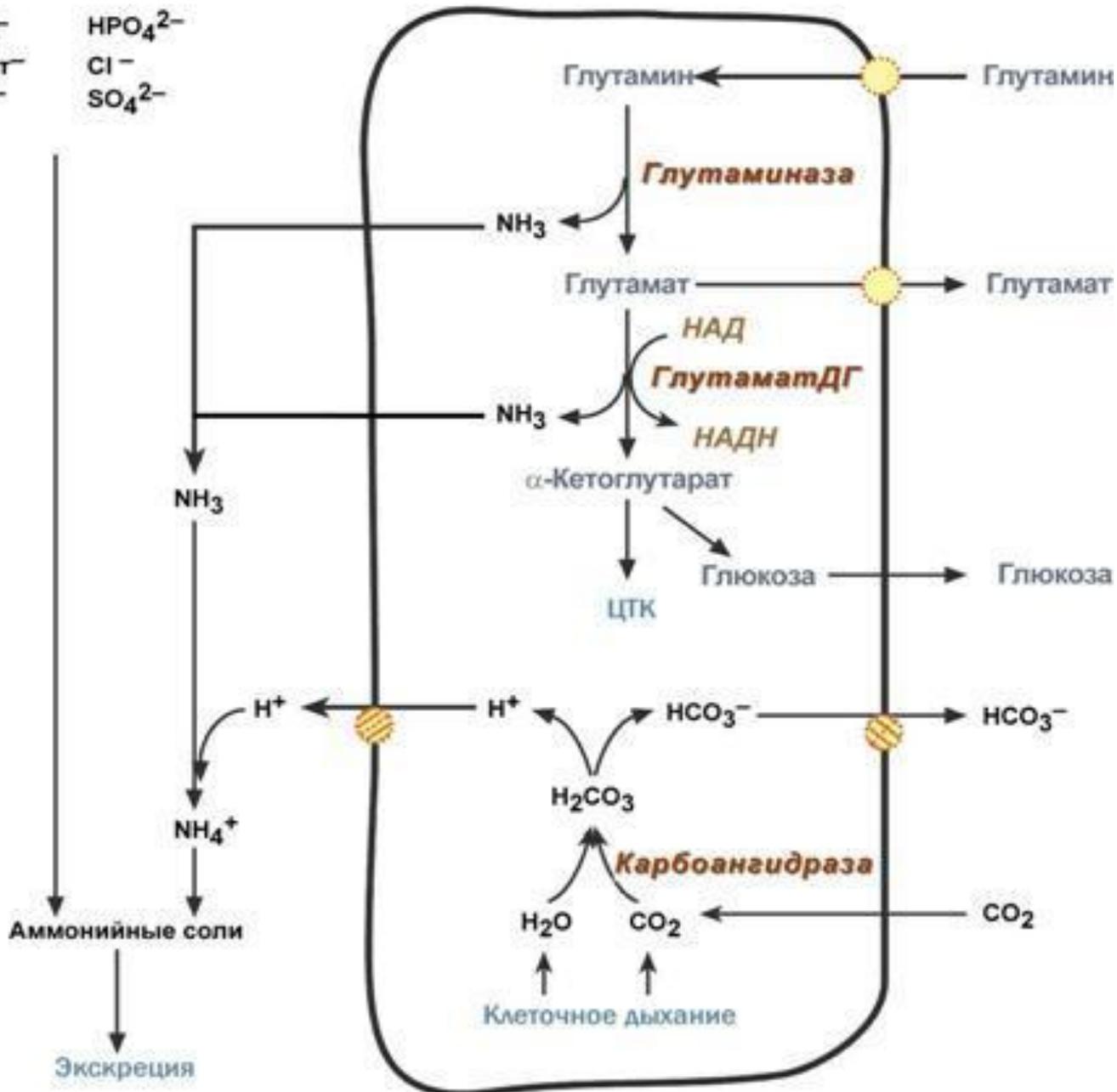
Просвет канальца

Эпителиоцит

Плазма крови

Ацетат⁻
Оксалат⁻
Лактат⁻

HPO_4^{2-}
 Cl^-
 SO_4^{2-}



Глутамин

Глутамин

Глутаминаза

NH_3

Глутамат

Глутамат

НАД

ГлутаматДГ

НАДН

α -Кетоглутарат

ЦТК

Глюкоза

Глюкоза

NH_3

H^+

H^+

HCO_3^-

HCO_3^-

H_2CO_3

Карбоангидраза

H_2O

CO_2

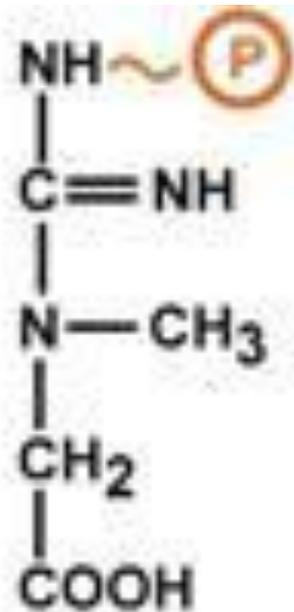
CO_2

Клеточное дыхание

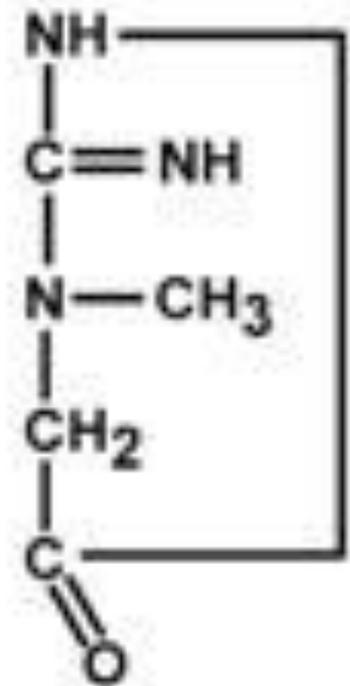
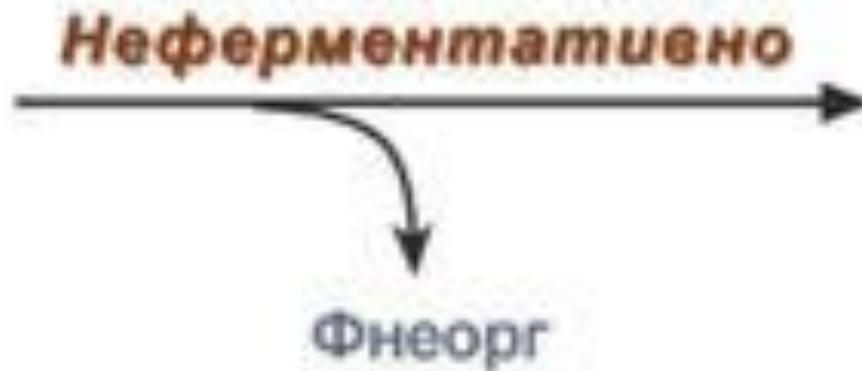
Аммонийные соли

Экскреция

Образование креатинина из креатинфосфата



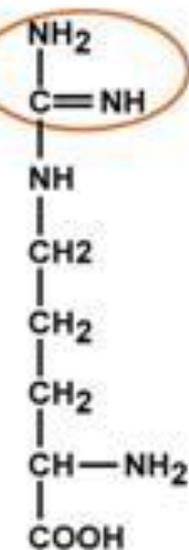
Креатинфосфат



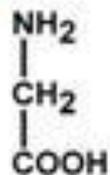
Креатинин

Реакции синтеза **креатина** в почках и печени

Почки

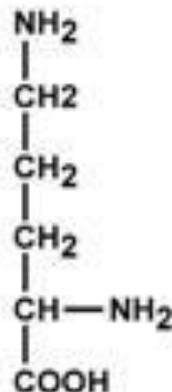


Аргинин

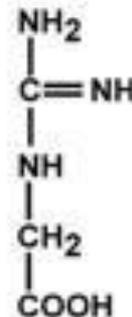


Глицин

*Глицин-амидин-
трансфераза*

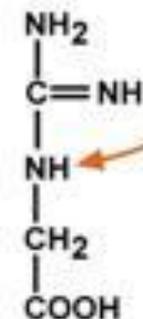


Орнитин

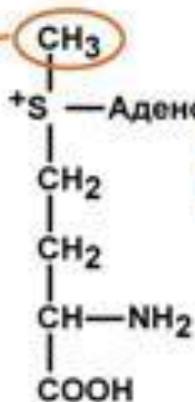


Гуанидинацетат

Печень

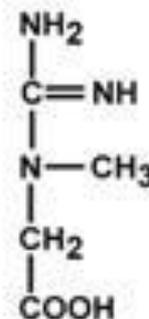


Гуанидин-
ацетат

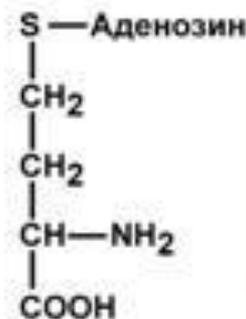


S-аденозил-
метионин

*Метил-
трансфераза*

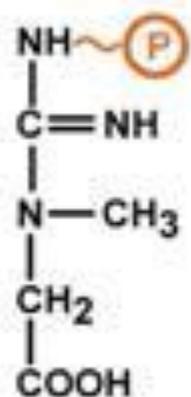


Креатин



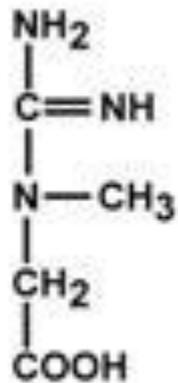
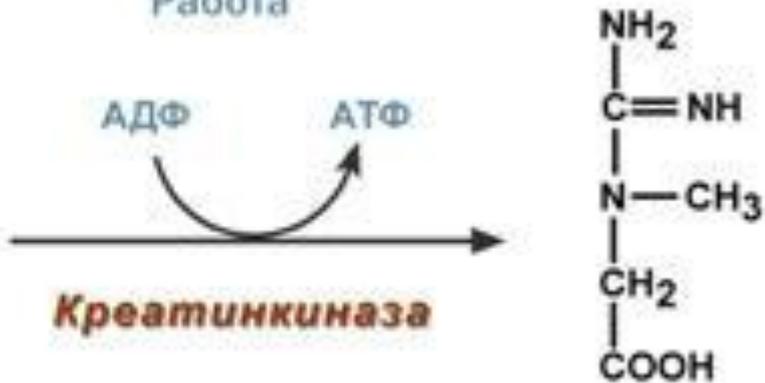
S-аденозил-
гомоцистеин

Использование **креатинфосфата** для ресинтеза **АТФ**



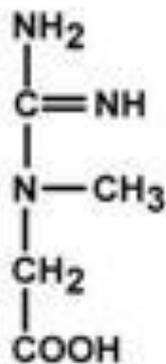
Креатинфосфат

Работа



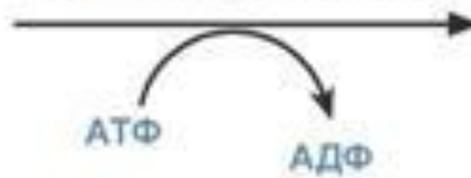
Креатин

Мышцы
Мозг

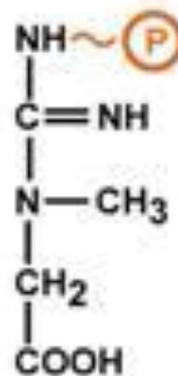


Креатин

Креатинкиназа



Покой
Отдых



Креатинфосфат