

Zanim wydrukujesz - przeczytaj !

- Poniższy dokument to przedruk z notatek i materiałów, które stanowią zapis wykładów dla Wydziału Lekarskiego, prowadzonych przez pracowników katedry Biochemii AM w Poznaniu. Poniższy dokument jest rozpowszechniany **BEZPLATNIE, Wyłącznie w celach dydaktycznych**. Za ewentualne błędy merytoryczne i inne nie odpowiadamy.
- Spora część wykładów to **powtórzenie treści znanych z seminariów**. Zawarte tu schematy to przedruki z materiałów seminarijnych lub podręcznikowych. Ponieważ schematy zawarte tutaj to skany z kiepskiej jakości kopii, dlatego zalecam drukować je na wysokorozdzielczych drukarkach (w przeciwnym wypadku wydruk może nie być tak czytelny jak to widać na ekranie).
- Wykład z Zeba pojawi się wkrótce na stronie: www.shakemaster.republika.pl

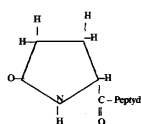
Wykład z Biochemii, wykład IV, 5 listopada 2003, PEPTYDY PODWZGÓRZA I PRZYSADKI.

Liberyny i statyny.

- Tyreoliberyna - TRH
- Gonadoliberyna - GnRH gonadostatyna - GnRH (tak podaje p. prof.)
- Kortykoliberyna - CRH
- Somatoliberyna - GRH somatostatyna - GIF
- Prolaktoliberyna - PRH prolaktostatyna - PIF
- Melanoliberyna - MRH
- Hormony przedniego „tylnego” płata przysadki: > propiomelanokortyna i pochodne > GH > PRL

- wazopresyna » oksycytocyna
- Hormony podwzgórza: » wazopresyna arginowa
- angiotensyna
- hormon uwalniający gastrynę

) TRH - tripeptyd, uwalnia TSH, działając na tyreotropiny przedniego płata przysadki
 Na końcu C tripeptydu znajduje się kwas prioglutaminowy. pyroGLU - His - Pro - NH₂-



- GnRH - składa się z 10 aminokwasów, pobudza wydzielanie lutropiny (LH) folitropinę (FSH). *pyro)Glu - His - Trp - Ser - Tyr - Gly - Leu - Arg - Pro - Gly - NH₂
- CRH - zbudowany z 41 aminokwasów, nie zawiera kwasu piroglutaminowego pobudza wydzielanie propiomelanokortyny (POMC)
- GRH - zbudowany z 44 aminokwasów, uwalnia somatotropinę z somatotropów
- PRH - polipeptyd, który jako komórki docelowe ma laktotropy.
- GnRHIF - czynnik hamujący (nie hormon!!!), białko o niewielkim ciężarze, 14 aminokwasów i jedno wiązanie -S-S-.

7) GIF - czynnik hamujący hormon wzrostu, ma jedno wiązanie -S-S-, krótki peptyd.
 Ala - Gly - Cys - Lys - Asn - Phe - Phe - Trp - Lys - Thr - Phe - Thr - Ser - Cys - NH₂.

- Struktura prolaktostatyny nie została poznana, a hipotezy nas nie interesują nie zostały podane.
- Propiomelanokortyna jest produktem genu POMC, jest ona podstawą do powstania wielu substancji hormonalnych jak MSH, ACTH, endorfin i enkefalin.

10) POMC - jest prekursorem kilku hormonów, które są wycinane z łańcucha za pomocą 8 endopeptydaz. Działają głównie na wiązanie peptydowe aminokwasów zasadowych.

11) Możemy produkować ACTH w sposób syntetyczny ACTH=synACTH. Podaje się ją w celu pobudzenia kory nadnerczy do produkcji hormonów steroidowych. ACTH ulega hydrolizie w punkcie 4, w wyniku czego powstaje alfa-MSH i CLIP (hormon pośredni płata przysadki podobny do kortykotropiny)

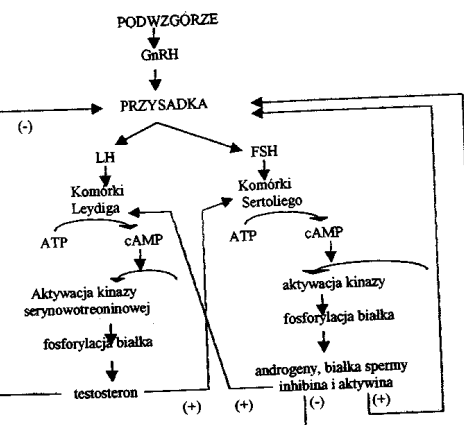
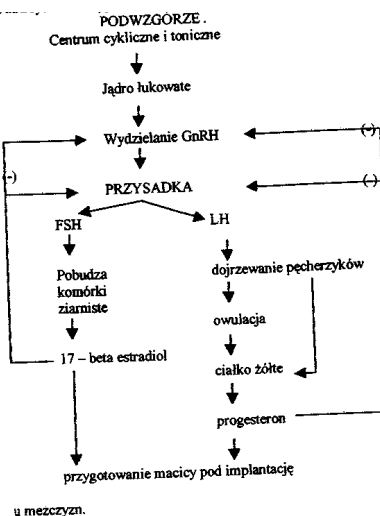
12) Zdziałanie hydrolazy 5-tej powoduje powstanie beta-lutropiny, która po zdziałaniu hydrolazy 7 uwalnia gama lipotropinę i beta-endorfinę. Endorfina jest wewnętrznym środkiem usmierzającym ból, działa na zasadzie morfiny, stąd w nazwie -orfina. Przedrostek end- wskazuje na miejsce produkowania tzn. w organizmie. Po zdziałaniu peptydazy 8 powstaje Met-enkefalina.

13) Enkefalin jest to rodzina krótkich peptydów, o działaniu opioidowopodobnym. Wyróżniamy Met-enkefalinę i Leu-enkefalinę. Tyr - Gly - Gly - Phe - Met; Tyr - Gly - Gly - Phe - Leu.

14) GH - pojedynczy łańcuch składa się z 191 aminokwasów, 21,5kDa. Działa za pośrednictwem specyficznych receptorów - chemokiny. Po połączeniu z receptorem aktywowana jest kinaza białkowa, która zapoczątkuje fosforylację białek poprzez działanie kinazy tyrozynowej. Aktywna kinaza powoduje fosforylację specyficznego białka co zapoczątkuje sygnały na różnych ścieżkach przewodzenia.

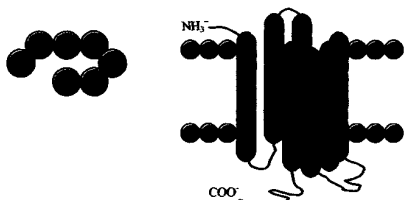
- GH działa za pośrednictwem IGF - I i IGF - 2.
- Niedobór GH -> karłowatość przysadkowa.
- Brak IGF - I => karłowatość występująca u Pigmejów w Afryce.
- Brak IGF - 2 => karłowatość typu Larona.
- GH niezbędny do prawidłowej przemiany węglowodanowej, lipidowej, azotowej i mineralnej. Działa prolaktopodobnie.
- PRL - w budowie podobna do GH, 23 kDa, zaliczamy do niej somatomatotropinę i laktogen łożyskowy CL. Receptor PRL należy do tej samej nadrodziny receptorów cytokinohematopoetycznych co receptor GH.

- PRL - inicjuje i podtrzymuje laktację, pobudza wzrost gruczołów sutkowych, podtrzymuje rozwój ciała żółtego.
- Guzy przysadki wywodzą się z laktotropów (prolaktinoma) pobudzają wydzielanie mleka - mlekotok, wraz z nim występuje wtórny brak miesiączki. U mężczyzny jest przyczyną rozwoju gruczołów sutkowych i impotencji.
- CL i somatomatotropina - działają aż w 85% zgodnie z PRL, gdy PRL jest homologiczna do GH tylko w 30%.
- Zapis genetyczny GH występuje w 4 kopiach, zaś informacja o PRL w jednej kopii.
- Lutropina i folitropina są glikoproteinami, zbudowanymi z takiej samej podjednostki alfa i różnej podjednostki

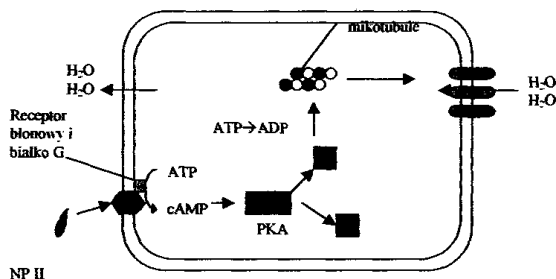


testosteron jest aromatyzowany do 5-hydroksytosteronu w komórkach Sertoliego. 5-hydroksytosteron jest silniejszym hormonem od testosteronu. Przy braku wrażliwości receptorów na androgeny dochodzi do rozwoju piersi, i kształtowania się fenotypu żeńskiego. Najczęściej dotyczy to tylko II rzędowych cech płciowych, ale czasami nawet II rzędowych.

26) Receptory dla androgenów zbudowane są z 7 podjednostek, przebijających błonę.



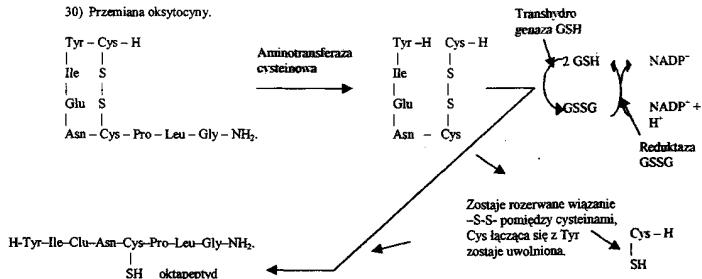
27) Wazopresyna powstaje z prepro-wazopresyny będącej glikoproteina. Z niej również powstaje 21 kDa Neurofizyna TT. Wazopresyna - ADH, składa się z 9 aminokwasów. Jej wydzielanie jest pobudzone przez zmianę ciśnienia osmotycznego w wyniku wzrostu stężenia NaCl i pobudzenia osmoreceptorów oraz baroreceptory w podwzgórzu. Informacje mogą być zbierane również z tychże receptorów znajdujących się na obwodzie (z serca, układ naczyniowy), te działają na neurony wazopresynergiczne i jądro nadwzrostkowe w podwzgórzu, które z kolei swoimi zakończeniami z tylnym płacie przysadki powodują uwolnienie wazopresyny.



28) Oksytocyna - powstaje z preprohormonu. Wraz z nią powstaje neurofizyna I o masie 19 kDa. Oksytocyna jest wydzielana w wyniku podrażnienia mechanoreceptorów brodawki sutkowej i macicy.

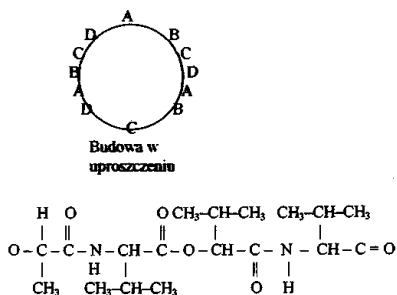
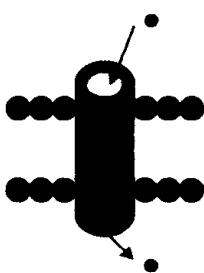
29) Progesteron hamuje wydzielanie oksytocyny i neurofizyny, poprzez regulację ilości receptorów na powierzchni komórek docelowych. U kobiet pobudza wydzielanie mleka i wspomaga akcję porodową. U mężczyzn pobudza wydzielanie testosteronu.

30) Przemiana oksytocyny.



31) Ostatnim tematem są jonofory. Są to białka ułatwiające przepływ jonów przez błonę. Należą do nich m.in. walinomecyna (zbudowana z 3 powtarzających się sekwencji połączonych wiązaniami peptydowymi i estrowymi, każda sekwencja zbudowana jest z 4 aminokwasów A,B,C,D). Drugim białkiem jest granicydyna, która tworzy kanał z 2 jednostek zbudowanych z naprzemiennie ułożonych 15 L i D aminokwasów. Jonofory mogą przepuszczać do 10⁷ jonów/sek. Również niektóre z lipidów i prostaglandyn mają właściwości jonoforów.

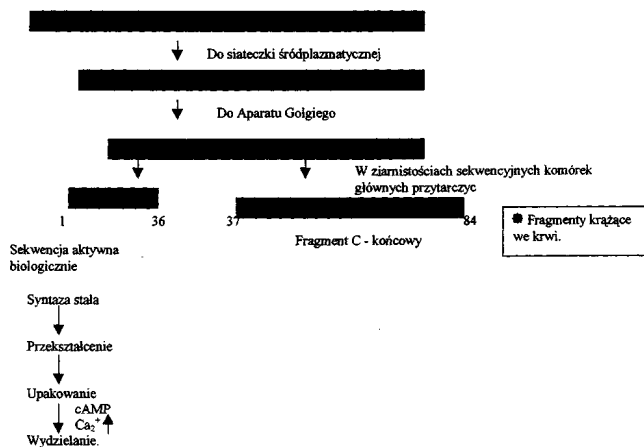
32) Budowa jonoforów.



Wykład z Biochemii, wykład V, 12 listopada 2003.

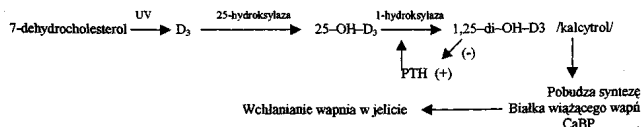
1. Parathormon

PTH - produkowany jest w komórkach głównych przytarczyc, w postaci prekursora o długości 115 aminokwasów jako preproparathormon. Na końcu aminowym zawiera sekwencję sygnałową- Ser-Met-Met-NH₂, która kieruje go do siateczki śródplazmatycznej - jest to sekwencja „pre”. Sekwencja „pro” kieruje preproparathormon do Aparatu Golgiego. Dojrzały hormon ma 84 aminokwasy, masę 9,5 kD, aktywna jest tylko część hormony od końca N do 24-35 tego aminokwasu.



80-90% hormonu ulega degradacji po upakowaniu do dwóch pęcherzyków. PTH trawia katepsyny B i D. Katepsyna B hydrolizuje PTH na dwa fragmenty: PTH₁₋₃₆ i PTH₃₇₋₈₄. Fragment krótszy dzielony jest jeszcze na di- i tripeptydy.

PTH działa za pośrednictwem receptorów w komórkach mięśni szkieletowych, w kanalikach nerkowych, w komórkach układu szkieletowego. Zmniejsza wydalanie Ca₂⁺ z moczem a zwiększa wydalanie fosforanów. Wzmacnia ekspresję genów dla cytochromów P₄₅₀, które biorą udział w hydroksylacji. Pobudza wydzielanie wapnia w osteoblastach, oraz pobudza wchłanianie wapnia z jelita, wraz z cytochromem P₄₅₀.



I. Nadczynność przytarczyc:

- pierwotna- wywołana gruczolakami przytarczyc
- wtórna - spowodowana brakiem produkcji kalcytriolu w nerkach. Niedoczernność przytarczyc: pierwotna - na podłożu autoimmunologicznym, skierowanie przeciwciał przeciw PTH.

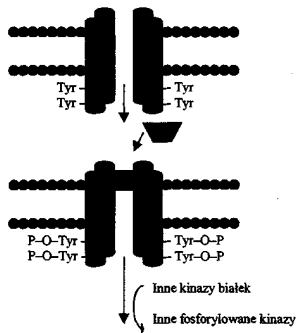
II. Peptydy trzustkowe

> Insulina - produkowana w komórkach B, w wyspach Langerhansa, syntetyzowana jest jako prohormon, w wyniku proteolizy powstaje dojrzała cząsteczka złożona z 51 aminokwasów. Insulina zbudowana jest z łańcucha A (mającego 21 aminokwasów i jedno wiązanie -S-S-, pomiędzy 6 i 11 aminokwasem) oraz z łańcucha B. Oba łańcuchy łączą się odpowiednio ze sobą dwoma wiązaniami -S-S- pomiędzy 7 i 7 oraz 20 i 19 aminokwasem. Wydzielanie insuliny jest regulowane metabolicznie, odpowiada za to glukoza. Progiem do wydzielania insuliny jest poziom stężenia glukozy 80-120 mg/dl - jest to wydzielanie minimalne. Insulina osiąga max przy stężeniu glukozy 350-500 mg/dl.

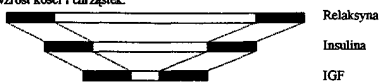
• Glukoza pobierana jest do komórek B trzustki > ulega glikolizie > dwie fosforylacje substratowe > zwiększenie ilorazu ATP/ADP -> hamowanie wypływu jonów K⁺ > zwiększenie stężenia Ca₂⁺ w komórkach B > wydzielanie insuliny. Pochodne sulfonylomocznika - Tolbutamid - pobudzają wydzielanie insuliny w cukrzycy typu n (insulinozależnej). Główne działanie Insuliny polega na pobudzeniu glikolizy. Zachodzi to przez regulację szybkością, polegającą na utrzymywaniu enzymów w formie niefosforylowanej, gdyż są one wtedy aktywne (w przeciwieństwie do inhibitorów, aktywnych po przyłączeniu grupy fosforanowej). Najpierw glukokinaza dodaje grupę fosforanową do glukozy w pozycji 6. Następnie izomeraza fosfoglukozę przekształca ją w frukto-6-fosforan., który pod wpływem fruktozo-2,6-bisfosfatazy przechodzi w fruktozo-2,6-bisfosforan. Dalej degradacja prowadzi aż do pirogronianu. Głównymi enzymami, które utrzymują stałą aktywność pod wpływem insuliny są kinaza pirogronianowa i fosfofruktokinaza n.

- Insulina pobudza syntezę glikogenu (utrzymuje syntazę glikogenową I w formie aktywnej -niefosforylowanej). Fosforylaza glikogenową bierze udział w procesie rozpadu glikogenu, ale musi być w formie "a". Forma "b" jest nie aktywna.
- Pobudza wejście glukozy do komórek tłuszczowych i mięśni szkieletowych, za pośrednictwem GLUT 4 (transportera glukozy, białko cytozolowe).

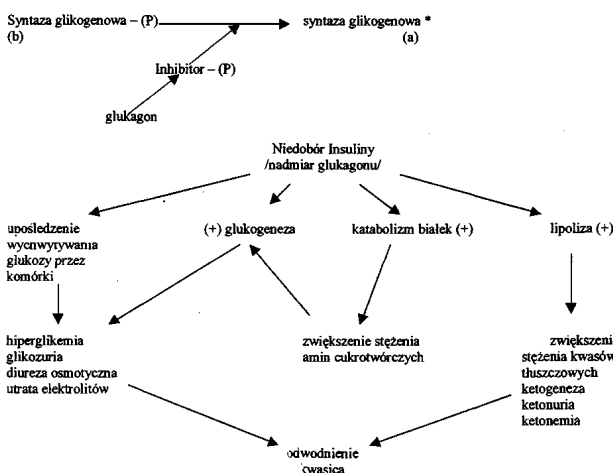
• Receptor insuliny zbudowany jest z dwóch podjednostek alfa i dwóch beta. Przenika on całkowicie przez błonę. Podjednostki beta są kinazami tyrozynowymi. Po związaniu insuliny podjednostki autofosforylują własne reszty tyrozynowe.



- Insulina aktywuje enzym rozkładający cAMP → fosfodiesterazę cAMP. Fosfodiesteraza cAMP → cAMP → AMP → zahamowanie aktywności KBA → zmniejsza się fosforylacja białek.
- IGF – produkowane są w wątrobie i innych tkankach, regulowana jest przez GH. Powoduje ogólny wzrost kości i chrząstek.

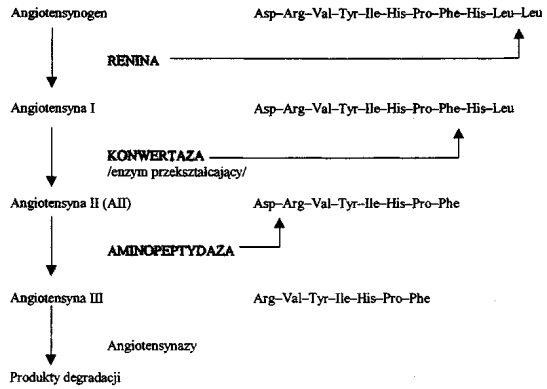


• Insulina pobudza lipogenezę, hamuje lipolizę, poprzez zmniejszenie stężenia cAMP oraz wmożenie wnikania glukozy do komórek tłuszczowych, co nasila produkcję DHAP /fosfodihydroksyaceton/ i glicerolo-3-fosforanu. Dostępność tego związku wzmagą szybkość reestryfikacji wolnych kwasów tłuszczowych do triacylgliceroli, hamując tym samym szybkość uwalniania kwasów tłuszczowych z adipocytów.
 > Glukagon - polipeptyd zbudowany z 29 aminokwasów, zawiera Thr na końcu C. Oddziałuje z receptorami w wątrobie. Glukagon powoduje szybką mobilizację potencjalnych źródeł energetycznych tj. glikogenolizę i lipolizę. Nasila glukoneogenezę i ma działanie ketogenne. Po połączeniu z receptorem na hepatocytach aktywuje cyklazę adenylanową, powiązaną z białkiem G. Powstały cAMP aktywuje fosforylaze i nasila rozpad glikogenu i hamuje syntezę glikogenu. Zwiększony poziom cAMP pobudza konwersję aminokwasów w glukozę indukując syntezę licznych enzymów szlaku glukoneogenetycznego. Głównym enzymem tego szlaku jest PEPCK. Glukagon zwiększa cAMP > zwiększenie tempa transkrypcji mRNA genu PEPCK → synteza białka PEPCK.

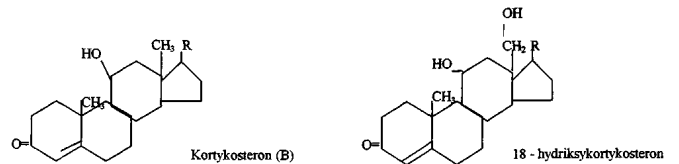


(VIP)		wydzielania wodorowęglanów.
Motylnina	Jelito cienkie	Zapoczątkowuje aktywność motoryczną jelit pomiędzy okresami trawienia.
Somatostatyna	Zołądek, dwunastnica	Efekty hamujące.
Polipeptyd trzustkowy (PP)	Trzustka	Hamuje wydzielanie wodorowęglanów i białka z sokiem trzustkowym.
Enkefaliny	Zołądek, dwunastnica, pecherzyk żółciowy	Efekty opioidowopodobne.
Immunoreaktywność bombesynopodobna (BLI)	Zołądek, dwunastnica	Pobudza wydzielanie gastryny i CCK

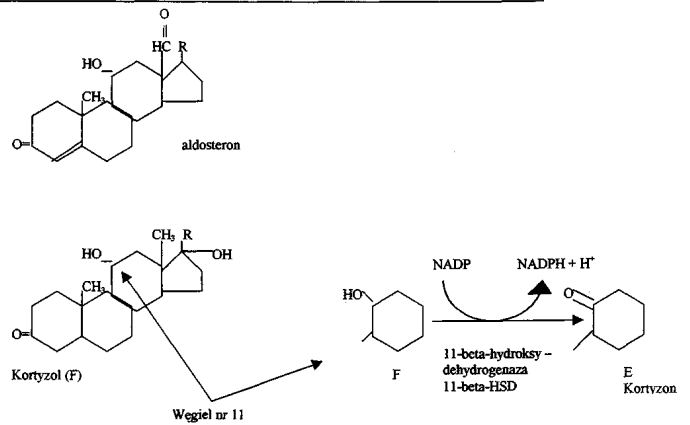
IV. Angiotensyny. – syntetyzowane w osoczu krwi z angiotensynogenu.



AII - wiąże się z specyficznym receptorem na komórkach strefy kłębkowej kory nadnerczy. Pobudza ekspresję genu dla syntazy aldosteronu. Kortykosteron + O₂ → 18-hydroksykortykosteron → aldosteron AIII jest słabym antagonistą AII, wiąże się z tym samym receptorem. Aldosteron → powoduje wzrost RR, spadek bradykininy → zwężenie naczyń krwionośnych. Aldosteron wiąże się z MR /receptorem mineralokortykoidów/. Gdy w komórce brakuje 11-beta-HSD mineralokortykoidy nie wiążą się z MR → nadciśnienie AME (przy niskim stężeniu reniny).



Klasyfikacja Reichsteina – żyd, polskiego pochodzenia, przypisać literki do nazw steroidów.



Peptyd	Miejsce syntezy	Działanie
Gastryna	Antrum żołądka, dwunastnica	Stymulacja sekrecji HCl i pepsyny
Cholecystokina CCK	Dwunastnica, jelito czcze	Stymulacja sekrecji amylazy trzustkowej.
Sekretyna	Dwunastnica, jelito czcze	Stymulacja sekrecji wodorowęglanów z sokiem trzustkowym.
Żołądkowy peptyd hamujący (GIP)	Jelito cienkie	Stymulacja sekrecji insuliny (bodziec glukozowy), hamuje wydzielanie soku żołądkowego.
Naczyniowoaktywny peptyd jelitowy	Trzustka	Rozkurcz mięśni gładkich, pobudzenie

Wykład z Biochemii, wykład VI, 19 listopada 2003. PROTEOLIZA

Proteoliza ma ważną rolę w procesach katabolicznych i regulatorowych. Może być:

> **Calkowita** - Jest to degradowanie białek do aminokwasów. Odpowiada za modulowanie puli enzymów kluczowych bierze udział w przemianach białek regulatorowych, usuwa białka zbędne i o nieprawidłowej strukturze. Te ostatnie łatwiej ulegają proteolizie.

> **ograniczona** Ma miejsce w procesach dojrzewania białek. Białka ma końcu N posiadają grup Met, zaś dojrzałe białka w większości jej nie mają. Jest ona (Met) odczepiana za pomocą endopeptydaz.

Do proteolizy ograniczonej zaliczamy również usuwanie peptydów sygnałowych przez peptydazę sygnałową /peptydazę serynową/ w siateczce śródplazmatycznej, dzięki czemu białka mogą przechodzić przez błonę. Prowadzi do przekształcenia białek do form aktywnych. Usuwa fragmenty pre-1 pro z N-konca białek. W procesie proteolizy ograniczonej usuwane są również białka z błony komórkowej za pośrednictwem metaloproteazy /sekretaza/, np. enzym konwertujący angiotensynę. Ograniczona proteoliza prowadzi do zmiany aktywności enzymów.

Glu-Arg-Gln), która istnieje w 30% białek cytozolowych i bierze udział w procesach enzymatycznych glikolizy. Do aktywacji tego białka dochodzi w warunkach długotrwałego głodu. Ta proteoliza inicjowana jest przez endopeptydazy a kontynuowana przez egzopeptydazy. Do głównych endopeptydaz zaliczamy: proteinyz cysteinowe - katepsyny B, H i L proteinyz aspartynowe — katepsyny D i E. Najważniejsze dla proteolizy są katepsyny D i L.

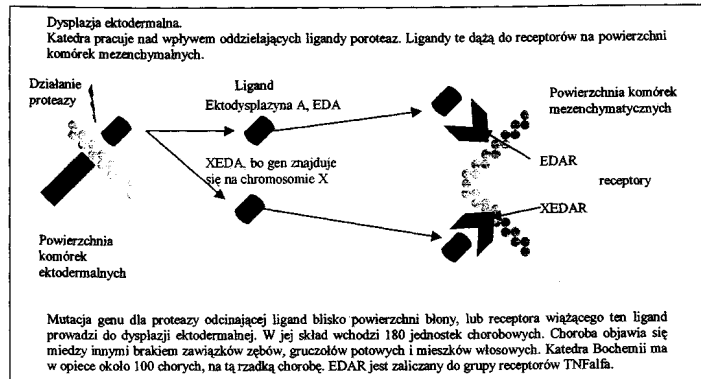
Proteoliza w cytoplazmie.

Jest zależna od ATP, zużywa je. Wymaga również ubikwityny (nazwa od angielskiego słowa 'wszędobylska' ©), oraz kompleksu -> proteasomu, a także proteinyz cytosynowych zależnych od Ca_2^+ - kalpain. Proteazy te hydrolizują 1 lub 2 białka. Wyróżniamy dwie klasy proteaz cytosynowych: mikro i mili. Są zbudowane z białka IV rzędowego, heterokinaz zbudowanych z 4 domen i części regulatorowej zbudowanej z 2 domen. Domeny N-końcowe ulegają autoproteolizie w obecności Ca_2^+ . Proces jest regulowany przez specyficzny inhibitor kalpain

-> kalpastatynę, jest to białko regulatorowe. Regulacja proteolizy zachodzi również przez fosforylację i defosforylację. W proteolizie uczestniczy kompleks proteolityczny -> proteasom mający masę 200kDa, i stałą sedymentacji 20S. Jest aktywny tylko po przyłączeniu aktywnego kompleksu PA700, zbudowanego z 18 białek w tym 6 ATPaz, białek wiążących ubikwitynę i rozpoznających substraty do degradacji. Taki proteasom ma stałą sedymentacji 26S. ATPazy ułatwiają zmianę konformacji białek mających ulegać degradacji (likwidują strukturę n rzędową), poprzedzającą transport białka do rdzenia. Aminokwasami wspomagającymi podjednostkę alfa (podjednostkę katalityczną, zawierającą Thr) są Liz i Glu.

UBKWINIZACJA

Procesowi temu ulegają białka o krótkim okresie półtrwania, biorące udział w cyklu komórkowym i proliferacji komórek. Ubikwityna jest peptydem zbudowanym z 76 aminokwasów, 8,5 kDa, ma podobną budowę u różnych gatunków.



Proteoliza działa z różną szybkością. Wpływają na nią aminokwasy zarówno z N jak i C końca białka. Zazwyczaj proteazy działają w miejscach, które są bogate w sekwencje PEST /Pro-Glu-Ser-Thr/. Żeby przyspieszyć proteolizę można doprowadzić do fosforylacji Ser i Thr w PEST i powstaje wtedy ufosforylowana forma sekwencji.

-P-E-S-T-
I I
(P)(P)

Wyróżniamy dwa szlaki proteolizy:

- Lizosomalny
- Jest mało selektywny
- Jest to główny szlak proteolizy, w którym ulega rozłożeniu 80% białek - Ulegają w nim białka pozakomórkowe, pobierane na drodze endocytozy, względnie pinocytozy. - Mogą również ulegać proteolizie białka wewnątrz-komórkowe, po wcześniejszej autofagocytzie do lizosomu.
- Rozkłada białka złożonych struktur oraz białka cytozolu.
- Makrofagocytza - pobierane są części cytoplazmy, wytwarza się wodniczka fagocytarna z błony siateczki śródplazmatycznej gładkiej. Ten sposób odpowiedzialny jest za utrzymanie odpowiedniego stężenia białek niezbędnych komórce do życia. - Mikrofagocytza - pobierane są małe fragmenty cytoplazmy, do pęcherzyków powstałych z błon lizosomalnych. - Kryofagocytza - polega na przyłączeniu pęcherzyków wydzielniczych lub transportowych, białek sekrecyjnych do lizosomów. Zabezpiecza komórki przed nadmiarem produktów wydzielniczych i metabolicznych.
- Pozalizosomalny.

- **Proteoliza zachodząca w endosomach** (endosomalna), bierze udział w aktywacji proteaz endosomalnych i aktywacji PTH, insuliny, glukagonu.

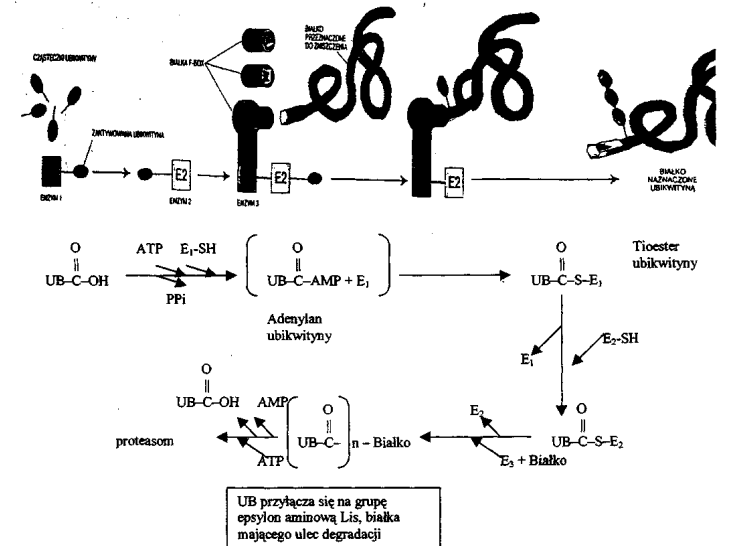
- **Proteoliza mitochondrialna** - działają w niej endopeptydazy o wysokiej masie cząsteczkowej, ponad 500 kD. Polega na degradacji nieprawidłowych białek mitochondrialnych i enzymów o krótkim czasie półtrwania. Zależna jest od soli magnezowej ATP.

> **Proteoliza śródplazmatyczna** - endopeptydaza sygnałowa (należąca do proteaz serynowych), która jest zlokalizowana na wewnętrznej powierzchni błony ER rozpoczyna degradację nieprawidłowych białek siateczki śródplazmatycznej gładkiej, proces ten kończony jest w cytozolu.

> **Proteoliza w aparatach Golgiego** - proteazy docinają sekwencję sygnałową pro-, która jest wyznaczona przez aminokwasy zasadowe Lis-Arg lub Arg-Lis, rzadziej Lis-Lis i Arg-Arg. Proteazy serynowe, zależne od Ca_2^+ > maturazy > biorą udział w dojrzewaniu prohormonów, czynników wzrostu i ich receptorów.

> **Proteoliza w błonach plazmatycznych.**

> **Selektywny transport z białkiem HSC₇₃.** Jest to białko należące do grupy białek szoku ciepłego. Białko to rozpoznaje specyficzną sekwencję KFERQ (Lis-Phe-



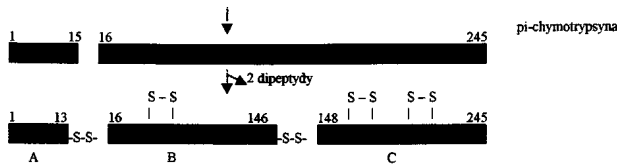
Cały proces stymulują reszty Asp i Arg znajdujące się na N końcu białka, zaś hamują reszty Met i Ser. Ostatni etap ubikwinyzacji potrzebuje dwóch wiązań wysokoenergetycznych, dzięki czemu przyłączają się kolejne grupy UB i tworzy się kompleks proteazowy. Powstałe aminokwasy nie mają możliwości gromadzenia się w komórce tak jak np. węglowodany i lipidy. Są one wykorzystywane w glukoneogenezie poprzez cykl Krebsa lub wchodzą do puli aminokwasów cytoplazmy.

Aktywność enzymów proteolitycznych przewodu jelitowego.

Pepsynogen produkowany jest przez komórki główne ściany żołądka, ma na końcu N sekwencję 44 aminokwasów, którymi maskuje centrum katalityczne. Poprzez proteazę aspartynową dochodzi do hydrolizy wiązania pomiędzy Leu i Ile, przy pH<5. Zachodzi to spontanicznie bez udziału energii.

Trypsynogen - produkowany jest w komórkach trzustki. W środowisku alkalicznym wymaga enteropeptydazy produkowanej w jelicie do hydrolizy wiązania pomiędzy Lis i Ile. W wyniku odszczipienia inhibitora trypsyny dochodzi do jej uwolnienia. Dalsze procesy przechodzą autokatalitycznie.

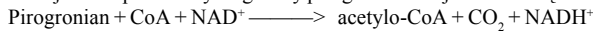
Trypsyna wpływa na 245 aminokwasowy chemotrypsynogen, z którego powstaje alfa-chemotrypsyna. Ułatwiają to Asp₍₁₀₂₎ i His₍₅₇₎. Kataliza wymaga także Ser₍₁₉₅₎. Aminokwasami wspomagającymi są Gly₍₁₉₃₎, Asp₍₁₉₄₎ i Ile₍₁₆₎. Proteoliza chemotrypsynogenu jest nieodwracalna, ale można ją zahamować poprzez przyłączenia białkowego inhibitora. Inhibitor łączy się z resztą Asp w miejscu aktywnym. Taki kompleks ma bardzo długo okres półtrwania -> do kilku miesięcy.



Elastaza - działa na elastynę. Hamują ją antyproteinaza-alfa z osocza krwi. Konkretnie chroni elastynę przed hydrolizą. Elastyna nadając sprężystość tkankom (m.in. pęcherzykom płucnym). Brak elastyny powoduje rozednięcie płuc. Fizjologiczny jest w okresie starczym niedobór antyproteinazy-alfa - co powoduje pojawienie się m.in. zmarszczek. Kluczową rolę w zachowaniu elastyny odgrywa Met₍₃₇₈₎. Met może ulegać utlenianiu do sulfometioniny. Utlenienie Met w antyproteinazie uniemożliwia jej połączenie z elastyną i naraża ją na degradację. Utlenia Met może np. dym papierosowy, który przyspiesza ten proces. Proteoliza w procesie krzepnięcia krwi - na podstawie słownej umowy z Katedra Fizjologii będzie ten temat omawiany na Fizjologii.

KOMPLEKSY ENZYMATYCZNE

Są to duże struktury, większe czasami od rybosomów, które katalizują skomplikowane reakcje. Kompleks dehydrogenazy pirogronianowej ma średnicę 100A=10nm.



Wykład z Biochemii, wykład Vn, 27.XI.2003r. KOENZYMY

Koenzymany to związki organiczne, termostabilne, małowczątkowe komponenty organiczne wymagane do aktywności enzymów. Koenzymany wiążą się z enzymem za pomocą wiązań niekowalencyjnych. Te, które łączą się za pomocą wiązań kowalencyjnych to grupy prostetyczne. Występują one w reakcjach redox, transportu grup, izomeryzacji i tworzenia się wiązań kowalencyjnych (klasy 1, 2, 5 i 6).

Koenzym często jest nazywany drugim substratem. Chemiczne zmiany w koenzymie równoważą zmiany zachodzące w substracie.

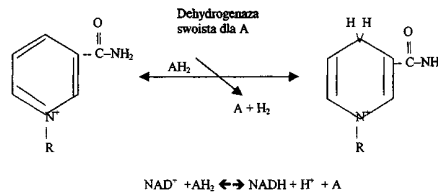
Koenzymany często są pochodnymi grupy witamin B /tiaminy, pirydoksalu, ryboflawiny, niacyny/, oraz nukleotydam i substancjami spokrewnionymi z nukleotydam.

Wyróżniamy koenzymy przenoszące e⁻ i H⁺.

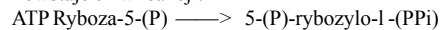
- => koenzymy pirydynowe
- => koenzymy flawinowe
- => koenzymy hematynowe /cytochromy/
- => kwas foliowy
- => ubiquinon
- => kwas liponowy
- oraz koenzymy przenoszące inne grupy niż e⁻ i H⁺:
- => TPP - dwufosforan tiaminy
- => Kwas liponowy
- => CoA
- => Koenzymany nukleotydowe
- => PLP
- => Biotyna
- => Tetrahydrofolian

o Koenzymany korynoidowe
KOENZYMY PIRYDYNOWE

NAD⁺ i NADP⁺ są to mono lub di nukleotydy połączone z amidem kw. nukleinowego. Zawierają rybozę i kwas fosforanowy, zaś dinukleotydy zawierają adeninę. Mogą występować w formie utlenionej lub zredukowanej. Przenoszą atom wodoru. Mogą być akceptorem lub donorem protonu. Uczestniczą w reakcjach oksydacyjnoredukcyjnych. Syntetyzują się z kwasu nikotynowego lub tryptofanu.



W reakcji syntezy NAD⁺ bierze udział PRPP - 5 fosforybozylo-1-pirofosforan. Powstaje on w reakcji:

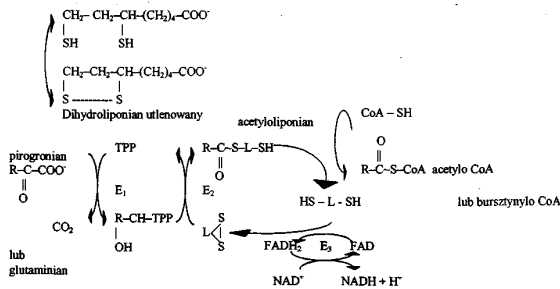


U człowieka zapotrzebowanie na niacynę (PP) jest zaspokajane dzięki tryptofenowi. Ale niedobór PP może prowadzić do pelagry. Pelagra ma wiele różnych objawów takich jak utrata wagi, zaburzenia trawienia, zapalenia skóry, depresja, demencja. Innymi przyczynami pelagry jest podawanie leków takich jak izoniazyd, zespół raka złośliwego, w którym tryptofan przekształca się w serotoninę oraz w wyniku choroby Hartnupów, w której upośledzone jest wchłanianie tryptofenu. Kwas nikotynowy stosowany w celach leczniczych do obniżenia cholesterolu powoduje zahamowanie napływu wolnych kwasów tłuszczowych. Powoduje to spadek syntezy lipoprotein zawierających cholesterol, tj. VLDL, IDLL i LDL.

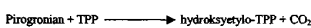
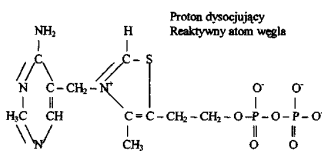
Składniki kompleksu:

Nazwa	oznaczenie	ilość aminokwasów	
Składnik o aktywności dehydrogenazy pirogronianowej	E ₁	24	TPP - tiaminodifosforan
Acetylotransferaza dihidroliponowa	E ₂	24	Lipoamid /liponian/
Dehydrogenaza dihidroliponowa	E ₃	12	FAD - flavinoadeninowy dinukleotyd

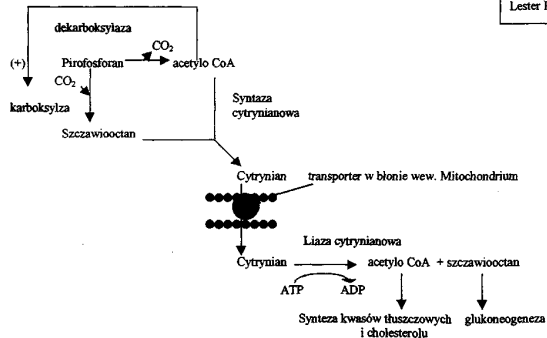
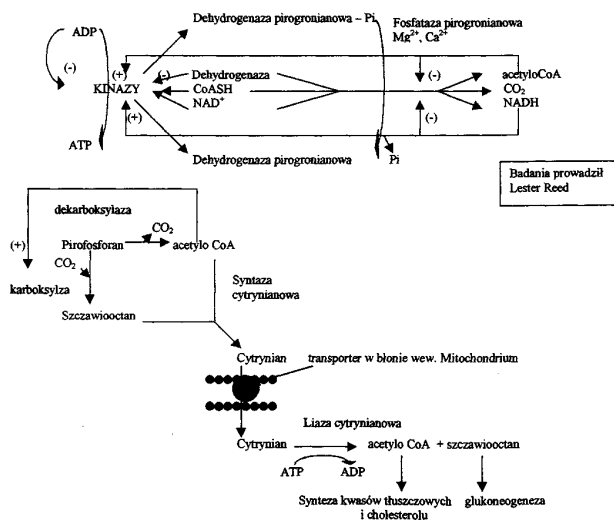
Opis funkcji: Oksydacyjna dekarboksylacja pirogronianowa, Przeniesienie gr. acetylowej na CoA, Regeneracja utlenionego liponianu.

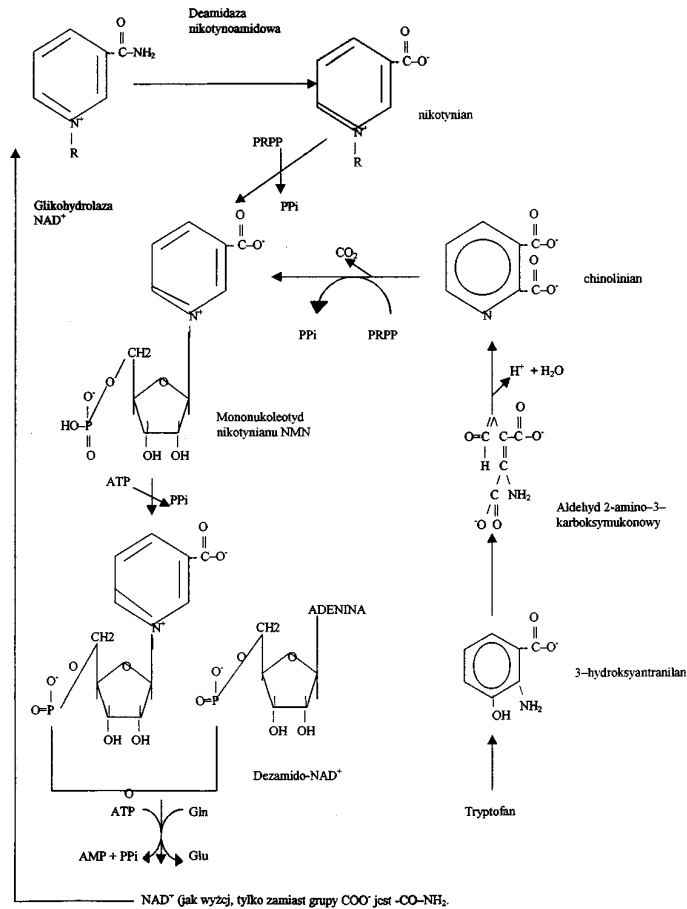


Pirofosforan tiaminy - TPP



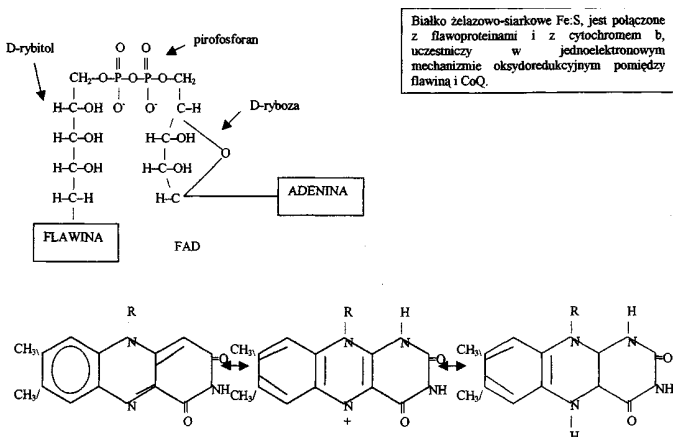
Dehydrogenaza pirogronianowa jest aktywna w formie nieufosforylowanej.





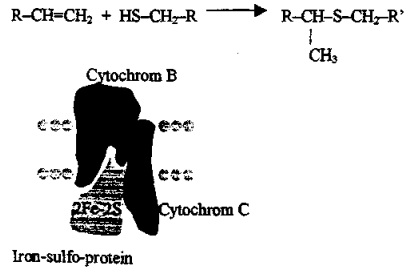
KOENZYMY FLAWINOWE

Pochodzą od ryboflawiny. Aktywnymi formami są FMN i FAD. FMN powstaje drogą ATP-zależnej fosforylacji ryboflawiny. FAD jest wynikiem dalszej reakcji FMN z ATP, w której AMP ulega przeniesieniu na FMN. Wśród przedstawicieli enzymów flawoproteinowych należy wymienić: oksydazę alfa-aminokwasową, oksydazę ksantynową, dehydrogenazę aldehydową, mitochondrialną dehydrogenazę glicero-3-fosforanową, dehydrogenazę bursztynianową, dehydrogenazę acylo-CoA. FMN przenosi elektrony w łańcuchu oddechowym. Ryboflawina jest wrażliwa na światło, dlatego spada jej poziom u noworodków po fototerapii zastosowanej przy hiperbilirubinemi, ryboflawina jest wytwarzana przez rośliny i drobnoustroje. Za pośrednictwem fosforylacji i defosforylacji jest wchłaniana w jelicie. Aby określić jej poziom (aktywność) oznacza się aktywność reduktazy glutaminowej w erytrocytach. Objawy niedoboru: zapalenie kącików ust, złuszczenie warg, zapalenie języka, światłowstręt, łojotok.

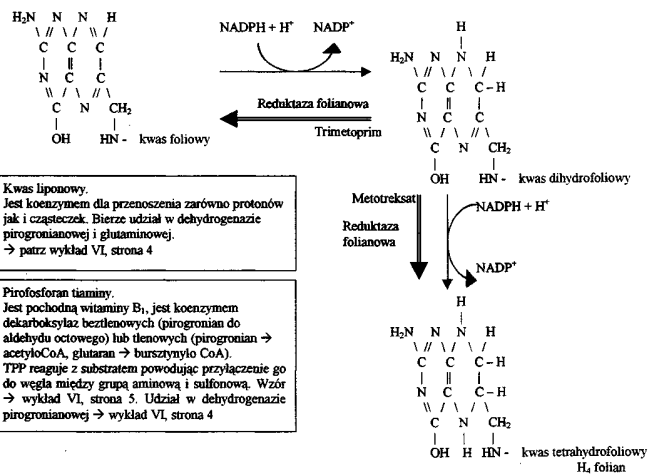


KOENZYMY HEMATYNOWE /cytochromy/

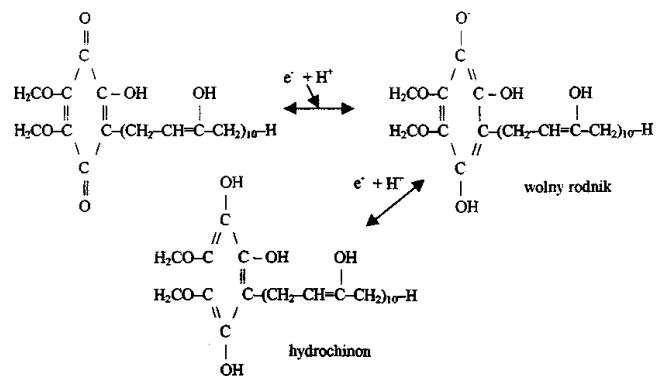
Są to koenzymy o układzie porfiryńowym, zbudowanym z 4 pierścieni pirolowych, które łączą się za pomocą atomów azotu z żelazem znajdującym się w centrum. Atomy żelaza cytochromów mogą zmieniać swoją wartościowość, dzięki czemu mogą przenosić elektrony w łańcuchu oddechowym. Cytochromy są składową kompleksów enzymatycznych. Wyróżniamy cytochromy A, B i C. Cytochrom A posiada resztę izoprenu (dimetylobuta.....)(hydrofobowy łańcuch boczny, umożliwiając zakotwiczenie w błonie). Pozostałe grupy boczne są takie jak w hemie. Cytochrom C wiąże i przenosi białka, za pomocą wiązań wykorzystujących Cys.



KOENZYMY FOLIANOWE - są pochodzenia kwasu foliowego (pteroidoglutaminan).

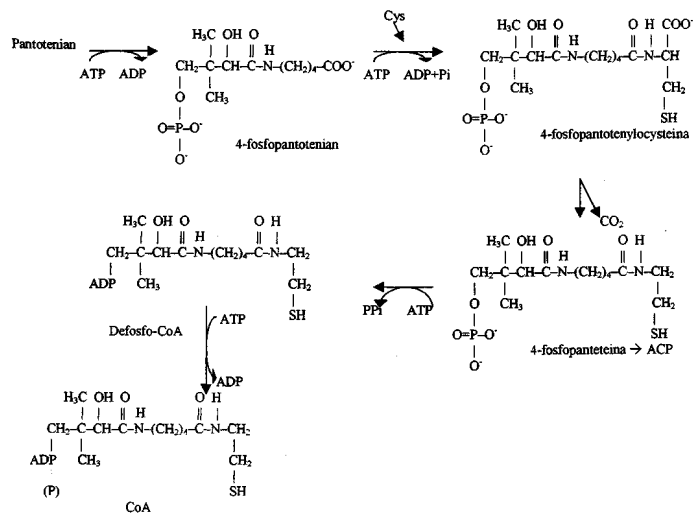


UBICHINON - zwany koenzymem Q, jest dodatkowym przenośnikiem w mitochondrialnym łańcuchu oddechowym. Występuje w formie utlenionej (chinonowej) w warunkach tlenowych lub zredukowanej (chinolowej) w warunkach beztlennych. Jest składnikiem lipidów mitochondrialnych. Posiada w swojej cząsteczce boczny łańcuch poliizoprenoidowy. Występuje w znacznym stechiometrycznym nadmiarze względem pozostałych składników łańcucha.

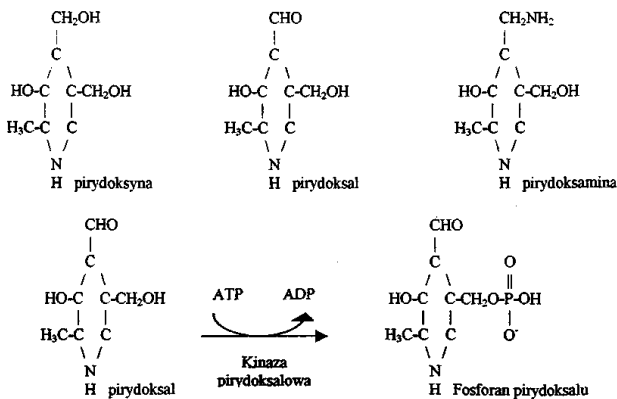


CoA - koenzym acylacji. Pochodzi z kwasu panteinowego, który po wchłonięciu z przewodu ulega fosforylacji przez ATP do 4-fosfopantotenianu. Następnie przyłącza się zdekarboksylowana Cys tworząc 4-fosfopanteteinę, która jest grupą czynną CoA i ACP. CoA zawiera nukleotyd adeninowy. CoA przenosi grupy acylowe w reakcjach cyklu cytrynowego, utleniania i syntezy kwasów tłuszczowych oraz w

reakcjach acetylacji i syntezy cholesterolu. W CoA grupą reaktywną jest-SH.

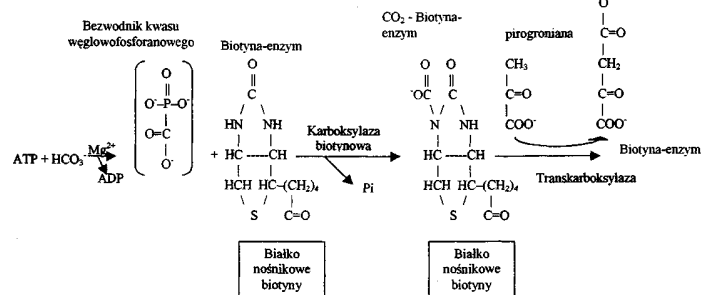


PLP - fosforan pirydoksalu - jest pochodną witaminy B6. Pirydoksyna, pirydoksal i pirydoksamina mają równą aktywność biologiczną. Jednak najaktywniejsza jest postać witaminy B6 to fosforan pirydoksalu, ulega on wchłanianiu w jelicie. PLP ułatwia transaminację, dekarboksylację i wzmaga aktywność aldolazową (patrz -> wykład I/II, strona ostatnia - rysunek).



BIOTYNA - jest pochodną imidazolową zawartą w licznych naturalnych środkach żywnościowych. Większą część zapotrzebowania pokrywają wewnątrz jelitowe drobnoustroje. Jest składową licznymi enzymów, katalizujących reakcje karboksylacji. Biotyna przenosi jon karboksylowy. Sam etap przenoszenia jonu karboksylowego wymaga obecności jonów węglanowych, ATP, jonów magnezowych i acetylo-CoA.

Enzym	Rola
Karboksylaza pirogronianowa	Katalizuje pierwszą reakcję w szlaku metabolicznym przekształcającym prekursorzy trójwęglowe w glukozę.
Karboksylaza acetylo-CoA	Dostarcza reszty octanowe do syntezy kwasów tłuszczowych katalizując powstanie acetylo-CoA.
Karboksylaza propionyl-CoA	Przekształca pirogronian do bursztynianu, który wchodzi do cyklu kwasu cytrynowego.
Karboksylaza beta-metylokrotonylo CoA	Katabolizm leucyny i pewnych związków izoprenoidowych.



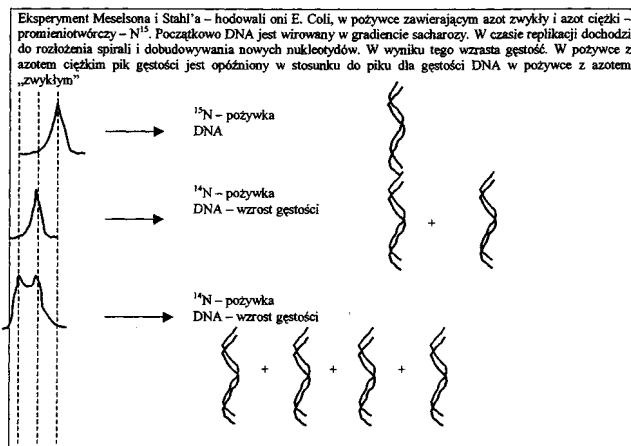
Witamina B12 wykazuje budowę podobną do pierścienia porfirynowego, w środku

którego znajduje się Co. Wytwarzana jest przez drobnoustroje. Magazynowana jest w wątrobie pod postacią metylokobalaminy, adenozylokobalaminy i hydroksykobalaminy, przy pomocy transkobalaminy I. W procesie wchłaniania uczestniczą receptory nabłonkowe jelita. B12 wiąże się z czynnikiem wewnętrznym - czynnikiem Castla, lub czynnikiem przeciw anemicznym. Dalej po przejściu do osocza wiązane jest przez transkobalaminę II. Aktywnymi formami witaminy B12 jest metylokobalamina i deoksyadenozylkobalamina. Powstają one z hydroksykobalaminy w procesie konwersji w cytoplazmie (metylokobalamina) lub w mitochondrium (5'-deoksykobalamina). Deoksykobalamina uczestniczy w konwersji metylomalonylo-CoA do Bursztynilo-CoA. Jest to główna reakcja prowadząca do włączenia metabolitu pirogronianu do cyklu kwasu cytrynowego. Metylokobalamina katalizuje sprzężoną konwersję homocysteiny do metioniny oraz metyloH₄ folianu do H₄-folianu. (ryc. 52-15, Harper, str. 753, oraz ryc. 52-18, Harper, str. 755).

Niedobór witaminy B12 prowadzi do niedokrwistości złośliwej. Wchłanianie witaminy B12 może być zablokowane jedynie przez brak czynnika Castla. Witaminy tej nie ma w roślinach, dlatego jej brak w pokarmie jaroszów też może prowadzić do niedokrwistości. Niedobór jest przyczyną upośledzenia reakcji katalizowanej przez syntazę metioninową. Jej następstwem jest upośledzenie syntezy DNA spowodowanej zmniejszonym wytwarzaniem zasad purynowych i pirymidynowych uwarunkowanych niedoborem H₄-folianu. Metylo-H₄-folian jest donorem grupy metylowej i ją przekazuje w obecności kobalaminy na homocysteinę powodując powstanie metioniny. Przy braku koenzymu H₄-folian staje się akceptorem grupy metylowej i przechodzi w metyloH₄-folian (tzw. pułapka folianowa).

Wykład z Biochemii, wykład VIII, 10 grudnia 2003r. REPLIKACJA I BIOTECHNOLOGIA REPLIKACJDNA.

DNA ulega replikacji w komórkach eukariotycznych, w fazie S. Jest to proces semikonserwatywny, biegnący dwukierunkowo z wielu miejsc inicjacji replikacji. U prokariota proces ten został lepiej poznany, i rozpoczyna się on w jednym miejscu.



Najlepiej poznane są polimerazy DNA prokariotyczne:

	Pol I	Pol II	Pol III
wielkość	103 kD	90 kD	130 kD
aktywność		Mało aktywna	Aktywność 2x większa od Pol I
Szybkość syntezy Nukleotydy/min	600	30	30000
Egzonukleaza 5'→3'	+	(-)	(-)
Egzonukleaza 3'→5'	+	+	+
Replikacja	+	(-)	+
Naprawa	+	+	(-)

Najlepiej poznana jest Pol III, biorąca udział w syntezie zarazem nici wiodącej i opóźnionej. Cząsteczka polimerazy zbudowana jest z 10 podjednostek polipeptydowych. Podjednostki te tworzą asymetryczną strukturę dimeryczną z dwoma centrami kataliznymi. Pol IZ ma właściwości korekcyjne (właściwości egzonukleazy 3'→5') jednak nie ma właściwości „naprawy przez wycięcie” (brak aktywności jako egzonukleaza 5'-3'). Obie podjednostki alfa mają właściwości polimerazy DNA, zaś podjednostki epsilon mają właściwości wspomnianej aktywnej egzonukleazy 3'→5'. Dwie podjednostki beta tworzą pierścień, który otacza cząsteczkę DNA. Ta „klamra” umożliwia ciągłe połączenie polimerazy z cząsteczką DNA.

U eukariota wyróżniamy 5 polimeraz:

	alfa	beta	delta	gamma	Epsilon
Lokalizacja	jądro	jądro	jądro	Mitochondrium	Jądro
Aktywność egzonukleazowa 5'→3'	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Aktywność egzonukleazowa 3'→5'	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Aktywność prymazy	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Replikacja	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Naprawa	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

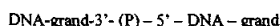
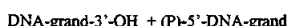
Polimeraza alfa zbudowana jest z trzech łańcuchów polipeptydowych, z których dwa mają właściwości prymaz. Zapoczątkowuje syntezę w miejscach inicjacji replikacji oraz odpowiada za syntezę każdego fragmentu Okazala. Polimeraza delta jest połączona z białkiem jądrowym antygenem proliferujących komórek (PCNA). Białko to jest odpowiednikiem podjednostki beta Pol UI E. Coli.

Proces replikacji u prokariotów rozpoczyna się w jednym miejscu (miejscie inicjacji replikacji E. Coli - OriC - jest to około 240 pz, które kierują inicjacją replikacji mającej miejsce w obrębie rejonu OriC.

W przypadku eukariota, replikacja rozpoczyna się w kilku miejscach. Każde miejsce musi zawierać autonomiczne sekwencje replikacyjne ARS.



Zapoczątkowanie syntezy fragmentów Okazaki zależy od prymazy. Syntetyzuje ona starter RNA, potrzebny do zapoczątkowania syntezy fragmentów Okazaki. Startery są dostarczają grupy 3'-hydroksylowe, które są potrzebne do zapoczątkowania syntezy DNA. Po zakończeniu syntezy nici opóźnionej przez pol III dochodzi do usunięcia startera RNA przez Pol I. Starter jest wymieniany na DNA, który łączy się z pozostałym DNA pod wpływem ligazy DNA.

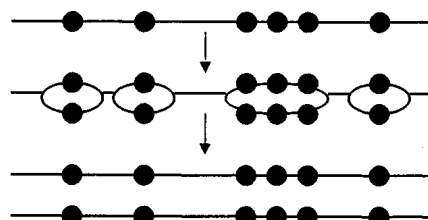
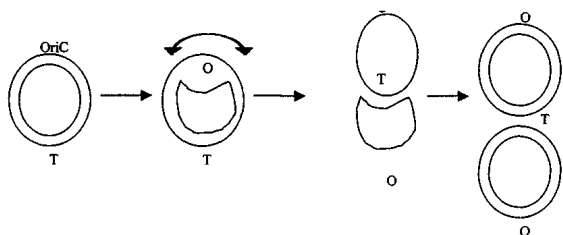


Enzym - ligaza DNA - łączy się z adenylozomonofosforanem i powstaje pirofosforan.
 $\text{E} + \text{ATP}/\text{NAD}^+ \leftrightarrow \text{EAMP} + \text{PPi}/\text{NMN}/\text{nośnikiem energii u bakterii jest NAD}^+$

DNA-Ligaza - Lys - NH₂ - (P) - Ryboza - Adenina

Adenylozomonofosforan zostaje odłączony od enzymu i łączy się z końcem 5' DNA.
 $\text{E-AMP} + (\text{P})\text{-5'DNA} \leftrightarrow \text{E} + \text{AMP} - (\text{P})\text{-5'DNA}$

Ostatecznie odłącza się AMP i tworzy się wiązanie fosfodiesterowe, pomiędzy końcem 3' i 5' DNA - 3'OH + AM-(P)-5'DNA ↔ DNA3'-(P)-5'DNA + AMP



DNA procariota jest koliste i może przybierać postać superskrętu. Co jakiś czas występują sekwencje z umetylowaną adeniną - 3x (GATC.....)₁₃. W sąsiedztwie tych „trzynastek” znajduje się 9 nukleotydów, które stanowią miejsce wiązania białka dna-A. Po przyłączeniu pierwszego białka następuje przyłączenie kolejnych, i tworzy się kompleks kilkudziesięciu białek dna-A i DNA, które oddziałują pomiędzy sobą i tworzą węzeł. Umożliwia to denaturację DNA w miejscu sekwencji (GATC.....). W wyniku tego tworzy się bańka replikacyjna i przyłączana jest heliksaza.

Heliksaza dostarcza jednoniciowych matryc do replikacji, poprzez rozwijanie DNA, przy udziale NTP.



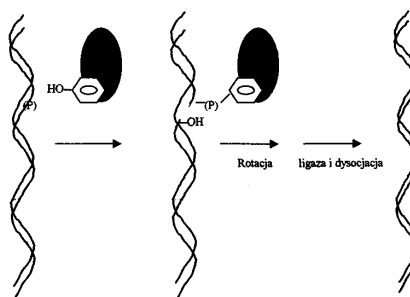
Przyłączenie heliksazy nazwanej również białkiem dna-B wymaga obecności białka dna-C, które jest jakoby nośnikiem i ubocznym produktem włączenia heliksazy w obręb bańki. Reakcja wymaga również białka dna-T i jednego wiązania wysokoenergetycznego z ATP.

Następnie zachodzi przyłączenie białka SSB (białko wiążące DNA, zbudowane z 4 podjednostek tetramerów), łączy się ono z pojedynczymi niciami DNA, co powoduje dalsze rozszerzenie bańki replikacyjnej i utworzenie widełek i poprzez to przyłączenie prymazy. W reakcji biorą udział Pri A, Pri B i Pri C. Jednak ostatecznie tylko Pri A zostaje połączona z niciami DNA.

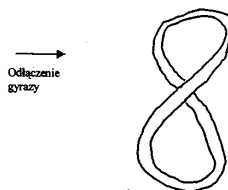
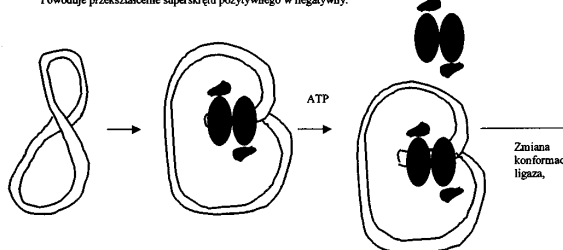


W kolejnych etapach zostają odłączone pozostałe białka dna-A oraz zostaje przyłączony RNA - starter „primer”. Dalej powiększają się widełki replikacyjne. Po oddysocjowaniu wszystkich białek dna-A przyłącza się polimeraza III. Podjednostka beta tworzy obręcz i obejmuje DNA

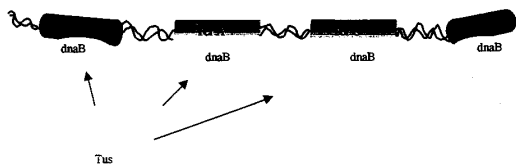
DNA - gyraza jest topoisomerazą I, wpływającą na topologię DNA (strukturę). Gyraza przecina pojedynczą nić DNA i umożliwia rozluźnienie skrętu.



Topoisomeraza II, przecina obie nici DNA. Zbudowana jest z dwóch podjednostek A i dwóch podjednostek B. Powoduje przekształcenie superskrętu pozytywnego w negatywny.



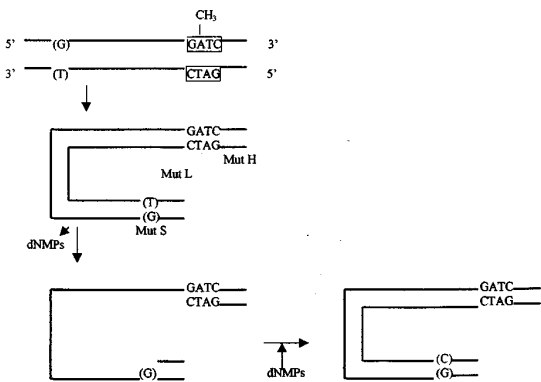
Na przeciwległym regionie DNA niż OriC leżą sekwencje terminacyjne (ter). Decydują one o zakończeniu replikacji. Swoiste białko Tus wiąże się za pośrednictwem białka dnaB z DNA i zahamowuje dalsze rozwijanie i ułatwia zakończenie replikacji.



Deacetylacja histonów umożliwia odłączenie ich od nici DNA i rozluźnienie kwasu. Pozostałe białka nie-histonowe są właśnie białkami uczestniczącymi w procesie replikacji i transkrypcji.

Wspomniałem wcześniej, że polimeraza UI ma właściwości korekcyjne. Raz na 10^9 zdarza się błąd w replikacji. Przy naszym genomie stanowi to około 3,5 błędów na jeden proces replikacji.

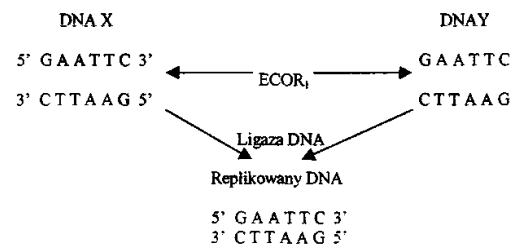
Naprawa DNA. Nić macierzysta ma w sekwencji GATC nukleotyd, który jest umerylowany. Jest to adenina. Dzięki temu nić macierzysta jest rozróżniana od nici zreplikowanej. Gdy wystąpi błąd w replikowanej nici, dochodzi do usunięcia fragmentu łańcucha od tej sekwencji do miejsca z błędem replikacyjnym. W to miejsce polimeraza dobudowuje komplementarny odcinek DNA i za pomocą ligazy łączy go z pozostałym łańcuchem.



Podstawą biotechnologii rekombinowanego DNA są enzymy kwasów nukleinowych. Pozwalają one na manipulację w zakresie DNA i RNA. Źródłem enzymów restrykcyjnych są bakterie. Enzymy restrykcyjne rozpoznają 4, 6 aminokwasowe sekwencje, które są względem siebie odwrócone. Hydrolizują wiązanie fosfodiesterowe dzięki czemu możemy otrzymać tępe i lepkie końce.

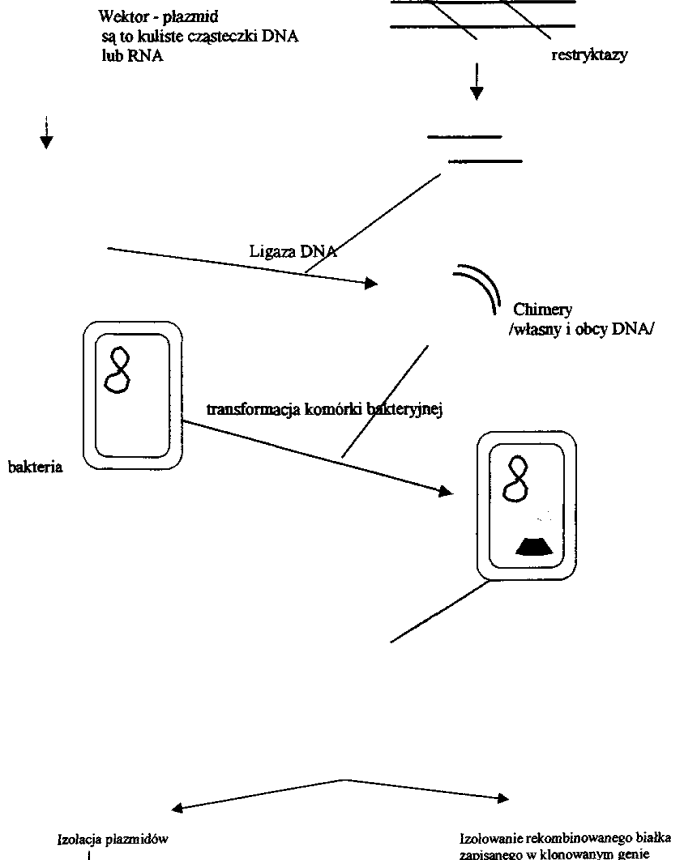


Końce lepkie oznaczają, że przy nowym połączeniu będą się tworzyć również wiązania wodorowe między komplementarnymi zasadami, co będzie ułatwiać łączenie. Replikowany DNA powstaje z dwóch: DNA X i DNA Y.



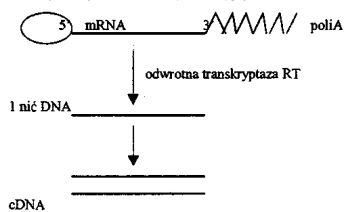
Enzymy restrykcyjne chronią komórki bakteryjne przed inwazją obcego DNA. Bakterie posiadają specyficzny mechanizm modulujący uniemożliwiający autotrawienie DNA bakterii. Te mechanizmy polegają na metylacji swoistych sekwencji przez swoiste enzymy metylujące co powoduje że nie są one trawione.

Klonowanie DNA



Komplementarne DNA

Powstaje w wyniku odwrotnej transkrypcji mRNA.



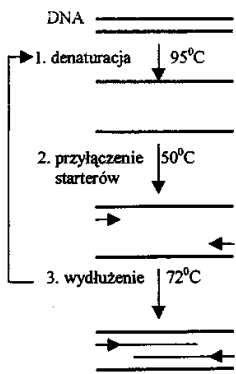
METODY BIOTECHNOLOGICZNE

Hybrydyzacja

Polega na wymuszeniu powstania wiązań wodorowych pomiędzy komplementarnymi zasadami, kwasu DNA względnie RNA. Mogą powstać kompleksy DNA-DNA, DNA-RNA, RNA-DNA, i RNA-RNA. Na szkiełku znajduje się nasz materiał genetyczny. Przykrywamy dokładnie szkiełko błoną - filtrem nitrocelulozowym. Po zdjęciu filtra wykonujemy na nim hybrydyzację. Żeby dokładniej zlokalizować szukaną sekwencję możemy zastosować metody izotopowe.

Reakcja łańcuchowa polimerazy - PCR.

W temperaturze 95°C dochodzi do denaturacji DNA (krok 1). W temperaturze 50°C są dołączane syntetyczne startery do końców 5'. Te wydłużają się w kierunku końców 3', przy udziale polimerazy termostabilnej z bakterii thermus aquaticus -> Taq.



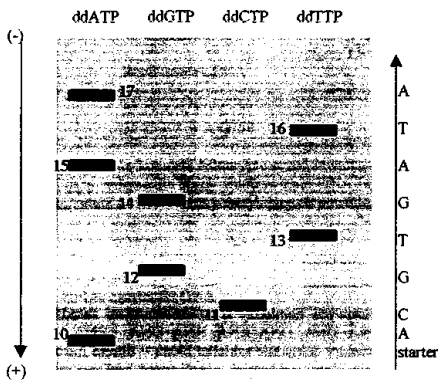
Sekwencjonowanie Sangera.

Do ustalenia składu nukleotydów w nici replikowanej użył on wysokorozdzielczej elektroforezy na żelu poliakrylo-amidowym. Metoda polega na replikacji nici DNA od ściśle określonego miejsca startu do miejsca, w którym określony nukleotyd ją przerwie. Do reakcji potrzebne są zatem: starter, polimeraza DNA, substrat dodatkowy -> dNTPs, i swoiste dideoksynukleotydy będące terminatorami replikacji.

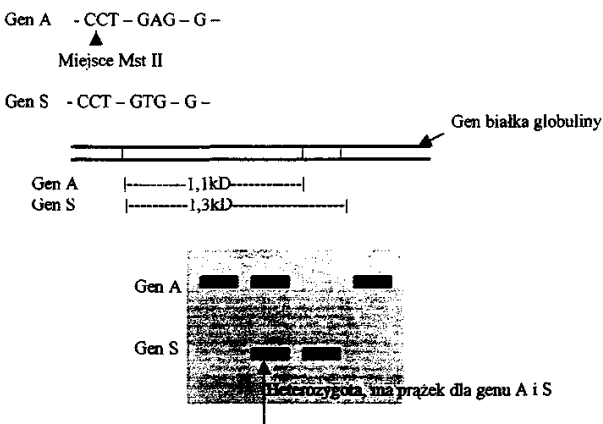
DNA 3'-T-G-C-A-C-T-A-T-5' 5'-primer-10-11-12-13-14-15-16-17-3'

polimeraza + dATP + dGTP + dCTP + dTTP + 4ddNTPs
/każdy z 4 ddNTPs jest swoisty dla jednej zasady/

Produkty są następnie nakładane na żel poliakrylo-amidowy. Ukazują się prążki, które są eksponowane wobec kliszy radiograficznej. Sekwencję czytamy od dołu.



Metoda w/w jest stosowana do potwierdzenia przy chorobach genetycznych, np. niedokrwistość sierpowata. Cechuje ją zmiana A na T, w genie.



Southern blotting.

Możemy nią wykryć swoiste sekwencje występujące we fragmencie DNA. Po izolacji DNA i pocięciu enzymami restrykcyjnymi rozdziela się je metodą elektroforezy na żelu agarozowym. Następnie wybarwia się DNA np. interkalatorem bromkiem etydydy (EtBr). Pojawia się rozmyta plama. Następnie przeprowadza się denaturację za pomocą alkalicznego buforu. Kolejny etap to przeniesienie zdenaturowanego

DNA na papier nitrocelulozowy metodą blotingu. DNA wiąże się z nitrocelulozą w pozycji odpowiadającej tej, do jakiej zawędrował podczas elektroforezy. Teraz dopiero DNA jest poddawany hybrydyzacji ze swoistą sondą. Dalej papier eksponujemy w obecności błony radiograficznej i pojawiają się prążki. Wykorzystujemy tą metodę do identyfikacji liczby genów w genomie, w badaniach typu „odcisku palca” DNA i w RFLP (metoda polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych).

Northern blotting.

Proces podobny jest do Southern blotingu, jednak dotyczy RNA. Wykrywamy nią i oznaczamy ilościowy udział swoistego mRNA w tkankach.

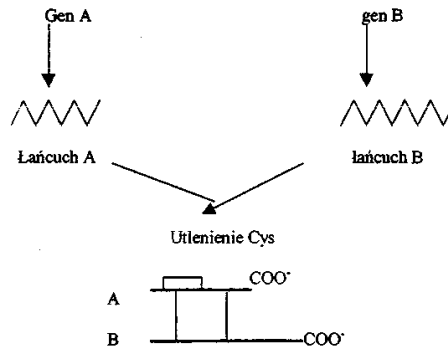
Western blotting.

Dotyczy wykrywania i ilościowego oznaczania białek, przy użyciu przeciwciał. Zainteresowanych odsyłam do „Biochemii” Davidson’a, rozdział 11, IV, strona 227. Biotechnologia daje nam wiele możliwości wykorzystania DNA, względnie RNA w medycynie. Ze sztuki jaką była medycyna wkraczamy w etap gdzie staje się ona nauką. Dzięki wektorom, możemy produkować określone szczepionki, bądź peptydy hormonalne lub za pomocą zwierząt transgenicznych uzyskiwać zadowalające nas produkty.

Wektor - gen HBV -> transformacja komórek drożdży -> izolowanie białka -> oczyszczenie -> szczepionka /Chimer/

INSULINA.

Łańcuchy A i B są oddzielnie klonowane, a następnie poprzez utlenienie Cys łączone ze sobą. Biosynteza insuliny, pozwala nam na ograniczenie pobierania insuliny świńskiej.



ZWIERZĘTA TRANSGENICZNE

Do przedjadrza w jajiu owcy wszczepia się poprzez mikroiniekcję DNA gen np. ABC. Tak przygotowaną komórkę wprowadza się do matki zastępczej (implantacja). Transgeniczne potomstwo identyfikujemy za pomocą PCR. Ponieważ nasz gen ABC umieściliśmy za słynym promotorem beta-laktoglobuliny to ekspresja genu ABC będzie zachodzić tylko w obrębie gruczołu mlekowego. Otrzymamy mleko z białkiem ABC. Następnie frakcjonujemy białko z mleka i czysty produkt możemy wykorzystać.

Wykład z biochemii, wykład EX, 7 stycznia 2004 r. MUTACJE I NAPRAWA DNA

Mutacje są trwałymi zmianami w sekwencji DNA. Przyczyny, względnie czynniki mutagenne możemy podzielić na:

Fizyczne:

> Promieniowanie UV - indukuje dimeryzację sąsiadujących ze sobą zasad pirymidynowych, szczególnie tymin. Ta mutacja zniekształca strukturę DNA, hamuje transkrypcję i zaburza replikację, aż do momentu jej naprawienia. > Promieniowanie jonizujące:

- Promieniowanie beta
- Promieniowanie gamma
- Promieniowanie X - może powodować otwarcie pierścieni purynowych, pękanie wiązań fosfodiesterowych.

Chemiczne - to związki chemiczne powodujące zmiany w budowie zasad występujących w DNA albo zmieniające jego strukturę: > analogi zasad, które mogą być wbudowywane w DNA. Niektóre powodują zahamowanie replikacji lub mogą powodować nowotworzenie. > Chemiczne mutageny:

- Niealkilujące
- 1) formaaldehyd (HCHO) - reaguje z grupami aminowymi i sieciuje DNA, RNA i białka
- 2) hydroksylamina (NH₂OH) - swoiście reaguje z cytozyną, dając pochodne łączące się w parę z adeniną zamiast guaniną -> tranzycja
- 3) kwas azotowy (HNO₂) - powoduje oksydacyjną deaminację cytozyn, adenin i guanin, co prowadzi, odpowiednio do powstania uracyli, hipoksantyn i ksantyn. Zmiany te powodują tranzycję.
- Alkilujące - np. mhmocyna, działa silnie elektrofilowo i łączy się z wieloma nukleofilami komórkowymi, w szczególności z siódmym azotem w pierścieniu

purynowym guaniny w DNA. Tworzące się wiązanie alkilowe uniemożliwia tworzenie się prawidłowych par zasad z guaninami podczas replikacji, czego wynikiem są mutacje.

• Interkalujące - związki aromatyczne - wciskają się pomiędzy sąsiadujące zasady w DNA, interkalują. Powodują usunięcie lub dodanie jednej lub więcej par zasad. Powodują delecję lub insercję:

1) barwniki akrydynowe

2) bromek etydyny - wykorzystywany do ukazywania DNA, ma właściwości fluorescencyjne. Błędy replikacyjne - raz na 10^4 - 10^5 nukleotydów polimeraza DNA robi błąd i źle podstawia nukleotydy. Jest on naprawiany dzięki aktywności korekcyjnej, która jest składową aktywności enzymatycznej podczas replikacji. Obniża liczbę błędnie wbudowanych zasad i tautomerów. Procesy spontaniczne:

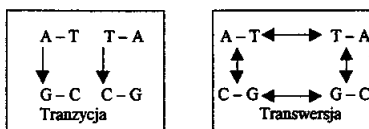
> deaminacja cytozyny i utworzenie uracylu

> utrata zasad purynowych - zasady purynowe są mniej stabilne niż pirymidynowe i może dojść do przzerwania wiązanie glikozydowego i usunięcia zasady.

Większość uszkodzeń zostaje naprawiona. Błąd może być naprawiony, bo najczęściej dotyczy jednej nici DNA, a druga stanowi matrycę przy naprawie. Mutacje mogą być zlokalizowane w genomowym DNA i w mitochondrialnym DNA. Jeśli mutacja znajdzie się w komórkach rozrodczych, może zostać przekazana potomstwu, na drodze dziedziczenia dominującego, recesywnego lub sprzężonego z płcią. Jeśli mutacja dotyczy komórki somatycznej -> mutacja somatyczna, powoduje zmiany lokalne, niekiedy będące podstawą nowotworzenia. Systemy naprawcze człowieka są podobne do systemów prokariota. Wyróżniamy dwa typy mutacji:

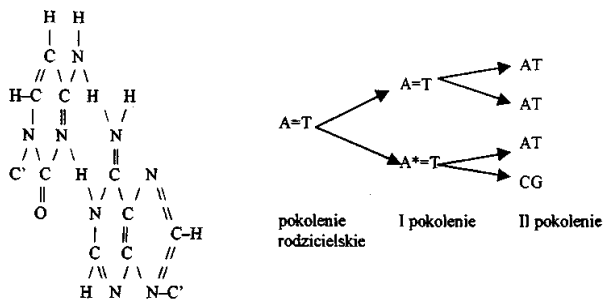
L. subtytuje - mutacje punktowe

- tranzycja - powoduje zamianę zasady purynowej na purynę lub pirymidynowej na pirymidynę - transwersja - powoduje zamianę zasady purynowej na pirymidynę lub pirymidynowej na purynę



II. delecje i insercje - powstają w wyniku przesunięcia się „ramki odczytu”. Jeśli zostanie przesunięta o jedną zasadę to powoduje to zmianę informacji genetycznej, jeśli zaś o cały kodon, to spowoduje to wypadnięcie lub dodanie kolejnego aminokwasu do białka, względnie wcześniejsze zakończenie translacji.

Często w DNA występują cząsteczki w formie tautomerycznej, przyczynia się to do większej ilości tranzycji forma tautomeryczna występuje 1×10^4 zasad. Grupa aminowa ulega tautomerizacji do grup imidowej -imidotautomery lub grupa -C=O ulega tautomerizacji do grupy enolowej -COH- enolotautomery. Spontaniczne tautomery mogą tworzyć pary odmienne od klasycznych, np. imidotautomer adeniny (A*) z cytozyną.



W pierwszym pokoleniu zamiast A jest A*, która powoduje przyłączenie C zamiast T. W potomstwie ukaże się że jedna część będzie miała CG a druga AT.

Analogi zasad takie jak 5-bromouracyl (tworzy parę z G a nie z A), 2-aminopuryna (forma tautomeryczna, tworzy parę z C a nie z T), czy hipoksantyna (tworzy parę z C), są również odpowiedzialne na mutacje, które mogą się utrwalić u potomstwa, bądź mogą zostać naprawione.

Benzopiren ulega przyłączeniu do zasad azotowych tworząc addukty. Addukty zaburzają replikację i transkrypcję i stanowią potencjalne zagrożenie transformacją nowotworową. Podobnie działa aflatoksyna występująca w pleśni (grzybach niedoskonałych).

Typy mutacji.

I. zamiana 1 zasady

- depirymidacja
- depurynacja
- deaminacja (C->U)
- deaminacja (A->hipoksantyna)
- alkilacja

- insercja, delecja

- inkorporacja analogu zasad II. zamiana 2 zasad

- powstawanie dimerów T=T lub C=C

- powstawanie wiązań poprzecznych przez dwufunkcyjny czynnik alkalinizujący III.

pęknięcie łańcucha

promieniowanie jonizujące

rozpad wiązań fosfodiesterowych pod wpływem promieniowania X IV. Wiązania poprzeczne

- pomiędzy zasadami tego samego lub przeciwnego pasma

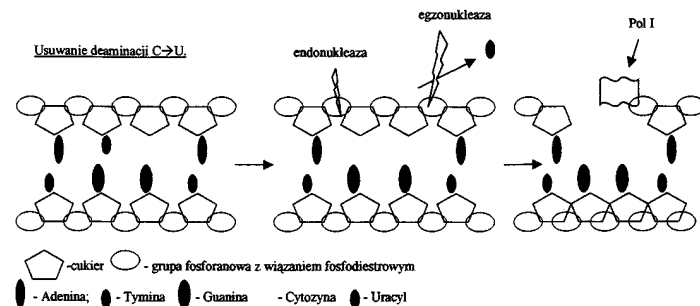
- między DNA i histonami

NAPRAWA

1. Przez wycięcie zasady.

2. Przez wycięcie nukleotydu.

3. Usuwanie błędów Pol III, usuwanie niesparowanych zasad



1. Glikozydaza uracylowa - przecina wiązanie pomiędzy zasadą a cukrem.
2. Endonuleaza - przecina wiązanie fosfodiesterowe.
3. Egzonukleaza - oddysocjowanie fragmentu DNA,
4. Polimeraza I - wbudowanie brakującego odcinka DNA.
5. Ligaza - połączenie nici ze sobą.

Usuwanie nukleotydów (naprawa adduktów).

1. Nacięcie endonukleazą wiązania fosfodiesterowego.
2. Usunięcie nukleotydu (adduktu) + sąsiednie nukleotydy
3. Pol I.
4. Ligaza.

Gdyby DNA miał U zamiast T, to glikozydaza uracylowa usuwałaby go z nici. Do tego enzym ten nie rozpoznawałby Uracylu, który powstał w wyniku mutacji z cytozyny od prawidłowo wkomponowanego podczas replikacji, uracylu.

Usuwanie dimerów T=T.

Proces ten wymaga udziału kilku białek z klasy uvr.

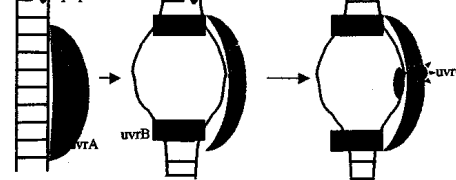
1. Białko uvrA wiąże się z DNA w pobliżu dimeru.
2. Następnie uvrA wchodzi w interakcję z dwoma białkami uvrB, co lokalnie denaturuje DNA. Daje to kompleks podobny do bańki replikacyjnej, który dalej przesuwa się do dimeru.
3. Dalej przyłącza się białko uvrC, które powoduje usunięcie wiązań pomiędzy T=T.

- U bakterii dimer może być usuwany przez fotoliazę DNA, która rozpoznaje miejsce uszkodzenie. Aktywny się pod wpływem UV (niebieskiego i bliskiego nadfioletu) i rozdziela dimer.

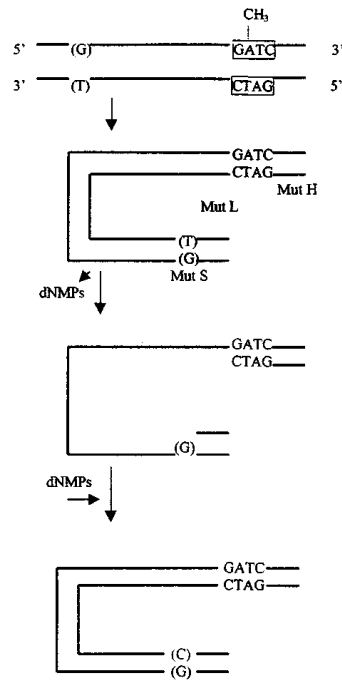
Niedobór enzymów, mutacje genów powodują Xerodermapigmentosum -> powstają

mnożone nowotwory skóry. Mutują się 4 geny dla białek uvr i 8 innych genów.

Choroba dziedziczy się autosomalnie, recesywnie.



Naprawa DNA. Nici macierzysta ma w sekwencji GATC nukleotydy, który jest umetylowany. Jest to adenina. Dzięki temu nici macierzysta jest rozróżniana od nici zreplikowanej. Gdy wystąpi wada w replikowanej nici, dochodzi do usunięcia fragmentu łańcucha od tej sekwencji do miejsca z błędem replikacyjnym. W to miejsce polimeraza dobudowuje komplementarny odcinek DNA i za pomocą ligazy łączy go z pozostałym łańcuchem.



Mutacje związane z tym typem naprawy dotyczą najczęściej genów, kodujących białka mutS /hMSH₂/ i mutL /hMLHA. Zaburzenia w mechanizmie naprawy może spowodować raka okrężnicy (występuje 1/200). Choroba ta nazywa się zespołem Lynch'a.

Test Amesa zakłada, że istnieje zależność pomiędzy mutagenizacją i karynogenezą. W teście wykorzystuje się zmutowany szczep *Salmonella typhimurium*, który do wzrostu wymaga obecności histydyny w pożywce. Ten zmutowany szczep ma niską częstotliwość rewersji do typu dzikiego (tzn. prawidłowego), który nie wymaga histydyny do wzrostu. Szybkość rewersji do typu dzikiego znacznie się zwiększa w obecności mutagenu. Względna mutageność danej substancji jest skorelowana z szybkością powrotu *Salmonella* do typu podstawowego.

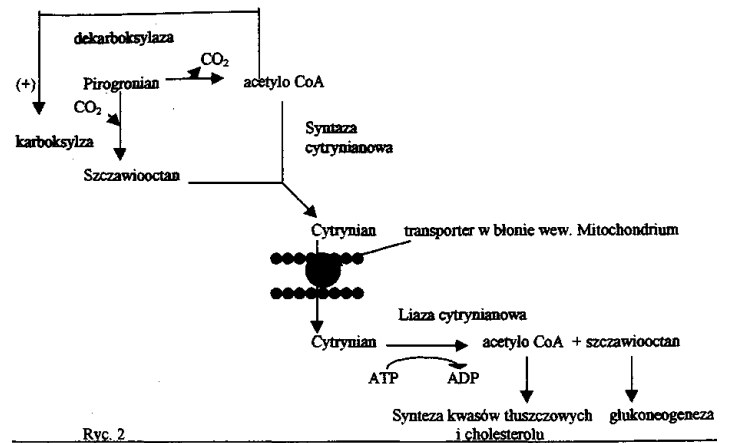
Źródłem acetyloCoA w reakcji tlenowej dekarboksylacji jest pirogronian. Acetylo CoA powstaje również w procesach utleniania kwasów tłuszczowych do kwasów dwuwęglowych, w beta-oksydacji. Acetylo CoA może zostać wykorzystany do syntezy ciał acetolowych i ketonowych, jednak główną drogą jego przemiany jest jego utlenianie w cyklu kwasu cytrynowego (Ryc. 1).

Powstały pod wpływem syntazy cytrynianowej cytrynian może dalej trwać w cyklu Krebsa, jak również może przejść do cytozomu, poprzez białko transportujące cytrynian. W cytozolu liza rozkłada go na szczawiooocian i acetyloCoA (ryc. 2).

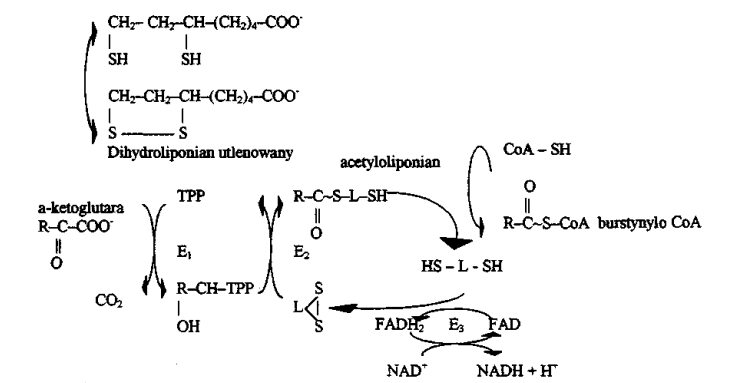
Kolejną reakcją jest reakcja izomeracji cytrynianu do izocytrynianu. Wymaga ona akonitazy i jest reakcją dwustopniową, hamowaną przez fluorocytrynian. W pierwszym etapie zostaje odłączona grupa -OH i tworzy się wiązanie podwójne, w drugim etapie zaś dodana jest woda i rozłożone zostaje wiązanie podwójne. Oba etapy wymagają jonów żelaza Fe³⁺.

Kolejną reakcją jest utlenienie i dekarboksylacja dzięki dwóm właściwościom dehydrogenazy izocytrynianowej zależnej od NAD⁺. W mitochondrium i w cytozolu znajduje się jeszcze jedna dehydrogenaza zależna jednak od NADP⁺. Ważnym składnikiem tej reakcji jest Mn²⁺ lub Mg²⁺. W końcowym produkcie tej reakcji jest alpha-ketoglutaran.

Następną reakcją katalizuje kompleks dehydrogenazy alpha-ketoglutaranu, który wymaga takich samych kofaktorów jak kompleks dehydrogenazy pirogronianowej, a więc: difosfotiaminy, liponianu, NAD⁺, FAD i CoA (ryc.3). nie jest ona kontrolowana kowalencyjnie. Hamujące działanie na nią wykazują Arsenin, NADH i jej produkt - bursztynnylo-CoA.



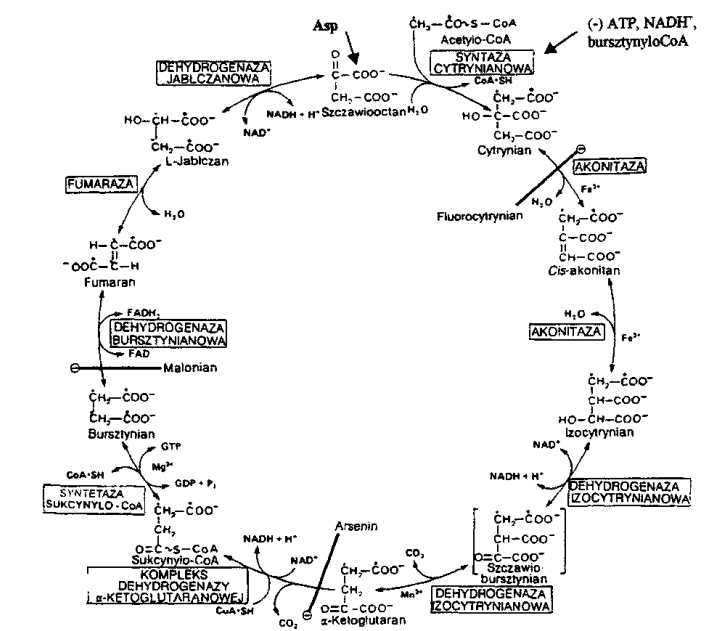
Ryc. 2



Bursztynnylo-CoA może zostać włączony do biosyntezy hemu, lub pod wpływem syntetazy bursztynnylo-CoA przekształcony do bursztynianu. Ten z kolei dzięki dehydrogenazie bursztynianowej przekształcany jest do fumaranu. Fumaran może zostać włączony do cyklu Krebsa również w wyniku przemian Asp (cykl mocznikowy), Phe i Tyr. Dehydrogenaza bursztynianowa jest jedynym enzymem związanym z wewnętrzną błoną mitochondrialną. Fumaraza przekształca fumaran w jablczan, a ten z kolei dzięki dehydrogenazie jablczanowej wchodzi dalej do cyklu jako szczawiooocian. W czasie jednego obrotu cyklu acetylo-CoA zostaje utleniony do 2xCO₂, oraz powstają przy tym 1xGTP i 3xNADH + H⁺.

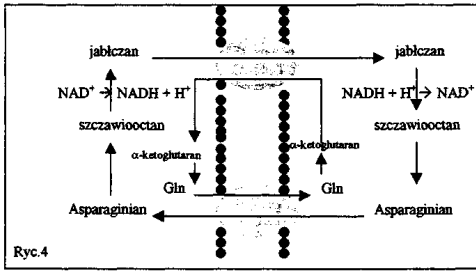
Hydrolyza ATP dostarcza nam około 8kcal/mol, zaś utlenienie acetylo-CoA aż 96 kcal/mol. Regulacja całego cyklu zachodzi na poziomie syntazy cytrynianowej, dehydrogenazy izocytrynianowej i dehydrogenazy alpha-ketoglutaranowej.

Wykład XI z Biochemii, 25 luty 2004r.
Przemiany acetyloCoA i przenoszenie elektronów.

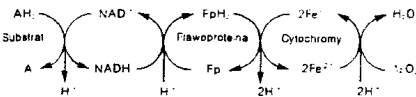


Ryc. 1

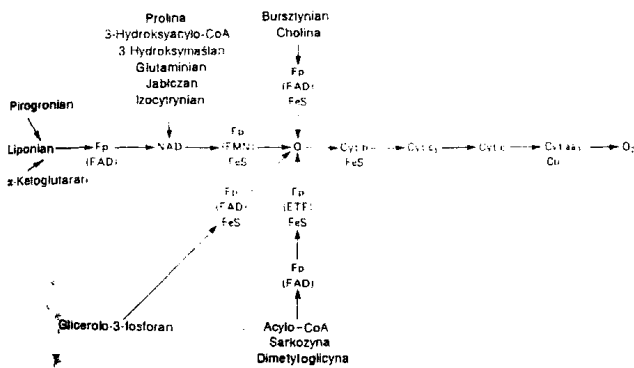
Za transport jabłczanu i Asp przez błonę mitochondrialną odpowiadają przenośniki jabłczanowo- α -ketoglutaranowy i glutaminiano-Asp (Ryc. 4).



Przeniesienie równoważników redukujących w łańcuchu oddechowym...



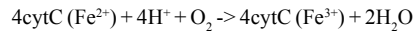
Przeniesienie równoważników redukujących w łańcuchu oddechowym



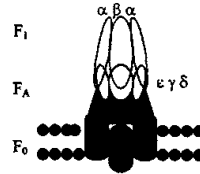
na cytochrom b, a H^+ przechodzi do cytozolu.

Kompleksy I, III i IV związane są z błoną mitochondrialną, działają jak pompy H^+ , i mają największe różnice potencjałów.

Cytochrom c odbiera e^- z kompleksu III i przekazuje na kompleks IV (oksydazy cytochromowej), zbudowany z cytochromu a i a_{339} , oraz FeS i Ca^{2+} . Przenosi on e^- na O_2 , prowadząc w ostateczności do powstania wody.



Kompleks II stanowi szlak uboczny, utlenienie FAD, akceptorem jego e^- i H^+ jest ubiquinon. Kanał H^+



Wykład z Biochemii, wykład XII, 2 marca 2004r.

LIPIDY

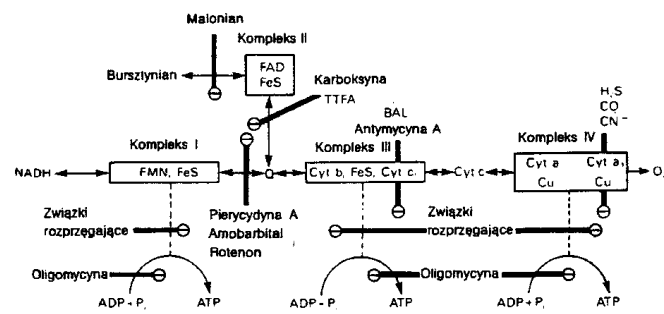
Lipidy to estry alkoholu (np. glicerol) i wyższych kwasów tłuszczowych. Rozpuszczają się w rozpuszczalnikach organicznych, są apolarnie, dzielimy je na:

pochodne kwasów tłuszczowych

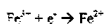
- => proste
- obojętne
- woski => złożone
- glikolipidy
- fosfolipidy - i pochodne izoprenu

Funkcje:

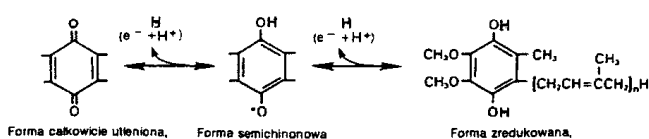
- > funkcja strukturalna w błonach komórkowych i w błonach organeli
- > funkcja metaboliczna, źródło energii (triacylglicerole) > udział w glikolizie
- > przekaźniki sygnałów (diacylglicerol, fosfatydyloinozylol)



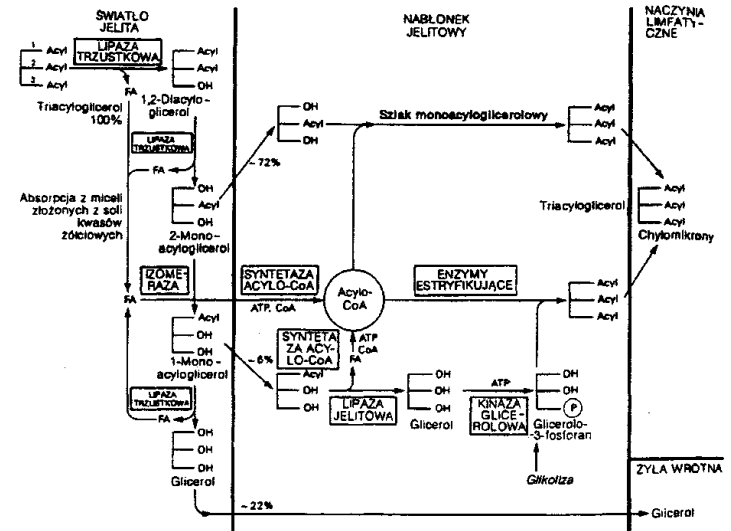
Kompleks I - zbudowany z 30 białek, wiąże i utlenia NADH, przenosi H^+ dzięki FeS.



Elektrony z FeS są przekazywane z H^+ na ubiquinon.



Ubichinon (Q) przenosi e^- i H^+ z kompleksu I i II na kompleks III. Ubichinol przekazuje $2e^-$ na kompleks cytochromu b i c_1 - reduktaza cytochromowa - kompleks III Ubichinol przekazuje $1e^-$ i uwalnia H^+ i przekształca się w ubisemichinol, i dalej przekazuje $1e^-$



Wchłanianie w jelicie zachodzi dzięki micelom utworzonym z soli kwasów żółciowych. 2-monoacylglicerole, kwasy tłuszczowe i niewielkie ilości 1-monoacylgliceroli opuszczają fazę olejową zawiesiny tłuszczowej i j dyfundują do miceli mieszanych i liposomów złożonych z soli kwasów żółciowych, fosfatydycholiny i cholesterolu pochodzenia żółciowego. Ponieważ micelle są rozpuszczalne w wodzie, umożliwiają one dostanie się produktów trawienia tłuszczów do rąbka szczoteczkowego komórek błony śluzowej jelita, a następnie do wnętrza enterocytów. Sole kwasów żółciowych docierają do jelita krętego, gdzie są wchłaniane i przechodzą do krążenia jelitowo-wątrobowego. Trzustkowa fosfolipaza A_2 rozkłada fosfolipidy pochodzenia pokarmowego, i żółciowego (np. fosfatydylocholina) do kwasów tłuszczowych i lizofosfolipidów. Estry cholesterolowe ulegają

hydrolizie pod wpływem hydrolazy estrów cholesterolowych pochodzenia trzustkowego. W warunkach fizjologicznych ponad 98% lipidów zawartych w pokarmach jest wchłaniana w jelitach. W obrębie ściany jelit 1-monoacylglicerole ulegają dalszej hydrolizie do wolnego glicerolu i kwasu tłuszczowego pod wpływem

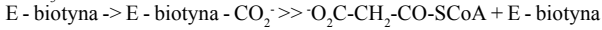
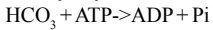
lipazy jelitowej różniące się od lipazy trzustkowej. 2-Monoacylglicerole ulegają rekonwersji do triacylglicerol szła-kciem monoacylglicerolowym. Proces resyntezy TAG-li z kwasów tłuszczowych wymaga „aktywacji” tych ostatnich do acylo-CoA przez syntazę acylo-CoA. TAG zawierające kwasy tłuszczowe krótkie lub średniolugie mogą ulec wchłanianiu w postaci niezmienionej i dopiero potem ulegają hydrolizie przez hydrolazę estrów glicerolowych. Ten enzym odgrywa szczególną rolę u chorych cierpiących na niedobór lipazy trzustkowej, karmio-nych TAG zawierającymi średniolugie kwasy tłuszczowej. Synteza TAG w błonie śluzowej jelita przebiega podobnie jak w innych tkankach. Wchłonięte lizofosfolipidy oraz większość wchłoniętego cholesterolu jest także reacylowana przez acylo-CoA, w wyniku czego powstają fosfolipidy i estry cholesterolowe.

Uwolniony w świetle jelita glicerol nie ulega reutilizacji, lecz jest wchłaniany do krążenia wrotnego. Natomiast glicerol uwolniony w obrębie komórek jelitowych może być wykorzystywany do resyntezy TAG po poprzedniej aktywacji przez ATP do glicerolo-3-fosforanu.

TAG powstające w enterocytach przeważnie nie dostają się do układu wrotnego. Większość wchłoniętych lipidów (fosfolipidy, estry cholesterolu, wolny cholesterol, witaminy rozpuszczalne w tłuszczach) tworzą chylomikrony. Te ostatnie tworzą limfę, transportowaną naczyniami limfarycznymi.

Większość wchłoniętych KT, złożonych z 10 lub więcej atomów węgla, niezależnie od tego, w jakiej postaci zostały reabsorbowane, występują jako estry w limfie. Kwasy tłuszczowe krótkie transportowane są krwią żyły wrotnej w postaci nieestryfikowanej -> jako WKT.

W komórkach mogą powstawać kwasy tłuszczowe w syntezie de novo. Wymagają one substytutu w postaci acylo-CoA, który ulega karboksylacji do malonylo-CoA. Karboksylaza jest aktywna w postaci defosforylowanej, wymaga biotyny i katalizuje reakcję nieodwracalną. Reaktywatorem reakcji jest cytrynian, gdy enzym jest nieaktywny.



Kwasy tłuszczowe są syntetyzowane dzięki syntazie kwasów tłuszczowych. Jest to pojedynczy enzym wykazujący kilka aktywności związanych z kilkoma centrami aktywnymi:

- transacylaza acetylowa - przenosi grupę acylo-CoA na grupę SH Cys połączonej z pierwszą jednostką dimeru.

transacylaza malonylowa - przenosi malonylo - CoA do grupy SH Pan, połączonego - z drugą jednostką dimeru.

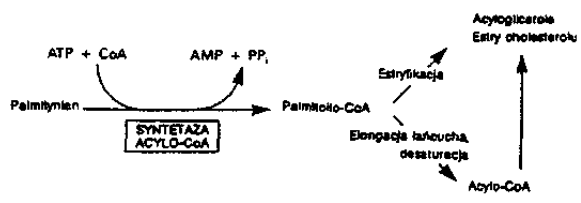
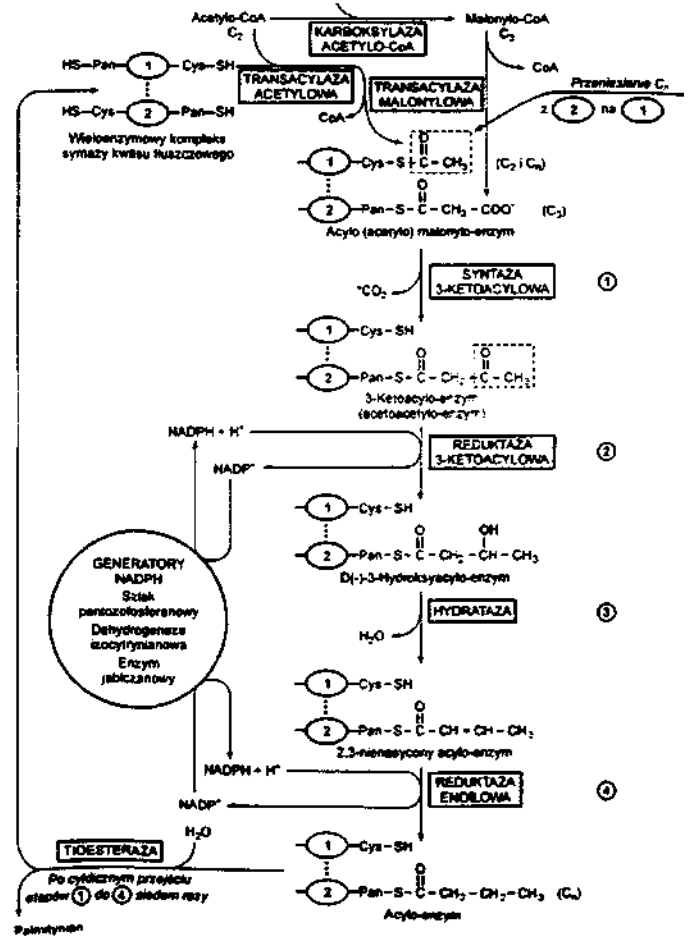
Syntaza 3-ketoacylowa - przenosi grupę acylową do grupy malonylowej z jednoczesnym odłączeniem CO₂-

Reduktaza 3-ketoacylowa - powoduje rozerwanie wiązania podwójnego między O i C grupy acylowej.

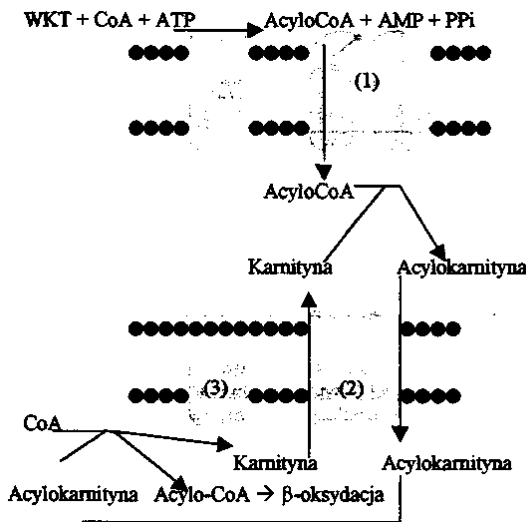
Hydrataza - katalizuje reakcję powstania wiązania podwójnego między węglami z grupy acylowej i malonylowej.

Reduktaza enoilowa - rozбивa jedno z wiązań podwójnych.

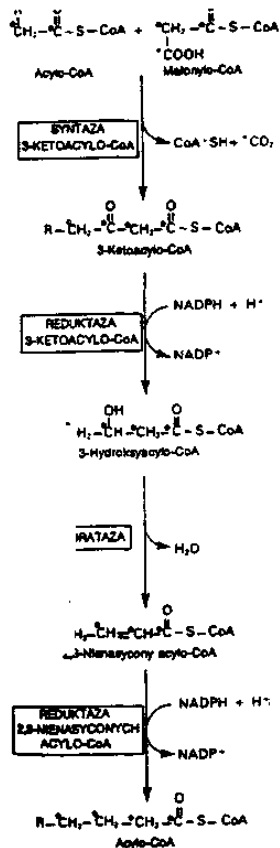
Następnie cały cykl jest powtarzany około 7 razy aż do powstania palmitynianu. Palmitynian jest dalej przekształcany przez syntetazę acylo-CoA od palmitylo-CoA, a ten z kolei może być estryfikowany do acylogliceroli lub może ulec elongacji łańcucha, lub desaturacji do acylo-CoA.



W transporcie kwasów tłuszczowych długołańcuchowych przez wewnętrzną błonę mitochondrialną dużą rolę pełni karnityna. Długołańcuchowy acylo-CoA nie może przeniknąć przez wewnętrzną błonę mitochondrialną, ale produkt jego metabolizmu - acylokarnityna, ma tę zdolność. Karnityna jest szeroko rozpowszechniona, a szczególnie obficie występuje w mięśniach. Jest syntetyzowana z lizyny i metioniny w wątrobie i w nerkach. Enzym palmitylotransferaza karnitynowa I (1), obecna w zewnętrznej błonie mitochondrialnej, katalizuje przekształcanie długołańcuchowych acylo-CoA w acylokarnitynę, która może przeniknąć wewnętrzną błonę mitochondrialną. Translokaza karnityna-acylokarnityna (2) działa jako wymienny przekaźnik karnityny w wewnętrznej błonie mitochondrialnej. Następnie palmitylotransferaza karnitynowa (3) katalizuje reakcję połączenia acylokarnityny z CoA i zostaje resyntetyzowana acylo-CoA.



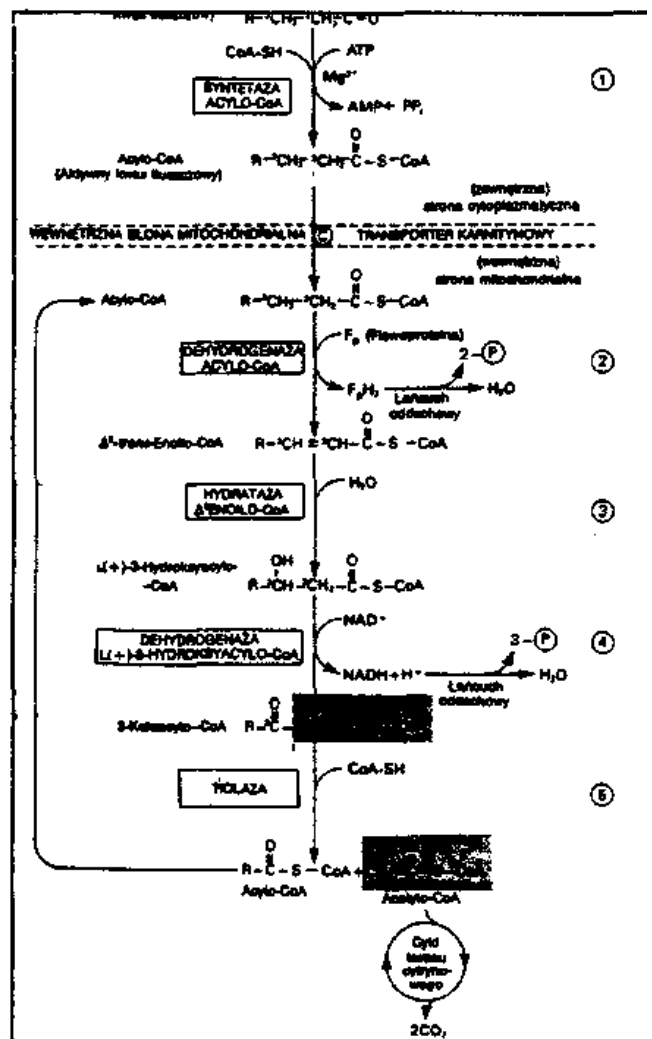
R-t
Elongacyjny układ mikrosomalny (obok) przekształca CoA-pochodne kwasów tłuszczowych w pochodne acylowe mające 2-atomy węgla więcej, przy użyciu malonylo-CoA jako dawcy acetylu oraz NADPH jako czynnika redukującego, w reakcji katalizowanej przez układ enzymów nazwany elongazą kwasu tłuszczowego. Grupy acylowe, które mogą działać jako cząsteczki inicjujące, obejmują serię nasyconych kwasów tłuszczowych od C_{10} wzwyż, jak również nienasycone kwasy tłuszczowe. Głodzenie w znacznej mierze znosi elongację łańcucha. Elongacja stearylo-CoA w mózgu ulega przyśpieszeniu w okresie mielinizacji, aby dostarczyć kwasów tłuszczowych C_{22} i C_{24} , które występują w sfingolipidach.



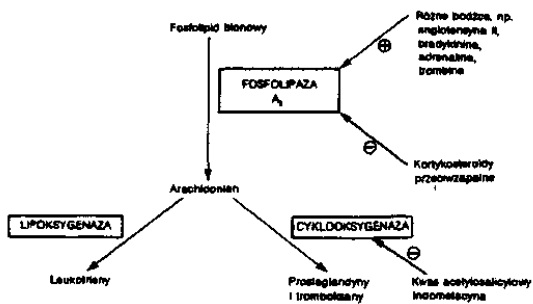
acetylo-CoA od długolancuchowego acylo-CoA, możemy wyroznic kilka etapow. Najpierw acylo-CoA jest hydroksylowany na węglu drugim, nastepnie dochodzi do dekarboksylacji i wytworzenia grupy aldehydowej. Nastepnie grupa ta jest utleniania do grupy karboksyiowej. Acetylo-Coa jest odlaczany dzięki tiolazie $R-CH_2-COOH > R-CHOH-COOH > R-CHO-COOH > R-CHO > R-COOH$ (omega-oksydacja powoduje powstanie kwasów dikarboksylowych, dzięki układowi hydroksylującemu ER, który zawiera P_{450} . Grupa $-CH_3$, zostaje przekształcona do grupy $-CH_2OH$, a następnie utleniona do $-COOR$. W wyniku tego powstają adypinian (C_6) i suberynian (C_8), które są wydalane z moczem.

Eikozanoidy powstają z C_{20} -wielonasyconych kwasów tłuszczowych. Arachidonian i niektóre C_{20} kwasy tłuszczowe z wiązaniami podwójnymi poprzedzianymi grupami metylowymi są źródłem powstawania eikozanoidów, fizjologicznie i farmakologicznie czynnych związków znanych jako prostaglandyny (PG), tromboksany (TX), leukotrieny (LT) i lipksyny (LX). uważa się, że fizjologicznie są to lokalne hormony działające poprzez receptory związane z białkiem G. Arachidonian pochodzący najczęściej z pozycji 2-fosfolipidów błony komórkowej jako wynik działania fosfolipazy A_2 jest substratem dla syntezy PG_2 , TX_2 , LT_4 i LX_4 . Szlaki metaboliczne powstawania tych związków są rozmaite (np. szlak cyklooksygenazy i lipoksygenazy). Eikozanoidy dzielą się na trzy grupy i są pochodnymi kwasów linolowego i α -linolenowego oraz bezpośrednio arachidonowego.

Inhibitorem wspomnianej fosfolipazy A_2 są kortykoidy przeciwwzapalne. Biosynteza eikozanoidów może zostać zahamowana na poziomie cyklooksygenazy przez kwas acetylosalicylowy, indometacynę lub ibu-profen. Cyklooksygenaza ma właściwości samobójcze poprzez możliwość katalizowania samozagłady. Inaktywacja raz powstałych prostaglandyn jest szybka. Przyczyną tego najprawdopodobniej jest obecność dehydrogenazy 15-hydroksyprostaglandynowej. Zablockowanie tego enzymu sulfasalazyną lub indo-metacyną może przedłużyć biologiczny



Utlenieniu na C_1 ulegają kwasy pochodzenia roślinnego. Są one najpierw hydroksylowane (dzięki obecności P_{450} . W β -oksydacji, która jest reakcją odłączania



Przylaczenie dwóch cząsteczek acylo-CoA z glicerolo-3-P powoduje powstanie 1,2 diacyloglicerolofosforami (fosfatydan). Reakcja przebiega dwoma etapami. Najpierw działa acylotransferaza glicerolo-3-P i tworzy się lizofosfatydan, później zaś działa acylotransferaza 1-acyloglicerolo-3-P i powstaje właściwy fosfatydan. Fosfohydrolaza fosfatydanowa powoduje powstanie 1,2 diacyloglicerolu. 1,2 diacyloglicerol jest przekształcany do TAG dzięki acylotransferazie diacyloglicerolowej.

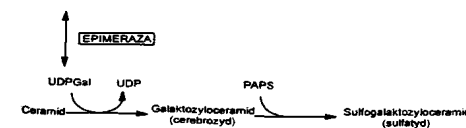
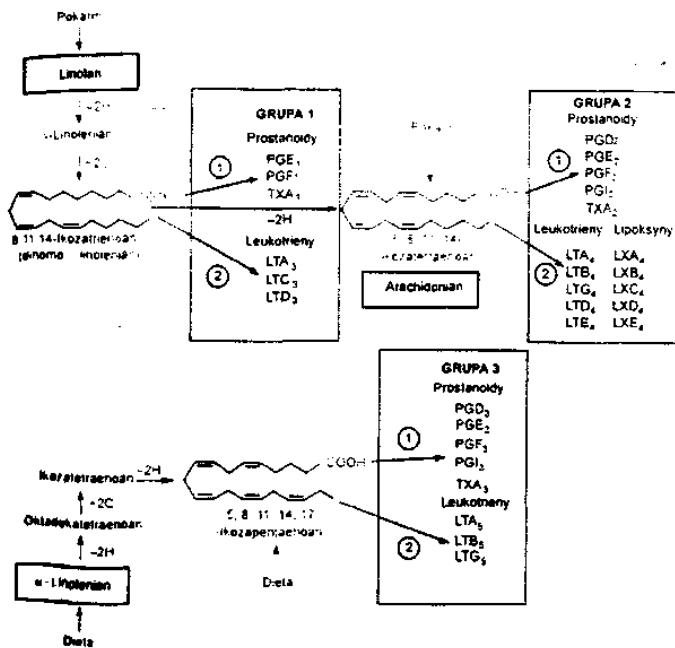
Degradacja TAG zachodzi w przewodzie pokarmowym dzięki Mazie językowej, lipazie żołądkowej i żółci. Lipaza językowa tworzona jest przez gruczoły Ebnera, działa na TAG z łańcuchami krótko-węglowymi, jest swoista dla wiązania estrowego w pozycji sn-3. Substratem dla niej są głównie tłuszcze zawarte w mleku. Linaza żołądkowa jest składnikiem soku żołądkowego, hydrolizuje TAG złożone z krótko- i długo-łańcuchowych kwasów tłuszczowych, jest swoista dla wiązania sn-1 i sn-3.

Żółć produkowana jest przez wątrobę i magazynowana jest w pęcherzyku żółciowym. Skład żółci:

1. woda 97%
2. składniki stałe-2,55%
3. kwasy żółciowe - 1,93%
4. barwniki żółciowe 0,55%
5. cholesterol - 0,06%
6. kwasy tłuszczowe 0,14%

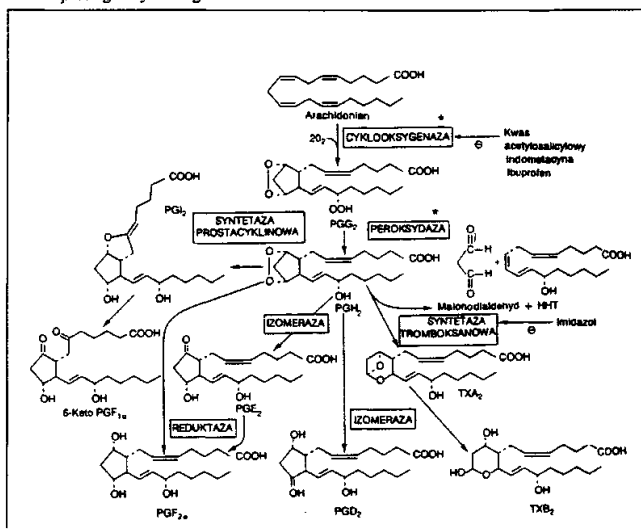
Żółć tworzy zawiesinę, dzięki czemu łatwiej są wchłaniane witaminy rozpuszczalne w tłuszczach, zobojętnia treść żołądkową i neutralizuje kwaśną miazgę. Wydala cholesterol oraz bierze udział w przemianie barwników żółciowych

Lipaza trzustkowa działa w pH = 8,0 i jest aktywowana przez sole kwasów żółciowych, fosfolipidy i kolipazę. Działa na granicy fezy wodnej i tłuszczowej. Rozkłada 1-rzędowe wiązanie estrowe TAG.



Choroba	enzym	Gromadzący się lipid	Objawy kliniczne
Fukozydoza	α -fukozydoza	Cer-Glc-Gal-GalNac-Gal- \dagger -Fuc-izoantigen H	Zwyrodnienie mózgu, przykurcze mięśniowe, gruba skóra
Uogólniona gliozydoza	gan- C_{6M} - β -galaktozydaza	Cer-Glc-Gal(NeuAc)-GalNac- \dagger -Gal G_{M2} -Gangliozyd	Niedorozwój umysłowy, powiększona wątroba, zniekształcenie kości
Taya-Sachsa	Heksozoamidaza A	Cer-Glc-Gal(NeuAc)- \dagger -GalNac G_{M2} -Gangliozyd	Niedorozwój umysłowy, śleota, osłabienie mięśni
Sandhoffa	Heksozoamidaza A i B	Cer-Glc-Gal- \dagger -GalNac Globozyt plus G_{M2} gangliozyd	j.w. + postępuje bardzo szybko
Fabry'ego	α -galaktozydaza	Cer-Glc-Gal- \dagger -Gal Globotriaizyloceramid	Wykwity skórne, niedoczynność nerek, gen recesywny związany z X
Lipidoza laktozydoceramidowa	Laktozydaza ceramidowa	Cer-Glc- \dagger -Gal Laktozydoceramid	Uszkodzenie mózgu, hepatomegalia, splenomegalia
Leukodystrofia metachromatyczna	Arulosulfataza A	Cer-Gal- \dagger -OSO ₂ 3-Sulfogalaktosylceramid	Niedorozwój umysłowy, zaburzenia psychiczne, demielinizacja
Krabbe'go	β -galaktozydaza	Cer- \dagger -Gal Galaktosylceramid	Niedorozwój umysłowy, prawie zupełny brak mieliny
Gauchera	β -glukozydaza	Cer- \dagger -Glc Glukozyloceramid	Hepato i splenomegalia, ubytki osteolityczne kości długich
Niemanna-Picka	Sfingomielinaza	Cer- \dagger -P-cholina Sfingomielina	j.w. + zgon we wczesnym dzieciństwie
Farbera	Ceramidaza	Acylo- \dagger -Sfingozyna Ceramid	Chryпка, zapalenie skóry, zniekształcenie kości, niedorozwój umysłowy, zgon we wczesnym okresie życia

okres półtrwania prostaglandyn w organizmie.



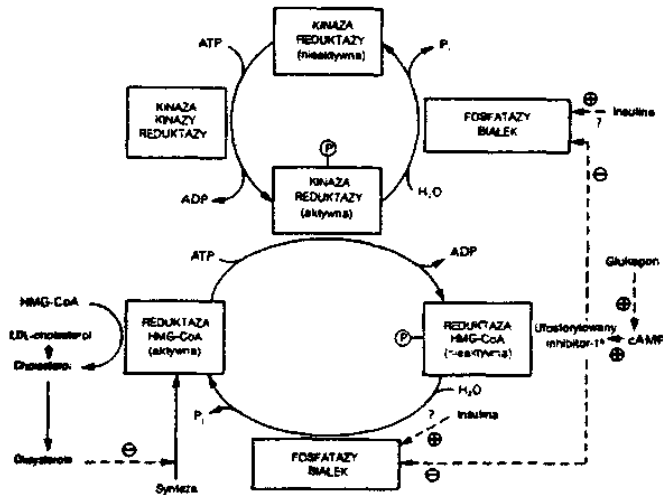
BIOSYNTETA TRIACYLOGLICEROLU I FOSFOLIPIDÓW.

Zanim kwasy tłuszczowe i glicerol zostaną wbudowane do acylogliceroli musi nastąpić ich aktywacja przez ATP

- kinaza glicerolowa - katalizuje aktywację glicerolu do sn-glicerolo-3-fosforanu. Jeśli brak tego enzymu to większość glicerolo-3-P pochodzi z pośredniej glikolizy dihydroksyacetonofosforanu.

Wykład z Biochemii, wykład XIII 3 marca 2004r. Biosynteza cholesterolu.

Nieco więcej niż połowa cholesterolu w organizmie człowieka powstaje z syntezy (700mg/dobę), pozostała część to ilość dostarczona w przeciętnej diecie. Za biosyntezę cholesterolu odpowiedzialna jest zarówno frakcja mikrosomalna siateczki śródplazmatycznej jak i frakcja cytozolowa komórki. Źródłem wszystkich atomów węgla w cholesterolu jest acetylo-CoA. Najpierw zachodzi synteza mewaionianu, sześć-węglowego związku powstającego z acetyloCoA. Produktem pośrednim jest HMG-CoA czyli 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-CoA. Następnie zachodzi dwuetapowa reakcja redukcji z udziałem NADPH -t-H⁺. Reakcja ta jest katalizowana przez reduktazę HMG-CoA i jest uznawana za etap ograniczający syntezę cholesterolu. Leki obniżające cholesterol działają właśnie w tym miejscu.



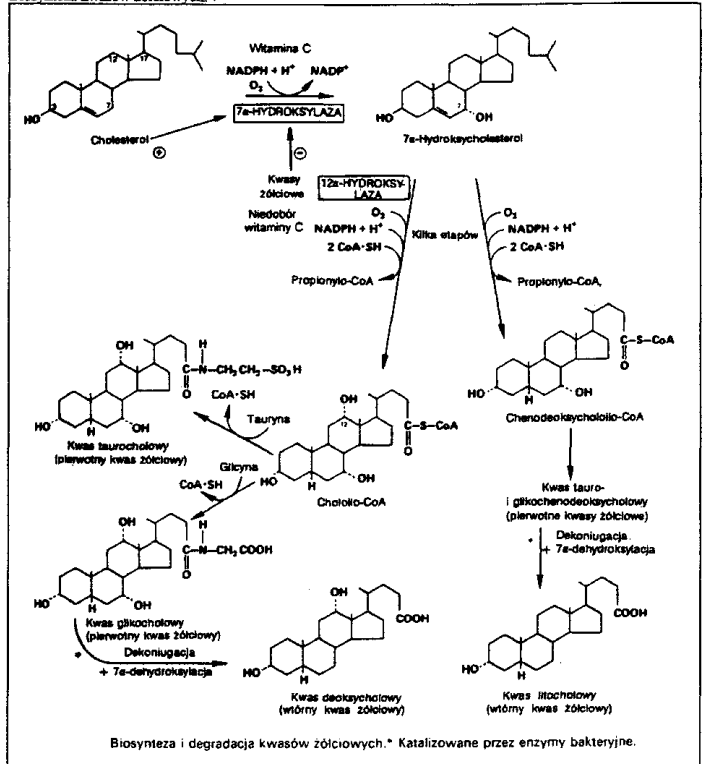
Możliwe mechanizmy regulacji syntezy cholesterolu przez reduktazę HMG-CoA. Insulina odgrywa dominującą rolę w porównaniu z glukagonem

Kolejnym etapem jest powstawanie z mewaionianu aktywnych jednostek izoprenowych. Końcowym efektem tego etapu jest izopentenylopirofosforan. Następnie sześć jednostek izoprenowych tworzy skwalen. W tym etapie dochodzi do kondensacji 3 cząsteczek izopentenylopirofosforanu z powstaniem pirofosforanu farnezylu. Odbywa się to wskutek izomeryzacji izopentenylopirofosforanu, w trakcie której dochodzi do przesunięcia wiązania podwójnego i wytworzenia pirofosforanu dimetyloallilu. Kolejna kondensacja powoduje powstanie pirofosforanu geranylu.. dalsza kondensacja z izopentenylopirofosforanem prowadzi do w/w pirofosforanu Amezylu. Dwie takie cząsteczki kondensują się przy końcu pirofosforanowym i powstaje pirofosforan preskwalenu, poczyn następuje redukcja z udziałem NADPH i oderwanie pozostałej reszty pirofosforanowej. Produktem tej kaskady reakcji jest skwalen. Może istnieć alternatywny szlak zwany „spiciem trans-metyloglutakonylanowym”. W tym szlaku jest eliminowany pirofosforan dimetyloallilu (od 5 do 33%), który wraca do HMG-CoA przez trans-3-metyloglutakonylo-CoA. Ten szlak może mieć wpływ regulacyjny na sumaryczną szybkość syntezy cholesterolu.

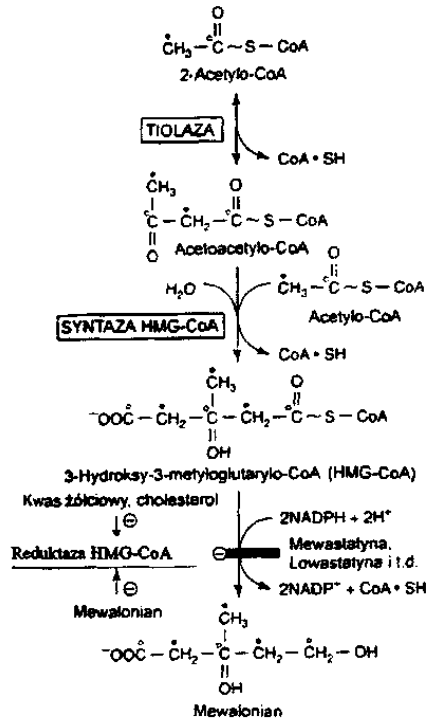
Skwalen jest przekształcany w lanosterol. Powstaje on poprzez tlenek skwalenu (reakcja skwalen > tlenek katalizowana jest przez epoksydazę skwalenową). Tlenek skwalenu pod wpływem lanosterolocyklazy oksydoskwalenowej przechodzi w lanosterol. Grupa metylowa przy C₁₄ zostaje przeniesiona do C₁₃, a grupa metylowa z C₈ na C₁₄.

Przejście lanosterolu w cholesterol zachodzi w błonach siateczki śródplazmatycznej i obejmuje zmiany w pierścieniu steroidowym oraz w łańcuchu bocznym. Grupa metylowa przy C₁₄ zostaje utleniona do CO₂ i powstaje 14-demetylanosterol. Dwie grupy metylowe przy C₄ zostają usunięte -> zymosterol. Z zymosterolu tworzy się delta^{7,24}-cholestadienol, przez przesunięcie wiązania podwójnego między C₈ i C₉ do pozycji C₈ i C₇. Na tym etapie zostaje wytworzony desmosterol, przez dalsze przesunięcie podwójnego wiązania w pierścieniu B,

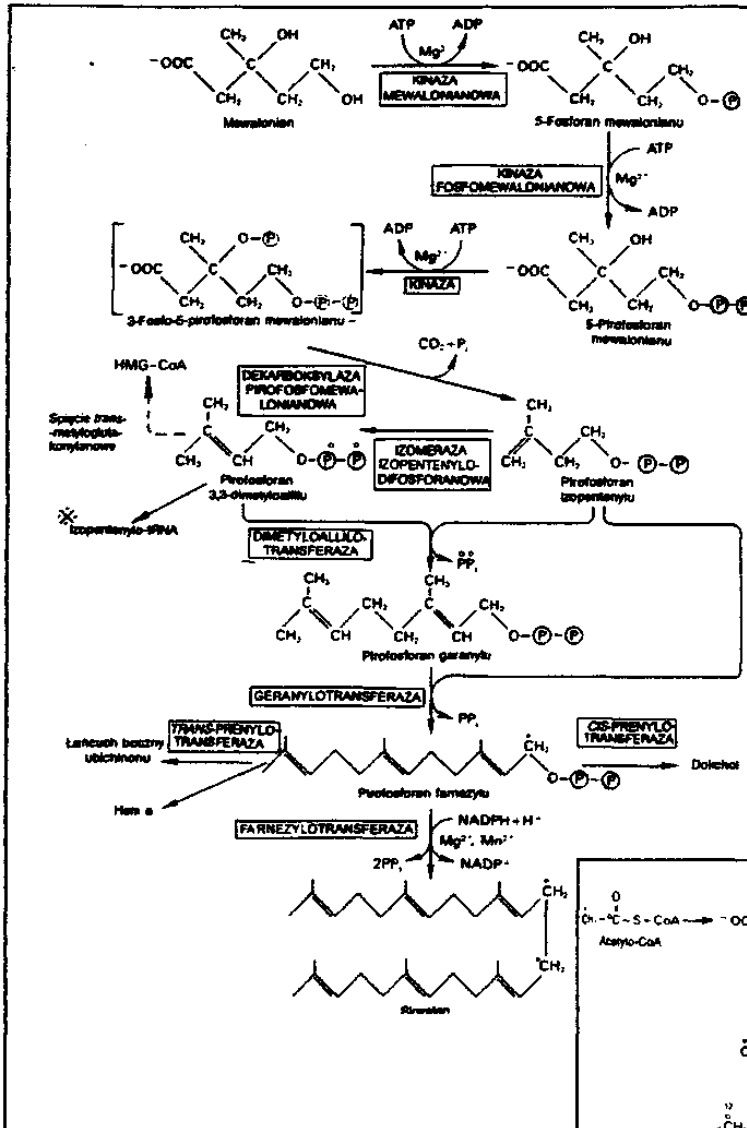
Biosynteza kwasów żółciowych :



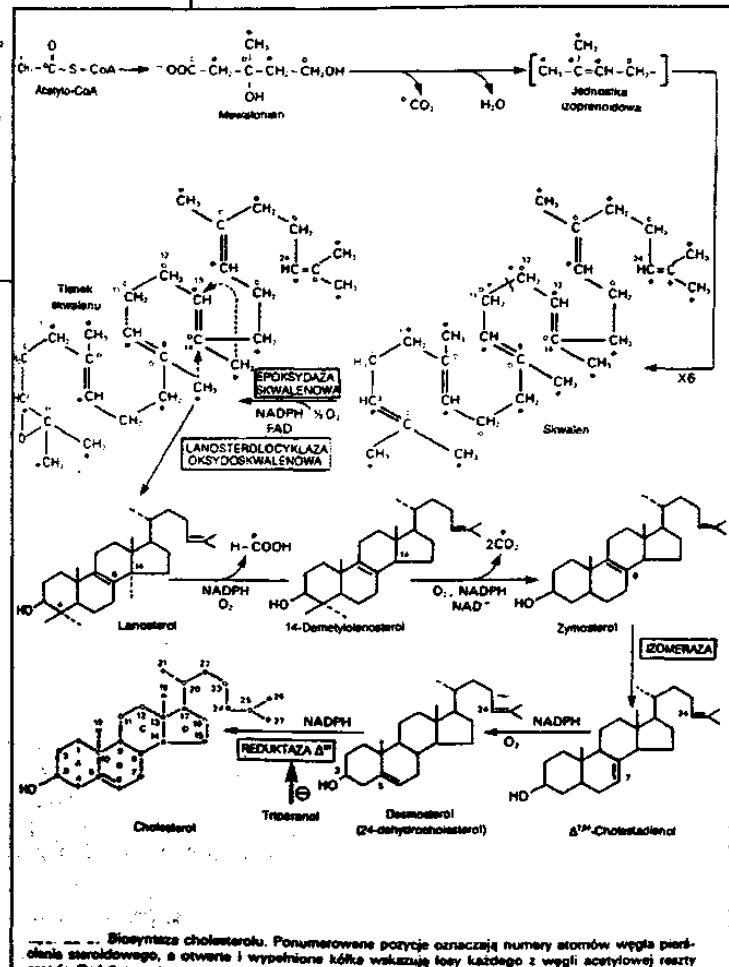
Biosynteza i degradacja kwasów żółciowych.* Katalizowane przez enzymy bakteryjne.



Biosynteza mewaionianu HMG — 3-hydroksy-3-metyloglutaryl. Synteza reduktazy HMG-CoA jest hamowana przez metabolity grzybów: mewastatynę (Compactin), lowastatynę (Mevinolin), prowastatynę oraz simwastatynę.



tak, że zajmuje ono pozycję między C₅ i C₆, tak jak w cholesterolu. W końcu, po redukcji podwójnego wiązania w łańcuchu bocznym, powstaje cholesterol. Reakcja ta może zachodzić na każdym etapie biosyntezy cholesterolu. Związki pośrednie w/w reakcji są związane z białkiem nośnikowym, znanym jako białko przenoszące skwalen i sterole. To białko wiąże skwalen i sterole oraz inne nierozpuszczalne lipidy, umożliwiając im wchodzenie w reakcje w wodnej fazie komórki. Ponadto jest prawdopodobne, że cholesterol właśnie w formie związanej ze specjalnym białkiem nośnikowym, jest przekształcany w hormony steroidowe i w kwasy żółciowe, a także uczestniczy w tworzeniu błon i lipoprotein.

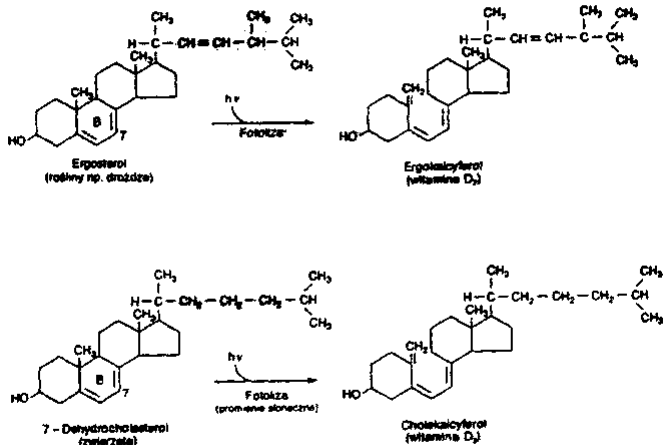


... Biosynteza cholesterolu. Poniumerowane pozycje oznaczają numery atomów węgla pierścienia steroidowego, a otwarte i wypełnione kółka wskazują locy każdego z węgli acetylowej reszty

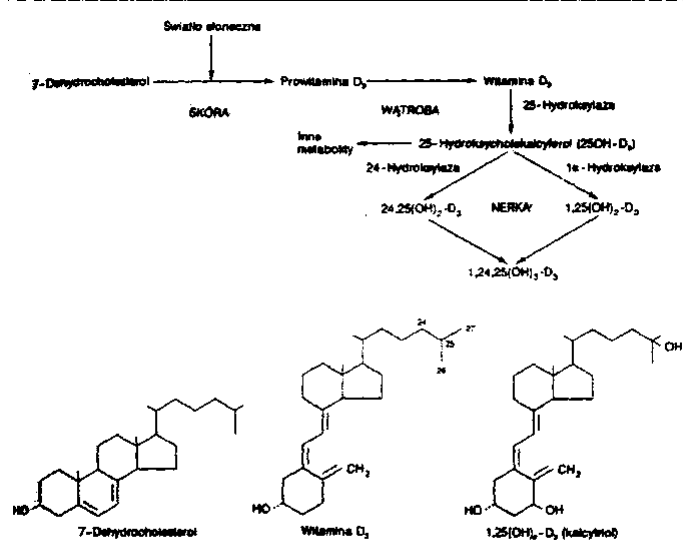
Wykład z Biochemii, wykład XIV, 17 marca 2004r.

SYNTEZA PROWITAMINY I WITAMINY D₃, oraz jej hydroksylowanych pochodnych.

D₃ syntetyzuje się w skórze z 7-dehydrocholesterolu.



Ergosterol i 7-dehydrocholesterol oraz konwersja tych związków przez fotolizę do ergokalcyferolu lub cholekalcyferolu.



Powstawanie i hydroksylacja witaminy D. Proces 25-hydroksylacji odbywa się w wątrobie, a dalsze hydroksylacje w nerkach. W nerkach powstaje zarówno 24,25(OH)₂-D₃ jak i 1,25(OH)₂-D₃. Na rysunku pokazano również strukturę 7-dehydrocholesterolu, witaminy D₃ i 1,25(OH)₂-D₃ (kalcytroliu). Rysunek zmodyfikowany, reprodukcja zgodna z: Ganong W.F.: *Review of Medical Physiology*, wyd. 12, Appleton and Lange, 1995).

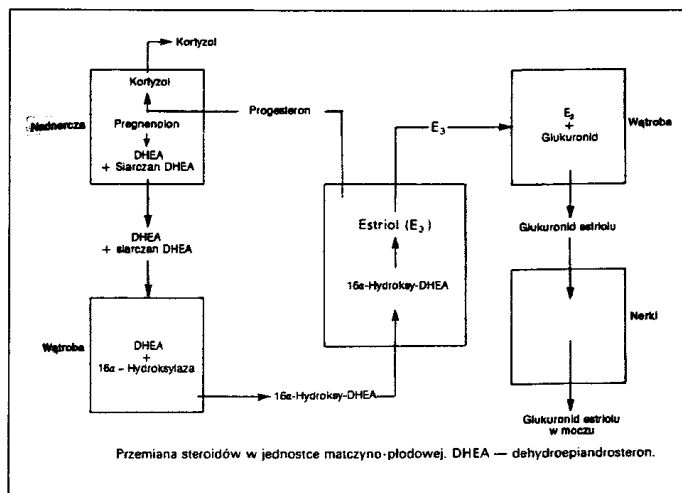
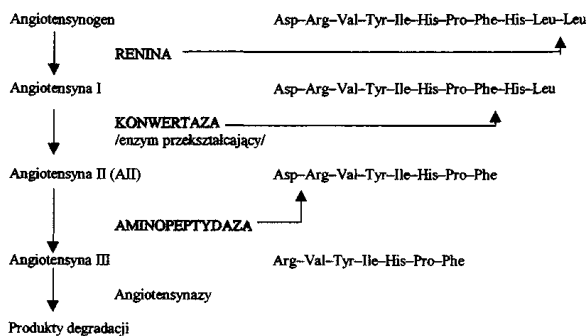
D₃ - jest związkiem biologicznie nieaktywnym, stanowi ważny prekursor dla hormonów regulujących gospodarkę wapniowo-fosforanową, jest słabo rozpuszczalny. Jest transportowany do wątroby gdzie ulega przemianom do 25-hydroksycholekalcyferolu (25-hydroksy witaminy D₃; 25OH-D₃). Reakcję katalizuje 25-hydroksylaza przy udziale NADPH + H⁺ i O₂. 25-hydroksycholekalcyferol jest słabo reaktywny, słabo rozpuszczalny. Z wątroby jest transportowany do nerek gdzie w mitochondriach komórek proksymalnego kanalikę krętego ulega hydroksylacji do 1,25-dihydroksycholekalcyferolu czyli tzw. kalcytroliu. Ta reakcja jest przynajmniej trzy składnikowa, wymaga obecności NADPH, Mg²⁺, tlenu cząsteczkowego i trzech enzymów: nerkowej reduktazy ferredoksynowej (flawoproteina); nerkowej ferredoksyny (białko żelazosiarczkowe) oraz cytochromu P-450. Kalcytroli reguluje gospodarkę wapniowo-fosforanową i jest najbardziej aktywnym naturalnym metabolitem witaminy D₃. Synteza kalcytroliu jest regulowana na etapie hydroksylacji w pozycji 25.

Paramormon pobudza syntezę kalcytroliu (wpływa na ekspresję genów), a ten hamuje z kolei syntezę parathormonu (wykład V, strona !). • Zahamowanie 1α-hydroksylazy powoduje niedobór witaminy D₃, która jednocześnie wzmacnia działanie 24-hydroksylazy, która produkuje 24,25(OH)₂-D₃. Kalcytroli hamuje również 25-hydroksylazę. 1α-hydroksylaza występuje również w łożysku. Niedobór witaminy D powoduje krzywicę. Niedobór 1-hydroksylazy wywołuje krzywicę typu I. Podobne działanie jak parathormon mają hipokalcemia i hipofosfatemia. Drugorzędowymi czynnikami są estrogeny, androgeny, progesteron, prolaktyna. Kalcytroli jest transportowany do komórek docelowych z białkiem, przenika przez błonę, wnika do jądra, gdzie jest swoisty receptor jądrowy działający pobudzająco na ekspresję genów kodujących białka wiążące wapń, ATP-azę wapniową, oraz białka tworzące pęcherzyki wydzielnicze. Dochodzi do wzmoczonego pobierania wapnia ze światła jelita i transportu do krwi. Brak swoistego receptora dla kalcytroli wywołuje krzywicę n typu, która jest oporna na podawanie witaminy D. Kompleks kalcytroli-receptor wiąże się z elementami reakcji hormonalnej (HRE) wykazującą następującą sekwencję: AGGTCAAnnAGGTCA.

SYNTEZA HORMONÓW STEROIDOWYCH

Biosynteza hormonów steroidowych zachodzi w korze nadnerczy, w gonadach (ciałko żółte, komórki Sertoliego i Leydiga), w skórze, tkance tłuszczowej, mózgu. Głównym substratem dla syntezy jest cholesterol pochodzący z lipoprotein o małej gęstości i syntezy z acetylo-CoA. W komórkach cholesterol magazynowany jest w kroplach lipidowych w postaci estrów cholesterolu. W razie stymulacji nadnerczy przez ACTH lub cAMP dochodzi do aktywacji esterazy, a powstały wolny cholesterol (który w cytozolu transportowany jest przez białko SCP 2), ulega przemieszczeniu do mitochondriów (dzięki białku SEAR), gdzie enzym rozszczepiający łańcuch boczny zawierający cytochrom P-450 (P-450_{sc}) przekształca cholesterol w pregnenolon. Ten przechodzi do siateczki i przechodzi w progesteron.

Głównym regulatorem aldosteronu jest angiotensyna II poprzez IP₃ i kinazę C.



Wykład z Biochemii - XVII z marca 2004r.

TRANSPORT I DZIAŁANIE HORMONÓW STEROIDOWYCH W KOMÓRKACH DOCELOWYCH.

Hormony steroidowe (nierozpuszczalne) transportowane są przy udziale białek wiążących, które charakteryzują się dużą stałą powinowactwa, ale małą pojemnością wiązania ($k_a=10^7 - 10^9/m$).

Glukokortykoidy wiążą się silnie z glikoproteiną CBG - transkortyna, wiąże około 80% glukokortykoidów (kortyzolu, kortyzonu, kortykosteronu, 11 dehydrokortykosteronu). Około 11% wiąże się z albuminą, a 75b występuje w postaci wolnej. Transkortyna utrzymuje wolne glukokortykoidy ponieważ także związane z CBG są aktywne. CBG jest glikoproteiną, której synteza odbywa się w wątrobie, a induktorem są estrogeny, które zmniejszają pulę wolnego enzymu, poprzez jego wykorzystanie.

Gastogeny i inne steroidy mogą wypierać kortyzol z połączenia z CBG.

Mineralokortykoidy również związane są przez CBG ale tylko w 10%, 60% wiąże się z albuminą osocza krwi, a 30% to aldosteron wolny.

Androgeny i estrogeny transportowane są przez białko wiążące steroidy płciowe SHBG, jest to glikoproteiną syntetyzowana w wątrobie, 40000D.

Globulina SHBG wiąże 70% testosteronu i jej stężenie jest o 50% niższe u mężczyzny niż u kobiet. Synteza SHBG regulowana jest hormonalnie, regulatorami są estradiol, który hamuje produkcję SHBG w wątrobie i testosteron (?), który pobudza.

W okolicy komórek docelowych hormony oddysocjują od białka wiążącego, dzięki białkom błonowym. Następnie hormon przekracza błonę i wiąże się z receptorem w jądrze bądź w cytozolu. Receptory bez udziału koenzymów są związane z białkami szoku termicznego. Po związaniu z hormonem dochodzi do uwolnienia receptora. Związanie wywołuje transkrypcję bądź zahamowanie genów docelowych. Produkt transkrypcji przechodzi przez poszczególne stadia modyfikacji potranskrypcyjnej i dalej przechodzą na teren cytozolu i wiążą się z rybosomami - translakacja. Zsyntetyzowane białka działają dalej na terenie komórki lub są transportowane na zewnątrz.

Receptory steroidowe dla wszystkich hormonów są podobne. Zbudowane z domen od A do F. Dwie pierwsze (A i B) na końcach N wykazują właściwości antygenów. Następne dwie domeny (C i D) związane są z DNA, mają sygnał lokalizacji jądrowej i odpowiedzialne są za dimeryzację i posiadają motyw palców cynkowych.

Odszukują odpowiednią sekwencję DNA i układają się w rowku większym helisy DNA. Domena E wiąże ligand i charakteryzuje się dużą zmiennością. Wraz z domeną F i sekwencją AF2 odpowiadają za aktywację transkrypcji. Wiązanie białek hsp (opiekuńczych) ma miejsce w domenie E. Białka hsp występują w postaci dimerów, o różnym ciężarze. Charakteryzują się dużym zróżnicowaniem. Najlepiej poznane białko i receptor dotyczy progesteronu. Receptory hormonów steroidowych zaliczamy do rodziny hormonów steroidowych, kalcytriolu, kwasu metinowego i hormonów tarczycy. Wszystkie receptory wykazują homologię do specyficznego onkogenu (?).

Receptory wykazują homologię w regionie domeny C (90% dla progesteronu, 52% dla estrogenów). Najmniejsza homologia występuje dla estradiolu w domenie A i B poniżej 15%.

Geny kodujące receptory znajdują się na następujących chromosomach:

Dla glukokortykoidów - chromosom 5

Dla mineralokortykoidów - chromosom 14

Dla progesteronu — chromosom 11

Dla androgenów - chromosom X (defekt przenoszony przez matkę).

Receptory rozpoznają określone sekwencje, charakterystyczne dla danych hormonów.

Glukokortykoidy	GRE	GGTACAnnnTGTTCT
Mineralokortykoidy	MRE	GGTACAnnnTGTTCT
Progesteron	PRE	GGTACAnnnTGTTCT
Androgeny	ARE	GGTACAnnnTGTTCT
Estrogeny	ERE	AGGTCAAnnnTGACCT
1,25 dihydroksy wit. D ₃	VDRE	TCAGGTCA...TGACCT
Kwas	RARE	TCAGGTCA...TGACCT
Hormony tarczycy	TRE	TCAGGTCA...TGACCT
	nGRE	ATYACn...TGAT...

Produkt białkowy wywiera określony efekt fizjologiczny.

Glukokortykoidy - kortyzol, kortykosteron i pochodny. Pobudzają glukoneogenezę > indukują ekspresję genów kluczowych dla glukoneogenezę. (karboksylazy pirogronianowej, karboksylazy fosfoenolopirogronianowej). Także ekspresja genów przemiany aminokwasów wpływa na transport i transaminację. W stężeniu fizjologicznym działają anabolicznie. W wyższym katabolicznie. W mięśniach, tkance tłuszczowej, limfatycznej i w skórze pobudzają katabolizm białek. Pobudzają syntezę glikogenu, hamują lipogenezę i pobudzają lipolizę. W tkance tłuszczowej indukują ekspresję genu hormonozależnej lipazy będącej triacyloglicerolizy w pozycji 1 i 2. Mają również działanie przeciwzapalne, hamują syntezę prostaglandyn, działają immunosupresyjnie, pobudzają wydzielanie kwasu żołądkowego, uwalniają jony Ca²⁺ z kości. Pobudzają wydzielanie wapnia z organizmu.

Działają na poziomie podwzgórza i przysadki mózgowej. Niedobór wywołuje zwiększoną produkcję kortykoliberyny (-> propriomelanokortyny, która jest cięta przez 9 proteazę).

Mineralokortykoidy (deoksykortykosteron i aldosteron) mają wpływ na ciśnienie krwi i ciśnienie osmotyczne, regulowane są przez angiotensynę II, zwiększają resorpcję wody i Na⁺ w kanalikach nerkowych, zmniejszają ilość wody wydalanej z potem, śliną i sokiem żołądkowym. W strefie siatkowatej androgeny odpowiadają za różnicowanie płci w życiu płodowym. Testosteron i dihydrotestosteron pobudzają rozwój jąder, najądrza i nasieniowodów, a także wzrost zewnętrznych narządów płciowych.

Receptory DHAT znajdujące się w skórze pobudzają wzrost komórek struktury włosa i odpowiadają za owłosienie typu męskiego. Testosteron pobudza spermatogenezę w kanalikach jądrowych ABG. Białka wiążące gromadzą androgeny w pobliżu nabłonka plemnikotwórczego i stanowią czynniki warunkujące prawidłową spermatogenezę. Androgeny warunkują II rzędowe cechy płciowe, mają działanie anaboliczne -> zwiększają ilość mitochondriów, pobudzają utlenianie w mitochondriach, zwiększają aktywność enzymów glikolitycznych, hamują wydzielanie gonadoliberyny.

Mutacje genów kodujących białka receptorowe dla androgenów powodują zespół nadwrażliwości na androgeny, odwrócenie płci przy genotypie męskim (cechy żeńskie)(AIS) cAIS - kopletnie odrócenie płci, zewnętrzne cechy męskie, brak narządów wewnętrznych, estrogeny w jądrach pAIS -jest to częściowe odwrócenie. Niedoczynność kory nadnerczy może wywołać nieprawidłowości syntezy kortykotropiny, zmiany w nadnerczach oraz chorobę Addisona -> brak frakcji kory nadnercza -> brązowy odcień skóry.

Niedoczynność w syntezie hormonu pobudzającego melanocyty może być wywołana przez przeciwciała przeciwko reduktazie.

Nadczynność — choroba Cushinga, związana jest z nadczynnością przysadki, wywołuje objawy nadczynności hormonu -> nadmierna glukoneogeneza, lipoliza, lipogeneza w niektórych obszarach.

Choroby genetyczne wywołane niedoborem enzymatycznym:

21-hydroksylazy steroidowej -> wrodzony przerost nadnerczy CAH

11-p-hydroksylazy - objawy podobne j.w. P-450₁₁ -niedobór cytochromu

Niedobór P-450c22 20 - wrodzona niedomoga nadnerczy, odkładanie lipidów w korze nadnerczy, poronienie 17-alpha-hydroksylazy - nie ma muskulatury

Niedobór 17-beta-hydroksylazy - podobnie jak w AIS

KATABOLIZM

Katabolizm hormonów steroidowych zachodzi głównie w wątrobie, poprzez redukcję pierścienia zależną od NADP. W wyniku tego powstają dihydro i tetrahydro pochodne. Te nieaktywne związki są następnie sprzęgane z kwasem glukuronowym i dalej są wydalane z moczem. Androgeny są redukowane w pozycji 5alpha i 3beta wyniku czego powstaje androstendion oraz tetrahydroandrostendion. Estrogeny podlegają hydroksylacji w pozycji 16 i przemieniają się w 16-hydroksyestradiol. Gestageny - podlegają redukcji w pozycji 3 i 5, następnie zostaje wyeliminowane wiązaniepodójne z pierścienia A i powstają pregnandiol i pregnantriol.

Syntetyczne pochodne mają zwiększone powinowactwo do receptorów bądź silniej wiążą się w kompleksy z chromatyną, mogą mieć dłuższy okres półtrwania. Wprowadzenie chlorowca (np. fluoru) w pozycji 9 powoduje silne pobudzenie retencji Na i wody. Wprowadzenie grupy metylowej w pozycji 2 potęguje właściwości takie retencyjne. Dodanie wiązania podwójnego w pierścieniu A spowoduje osłabienie właściwości retencyjnych, ale zato wzmocnienie właściwości przeciwwapalnych.

Syntetyczne pochodne najczęściej stosowane:

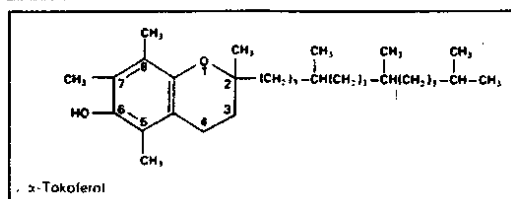
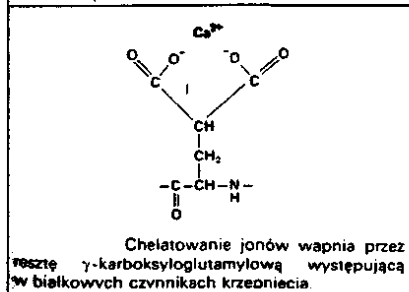
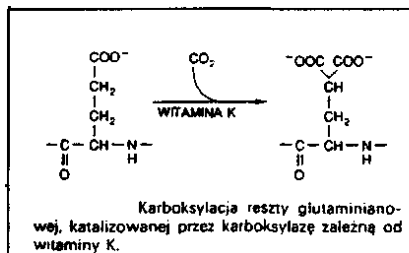
Metanabol - dodatkowe wiązanie podwójne w pierścieniu A, grupa metylowa w pozycji 17 a lub P; grupa OH w pozycji 17beta.

Pochodną estrogenu jest 17alpha-etynyloestradiol, który ma trzy wiązania podwójne w pierścieniu A, grupę -OH w pozycji 3b oraz grupę etynylową -C≡CH₃. Ma on w tym samym stężeniu co estrogeny działanie 30-50 razy silniejsze. Dietylostylbestrol jest związkiem w którym są rozerwane dwa wewnętrzne pierścienie. Był pierwszym pochodnym estrogenów wykorzystywanym w terapii.

Cytrynian klomifenu (Clomid) ma bardzo silne powinowactwo do receptorów estrogenów i był wykorzystywany jako środek antykoncepcyjny. Obecnie jego działanie polega na zwiększeniu płodności.

Nafoksydyna jest związkiem niesteroidowym, również łączy się z receptorami estrogenów i tworzy z chromatyną bardzo trwałe kompleksy. Uniemożliwia to recyrkulację receptorów, przez co dochodzi do blokowania działania estradiolu na długi czas. Wymienieni antagoniści estrogenów biorą udział w terapiach antynowotworowych, -głównie w raku piersi.

Progestyny są to związki o aktywności progestynowej i zminimalizowanych właściwościach estrogenowych i androgenowych. Do tych związków należą noretindron (związek antykoncepcyjny) i octan medroksyprogesteronu (Provera) (hamowanie występowania jajczkowania przez kilka miesięcy, w terapii anty- nowotworowej, głównie w raku endometrium).

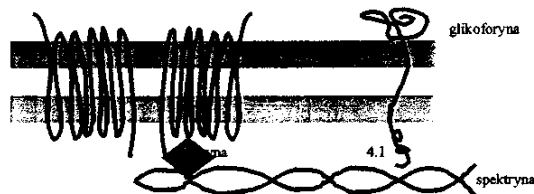


Białka:

- powierzchniowe
- integralne

Białko 3 pasma (prążka)

- kilkakrotnie przebija warstwę lipidową (10x)
- dimer
- tworzy kanał dla Cl^-
- jest miejscem wiązania dla innych białek (Hb, enzymów glikolitycznych, ankiryne).
- Ankiryna towarzyszy w połączeniu ze spektryną (główne białko szkieletu erythrocyta, dwa typy (I i II), dwie podjednostki alpha i beta o długości 100 nm i 106 aminokwasach, tworzy tetramer, który łączy się z glikoforyną, aktyną i białkiem 4.1). Współdziałanie białek integralnych i powierzchniowych ma za zadanie utrzymać kształt erythrocyta.
- Sferocytoza - sferocyty, kuliste erythrocyty, brak spektryny, niszczenie krwinek w śledzionie.
- Eliptocytoza - brak spektryny, 4.1 lub glikoforyny - kształt dysku.



Glikoforyny - A, B, C, przechodzą tylko raz przez błonę lipidową. Glikoforyną A ma 131 reszt aminokwasowych, około 16 łańcuchów oligosacharydowych (90% to kwasy sialowe), wiążą wirusy i zarodźca sierpowatego. Są to białka polimorficzne i decydują o układzie grupowym MNSs. MN - rozpoznaje przeciwciała skierowane przeciwko glikoforynie A.

MM	MN	NN
M	MN	N
1. Ser		1. Leu
5. Gly		5. Glu

Układ Ss jest podklasą układu MN, dotyczy polimorfizmu glikoforyny B. Układ ABO i Rh charakteryzują glikosfingolipidy.

Białka błonowe umożliwiają wzajemny kontakt Neutrofile mogą przylegać do śródbłonna dzięki integrynie -białku adhezyjnemu, mającemu dwie podjednostki a i p. Mogą wiązać różne ligandy, o różnych sekwencjach (Arg, Gly, Asp). Niedobór podjednostki beta2, powoduje uszkodzenie adhezji leukocytów i ich niemożność przedostania się do tkanek (zakażenia bakteryjne i grzybicze).

- Przeniesienie materiału i informacji.
- ruch małych cząsteczek - dyfuzja - transport aktywny
 - ruch dużych cząsteczek - endocytoza - egzocytoza
 - sygnały

receptory wewnętrzne receptory zewnętrzne

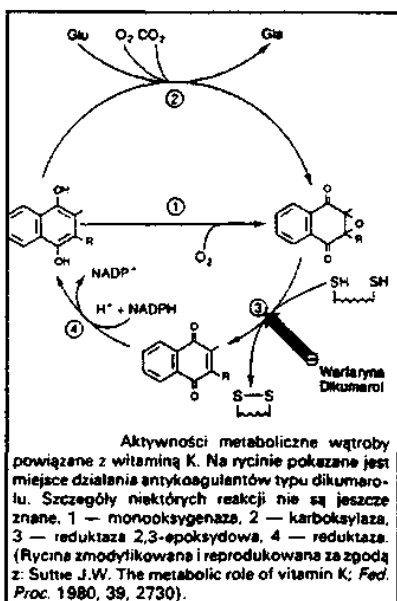
- internalizacja sygnału
- transdukcja sygnału

dyfuzja bierna - zgodnie z elektrochemicznym gradientem, cząsteczki są rozpuszczalne w wodzie, zależy od stężenia wewnątrz i na zewnątrz oraz od gradientu w membranie, a także od temperatury, rozpuszczalności w hydrofobowym wnętrzu błony (współczynnik przenikalności -> liczba wiązań wodorowych). Canary przez błonowe są wybiórcze dla kationów. Na^+ jest silnie uwodniony i bardzo wolno przenika przez błonę bo ma dużą gęstość ładunku, większą od K^+ .

Bardzo ważną rolę w tworzeniu potencjału mają jony wapnia. Spadek ich stężenia w poprzek błony powoduje wzrost przepuszczalności dla Na^+ . W błonach znajdują się również kanały bramkowane, otwierane na krótko pod wpływem ligandu lub zmiany napięcia.

W złączy nerwowo-mięśniowym występuje receptor cholinergiczny, który jest glikoproteiną zbudowaną z 5 podjednostek (2xAlpha i po jednej beta, gamma i delta). Podjednostki alpha wiąże ACTH, gdy przyłączą się dwie cząsteczki otwierają się kanały dla Na^+ i Cl^- . Otwarcie kanału na Ims pozwala na napływ wystarczającej ilości sodu aby wywołać impuls nerwowy i otwarcie kanałów Ca. Uszkodzenie receptorów przez autoimmunoglobuliny powoduje liżę ogniskową i endocytozę receptora -> miastenia -> słabość mięśni unerwionych przez nerwy czaszkowe.

Transport cząsteczek w dwie strony nazywamy uniportem, a gdy są transportowane różne cząsteczki do kotransportem. Wyróżniamy w nich symporty (Glc/Na^+ i antyporty (do wew. Na^+ /na zew. Ca^{2+})).



Wykład z Biochemii, wykład XVII, 30 marca 2004r.

Białka błonowe.

Wykład p. dr Sobkowiaka.

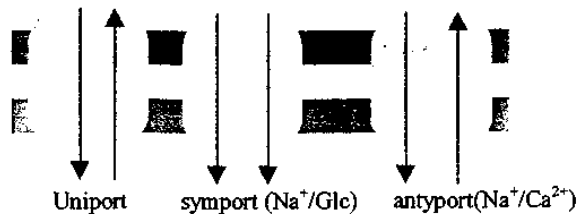
Białka błonowe: - lipidy i białka - duża lepkość i sprężystość

- oddzielają komórki od siebie, są wybiórczo przepuszczalne dzięki kanałom - wymiana pomiędzy komórkami - udział w procesach transportu - funkcje receptorowe - kompartmentacja komórki.

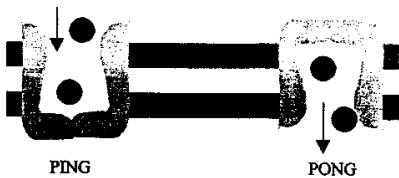
- Różny stosunek białka do lipidów (np. w mitochondrium 3,2) - Funkcje budulcowe, enzymatyczne, receptorowe, antygeny zgodności tkankowej - Rozmieszczone są asymetrycznie - Białka peryferyjne współdziałają z integralnymi

Lipidy błon:

- fosfoglicerydy
- sfingomieliny
- glikocerebrozydy
- cholesterol



Dyfuzja ułatwiona i transport aktywny mają wspólne cechy - udział białka, specyficzność dla odpowiednich jonów i wodorowęglanów, specyficzność miejsca wiązania, które mogą być wysycone lub blokowane. Dyfuzja ułatwiona polega na przeniesieniu cząsteczek w obu kierunkach i często opiera się na mechanizmie ping-pong.



Na przebieg wpływają hormony, które regulują ilość białek transportowych. Insulina zwiększa transport glukozy do mięśni i tkanki tłuszczowej.

Transport aktywny - zachodzi niezgodnie z równowagą termodynamiczną, wymaga energii z ATP, ruchów protonów lub UV. Przykładem jest $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATP-aza}$, która transportuje 3 Na na zewnątrz a 2K^+ do wnętrza komórki. Takie pompy są podstawą przewodnictwa nerwowego. W szybkim przenoszeniu impulsów nerwowych bierze udział osłonka mielinowa, która uniemożliwia wymianę jonów w dowolnych miejscach. W komórkach tarczycy znajduje się pompa jodkowa, zależna od $\text{Na}/\text{K-ATP-azy}$. Wrodzony brak wywołuje powiększenie tarczycy.

Białko CFTR ma pięć domen, dwie przez błonowe TMD1 i TMD2, które tworzą kanał oraz z NBF1 i NBF2, które wiążą ATP i są domenami regulacyjnymi. Delecja 3 par zasad w pozycji dziesiątej powoduje brak fenylalaniny w białku -> mukowiscydoza -> upośledzenie funkcji gruczołów zewnątrzwydzielniczych, dziedziczenie autosomalnie recesywne.

Przemieszczanie makromolekuł odbywa się dzięki endo i egzocytozie. Egzocytoza jest to transportowanie substancji na zewnątrz, endocytoza reguluje zaś skład błony i zawartość macierzy komórkowej. Procesy te wymagają energii z ATP, a także odpowiedniego stężenia jonów wapnia w płynie zewnątrzkomórkowym. Wyróżniamy dwa typy endocytozy: fagocytozę (makrofagi) i pinocytozę (wszystkie komórki). W tym procesie wchłaniane są substancje przeznaczone do niszczenia za pośrednictwem receptorów asialoglikoproteinowych. Internalizacja jest to mechanizm transmisji sygnałów.

Wykład z Biochemii, wykład XIX, 6 kwietnia 2004r. NOWOTWORZENIE

Nowotwór - to zbiór komórek zmienionych somatycznie, charakteryzujących się: niekontrolowanymi podziałami, utratą wyspecjalizowanej funkcji, niszczeniem otaczających tkanek, inwalidacją otaczających komórek -> przeżuty do narządów odległych.

- Inicjacja - objawami są hiperplazja (więcej komórek) i dysplazja (zmiana właściwości komórek).
- Promocja - objawia się wzmożonymi podziałami, zwiększoną ruchliwością, utratą łączności z komórkami sąsiednimi, utratą funkcji wyspecjalizowanej i zmianą struktury oraz liczby chromosomów. Promocja wraz z inicjacją są odwracalne przez czynniki antypromocyjne (hormony, cykliczne nukleotydy, cytokiny).
- Progresa - narastające złośliwienie komórek, intensywne podziały komórkowe i wzrost komórek, który jest niezależny od czynników zewnętrznych.
- Przeżuty do tkanek.

Komórki nowotworowe produkują czynniki autogenne -> autokrynowe czynniki wzrostowe. Konsekwencją tego są liczne mutacje i aberacje chromosomowe.

Czynniki środowiskowe.

> Ekspozycja na czynniki rakotwórcze, co leży u podłoża 80% wszystkich zachorowań na nowotwory.

> Infekcje wirusowe:

- opryszczka HSV II -> rak szyjki macicy -> choroba przenoszona drogą płciową;
- wirus Epsteina-Barra; - wirus HVB (WZW B);
- wirusy białaczki TLV L, które atakują limfocyty T1;
- adenowirusy. > Czynniki genetyczne (1-2%) - mutacje genów:
- siatkówczak (retinoblastoma),
- polipowatość jelita grubego
- guz Wilms'a
- zespół Li-Fraumeni

- rak sutka.
- > Defekty enzymów i czynników ochronnych. > Defekty naprawy DNA
- eksodermapigmentoza
- ataksja
- teleościam.:)

Mutacje somatyczne - spowodowane są przez czynniki fizyczne (UV, promieniowanie jonizujące), czynniki chemiczne (benzopiren, antracen) lub biologiczne (wirusy rakogenne RNA i DNA). Fenotyp nowotworowy powstaje i uwidacznia się w wyniku mutacji dominujących i recesywnych.

DNA z komórek nowotworowych jeśli zostanie przeniesiony do zdrowych komórek unieśmierconych spowoduje wystąpienie objawów nowotworowych. Hybrydyzacja komórek nowotworowych z prawidłowymi doprowadza do supresji genów komórki nowotworowej i geny nowotworowe nie mogą wywołać nowotworzenia. Geny supresyjne hamują mutacje komórek nowotworowych co objawia się zahamowaniem wzrostu guza.

Wszystkie wirusy RNA są retrowirusami, które dzięki odwrotnej transkrypcji produkują DNA. Retrowirus wchodzi do komórki i uwalnia RNA. Następnie polimeraza zależna od RNA kopiuje jednoniciowe RNA i wytwarza prowirusowy DNA, ten integruje się z chromosomem i dalej poddaje się transkrypcji i translacji. W cytoplazmie zaś gromadzą się wszystkie składniki wraz z nowymi białkami.

Wirusy onkogenne:

Łagodne - genom stanowi RNA, ok. 9000 nukleotydów; wirion stanowi dwie kopie RNA, połączone na końcu 5' i 3'. W sekwencjach nie kodujących LTR znajdują się promotory. Zawierają geny *gag* (koduje białka strukturalne) i *pol* (koduje zależną od RNA polimerazę DNA).

Złośliwe - są niezdolne do replikacji, wymagają wirusów wspomagających. Jedynym zdolnym do replikacji jest wirus mięsaka Rous (RSV). Gen *src* - powoduje transformację fibroblastów w komórce mięsaka.

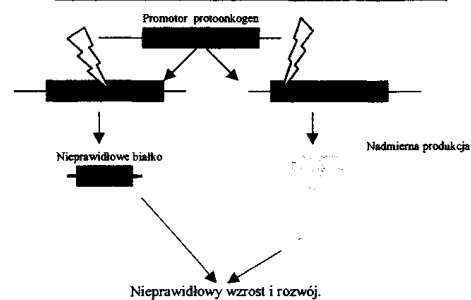
Onkogeny transformujące nie są konieczne do replikacji wirusa. Są niezbędne do transformacji komórki. Genom wirusa zawiera 1-2 onkogenów. 1- onkogen zazwyczaj wywołuje 1 nowotwór. W latach '70 wszystkie prawidłowe DNA zawierały sekwencje homologiczne do onkogenów i nazwano je protoonkogenami.

W organizmach prokariota zidentyfikowano około 100 onkogenów. Zamiana protoonkogenu w onkogen polega na zmianie aktywności lub ilości białka produkowanego przez protoonkogen. Protoonkogeny odpowiedzialne są za kontrolę wzrostu i rozwoju komórki, reguluje czynniki transkrypcyjne i wzrostowe komórki.

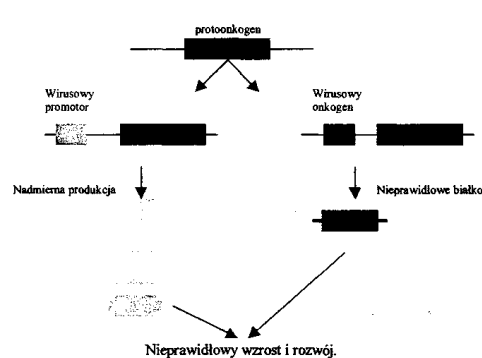
Komórki prawidłowe:

- Czynniki wzrostu - np. SIS, Int1, Int2
- Receptory oraz białka aktywujące kinazy tyrozynowe
- Białko G
- Białka cytoplazmatyczne o aktywności serynowo-treoninowej
- Hormony steroidowe.

Objawy zmian w aktywności protoonkogenu lub jego promotora.



Wpływ wirusowego promotora lub onkogenu.



VOMC leży w obrębie promotora wirusa i ma aktywuje protoonkogen. Protoonkogen ulega transpozycji lub translokacji w obręb kontroli silniejszego promotora. Może ulec amplifikacji lub fuzji, jeśli jest okaleczony, z innym genem. Promieniowanie jonizujące powoduje mutacje w rejonie regulatorowym protoonkogenu lub w nim samym. Transformacje somatyczne mogą działać na geny supresorowe, które normalnie produkują białka hamujące nowotworzenie.

Geny supresorowe jak np. RB hamują podziały komórkowe. Zagrożenie występuje u dzieci z jednym zmutowanym allelem genu kodującego białko RB. Jeśli drugi dobry gen ulegnie mutacji dochodzi do zahamowania aktywności białka RB. Białko RB w jednej komórce działa kowalencyjnie dzięki możliwości fosforylacji i defosforylacji samego siebie. W fazie S jest ufosforylowane, zaś w fazie M i G ulega defosforylacji. To forma defosforylowana hamuje proliferację.

Mutacje genu ochronnego *p53* leżą u podstaw m.in. zespołu Li-Fraumeni, raka sutka, raka płuc i raka jelita grubego. Produktem białkowym tego genu jest fosfoproteina jądra komórkowego - p52, która hamuje cykl komórkowy w formie ufosforylowanej i działa na transkrypcję i polimerazę alpha.

Mutacje genu *WT-* wywołuje guz Wilms'a, produkt tego genu jest niezbędny w procesach różnicowania się komórek.

Mutacje genu *MCC* wywołują polipowatość jelita grubego. Białko będące produktem wiąże się z białkiem G i hamuje, lub pobudza sygnał.

Wykład z Biochemii, wykład XXI, 14 kwietnia 2004r. MIĘŚNIE.

U noworodka mięśnie stanowią 25% masy ciała, u osoby dorosłej aż 40% m.c. Osoby w wieku starszym posiadają do 30% mięśni. W mięśniach energia chemiczna przekształcana jest w energię mechaniczną. Kryteria, które muszą być spełnione przy uczynnianiu mięśnia to ATP lub fosfokreatyna, kontrola CUN (szybkość, siła i czas skurczu) oraz działanie antagonistów. W organizmie występują 3 typy mięśni: poprzecznie prążkowane szkieletowe poprzecznie prążkowane serca gładkie.

Na rysunku (następna strona) przedstawiono budowę filamentu cienkiego, grubego oraz schemat przedstawiający czynne mostki poprzeczne pomiędzy tymi nitkami.

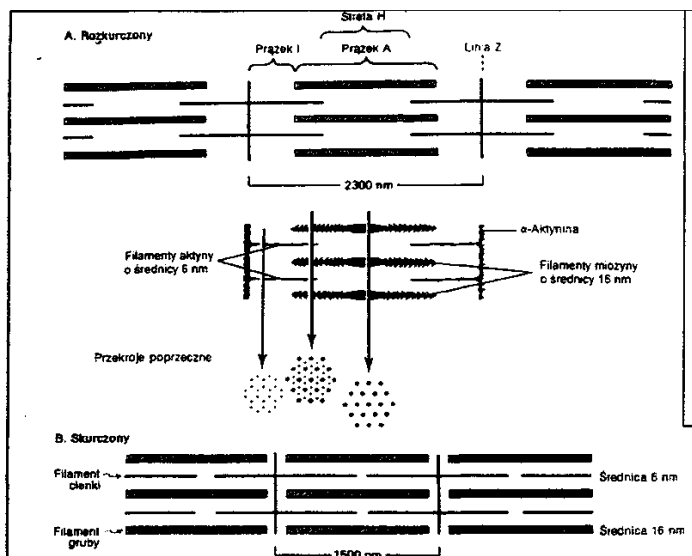
Nitki cienkie i grube wchodzi w skład sarkomeru. Są one ułożone na przemienne, dzięki czemu widoczne są prążki A oraz L. Miozyna ślizga się po filamentach aktynowych dzięki możliwości hydrolizowania ATP.

Skurcz mięśnia zachodzi dzięki jonom wapniowym. Stężenie Ca^{2+} w stanie spoczynku w sarkoplazmie wynosi około $10^{-7}/10^{-8}$ mmol/l. Jest on związany z kalsekwestryną.

W wyniku depolaryzacji płytki postsynaptycznej dochodzi do uwolnienia jonów Ca^{2+} i w sarkoplazmie wzrasta jego stężenie do 10^{-5} mmol/l. Jony wapnia wiążą się z układem filamentów aktynowych, umożliwiając przyłączenie się główek miozyny.

Mięśnie gładkie.

W mięśni gładkim brakuje troponiny oraz występuje inna budowa miozyny. Ma ona łańcuch lekki P i nie może wiązać aktyny. Dopiero po fosforylacji tego łańcucha jest możliwe jej połączenie z aktyną. Najpierw jony Ca^{2+} łączą się z kalmmoduliną, a ta pobudza kinazę łańcucha lekkiego do jego fosforylacji. Po odłączeniu jonów wapnia od kalmmoduliny, i ta odłącza się od kinazy i łańcucha nie jest dalej fosforylowany. Epinefryna i noradrenalina powodują wzrost cAMP i zarazem aktywność kinazy zależnej od cAMP. Ta fosforyluje



Ułożenie nitki białkowych w mięśniu poprzecznie prążkowanym. A: Mięsień rozkurczony i rozciągnięty. Pokazano położenie prążków I, A i H w tym stanie. Cienkie nitki częściowo zachodzą za końce nitki grubych; nitki cienkie zakotwiczone są w liniach Z (często nazywanych dyskami Z). W dolnej części rycinę pokazano groty strzał wystające z nitki miozyny (grubych) i skierowane w przeciwną stronę. Cztery nitki aktywne (cienkie) zakotwiczone są w dwóch liniach Z za pośrednictwem α -aktyliny. Środkowy region trzech nitki grubych, wolny od groty strzał nazywany jest prążkiem M (nie oznaczony). Pokazano przekroje poprzeczne przez prążki M przez obszar, na którym nitki aktywne i miozyny zachodzą za siebie oraz obszar, na którym występują tylko nitki aktywne. B: mięsień skurczony. Nitki aktywne wśliznęły się głębiej pomiędzy nitki miozyny i zbliżyły się do siebie. Długości nitki miozyny i nitki aktywne (odległość pomiędzy prążkiem Z i brzegiem prążka H) nie zmieniły się. Jednakże długość sarkomeru została zmniejszona (z 2300 nm do 1500 nm), a długości prążków H i I również się zmniejszyły na skutek większego zachodzenia na siebie nitki aktywne i miozyny. Te morfologiczne obserwacje dostarczyły części podstaw ślizgowego modelu skurczu mięśnia.

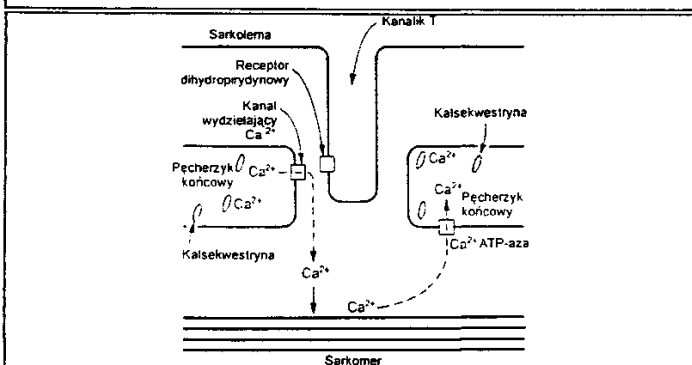
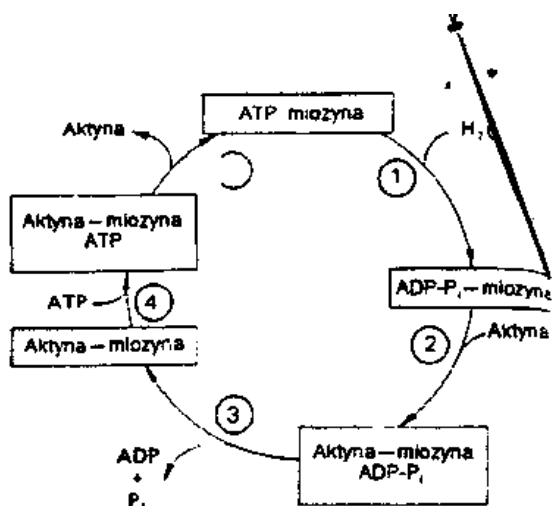


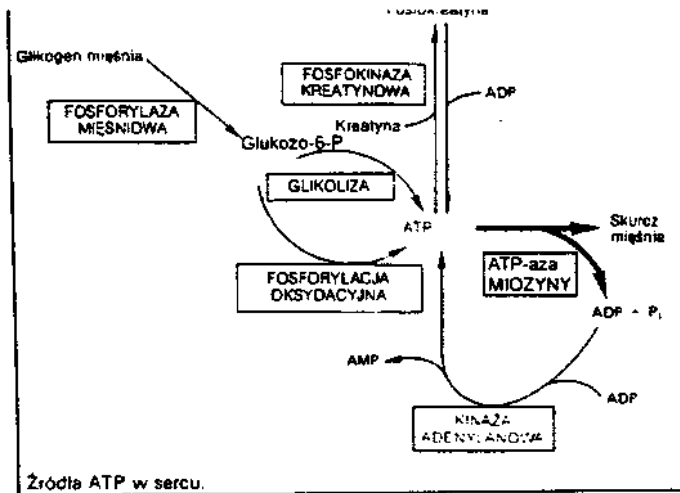
Diagram związków pomiędzy sarkolemą (błoną plazmatyczną), kanałkiem T i dwoma pęcherzykami końcowymi siateczki sarkoplazmatycznej mięśnia szkieletowego (nie w skali). Kanałek T wypukła się do komórki z sarkolemą. Fala depolaryzacji zainicjowana przez impuls nerwowy jest przewodzona od sarkolemą wzdłuż kanałka T. Jest ona następnie przekazywana na kanały wydzielające Ca^{2+} (receptory rianodynowe), prawdopodobnie na drodze interakcji pomiędzy nimi i receptorami dihidropirydynowymi (wolne kanały Ca^{2+} bramkowane napięciem), które znajdują się bardzo blisko nich. Wydzielenie Ca^{2+} przez kanały wydzielające Ca^{2+} do cytozolu zapoczątkowuje skurcz. Następnie Ca^{2+} jest pompowany z powrotem do pęcherzyków siateczki sarkoplazmatycznej przez Ca^{2+} -ATP-azę (pompe Ca^{2+}) i przechowywany w nich częściowo w postaci związanej.



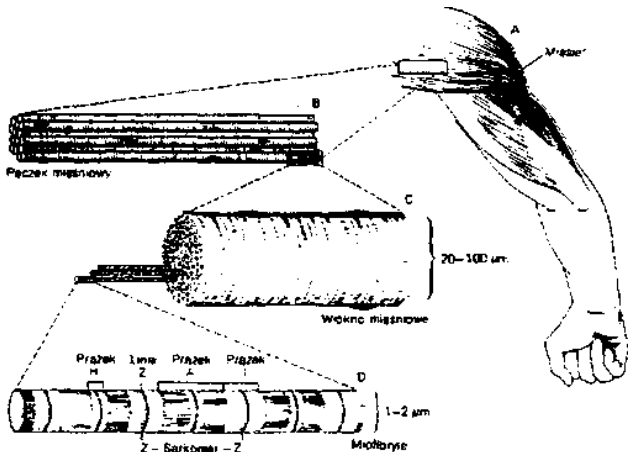
Hydroliza ATP jest źródłem napędu cyklicznego łączenia i rozłączania aktyny i miozyny w 5 reakcjach opisanych w tekście. (Rycina zmodyfikowana z: Stryer L: *Biochemistry*, wyd. 2 Freeman, 1981).

kinazy łańcucha -> skutkiem jest tłumienie odpowiedzi skurczowej mięśni gładkich. 10% wapnia w serce pochodzi z poza komórki, która i tak ma słabiej rozbudowaną siateczkę sarkoplazmatyczną. Choroby serca często wiążą się z defektami np. utleniania kwasów tłuszczowych, wnikaniami kamieniny do komórek i mitochondriów lub upośledzeniem funkcji enzymów tlenowej przemiany kwasów tłuszczowych. Zaburzenia mitochondrialnej fosforylacji oksydacyjnej wywołane są zarówno przez białka kodowane przez geny mitochondrialne jak i jądrowe.

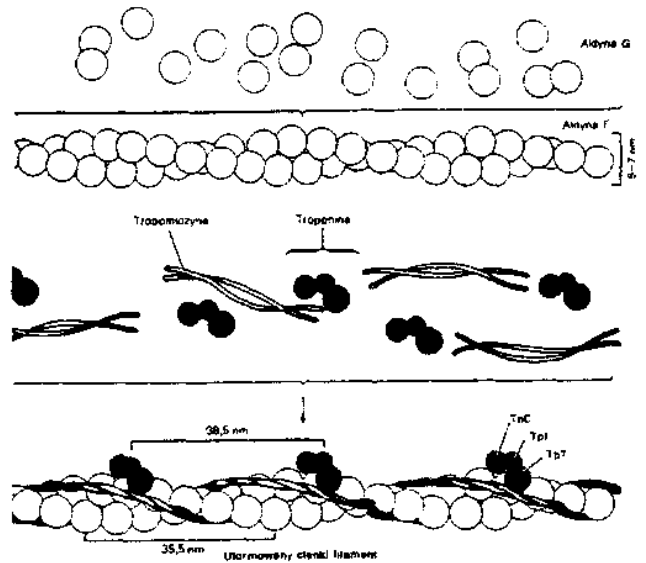
Kardiomegalia wywołana jest przez mutację bezsensowną w genie łańcucha ciężkiego beta-miozyny. Zmutowane łańcuchy powodują modyfikacje miofibryli, które się gromadzą próbując zrekomensować swoją niedoczynność. Dalszą konsekwencją jest przerost komory / komór.



Źródła ATP w sercu.



Struktura mięśnia szkieletowego. Sarkomer obejmuje obszar położony między liniami Z. Rycina wykonana przez Sylwję Colard Keena, reprodukowana za zgodą z Bloom W., Fawcett D.W.: A Textbook of Histology, Saunders 1975)



Schematyczne przedstawienie cieniły nitki, pokazujące przestrzenne ułożenie jej trzech głównych komponentów białkowych: aktyny, tropoiny i troponozyny. Górna część ryciny pokazuje pojedyncze cząsteczki aktyny G. Środkowa część pokazuje monomery aktyny tworzące aktynę F. Pokazano również pojedyncze cząsteczki troponozyny (dwa zwinęte ze sobą pasma) i tropoiny (składające się z trzech podjednostek). Dolna część pokazuje kompletną cieniłą nitkę składającą się z aktyny F, troponozyny i trzech podjednostek tropoiny (TpC, TpI, oraz TpT).

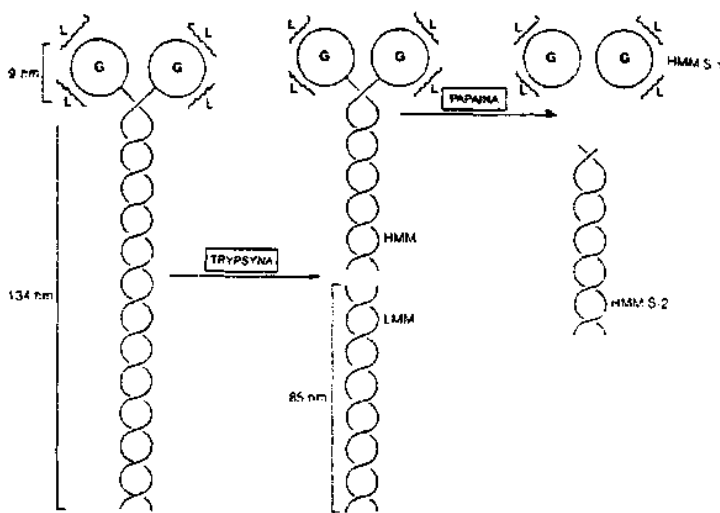
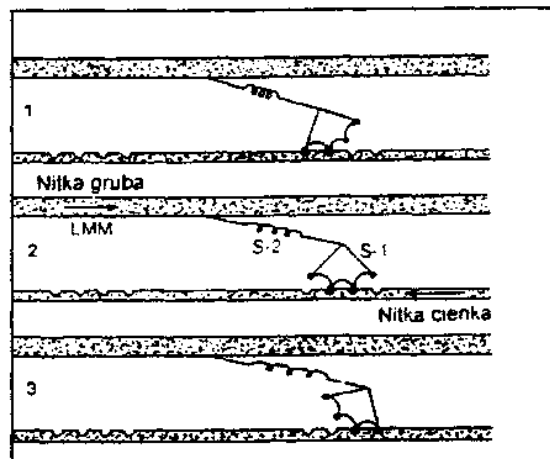


Diagram cząsteczki miozyny pokazujący 2 zwinęte ze sobą helisy (część nitkowata), główkę (G), lekkie łańcuchy (L) i efekty trawienia przez trypsynę i papainę. HMM — ciężła meromiozyna, LMM — lekka meromiozyna. S-1 — podjednostka 1, S-2 — podjednostka 2.



Wykład z Biochemii, wykład XXII, 27 kwietnia 2004r. RÓWNOWAGA KWASOWO-ZASADOWA W USTROJU.

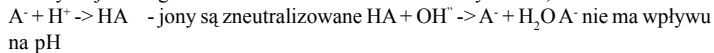
Utrzymanie stałego pH jest jednym z podstawowych zadań organizmu. Odpowiedzialne są za to roztwory buforujące, czyli roztwory przeciwdziałające zmianom pH roztworu. Według teorii Bronsteta kwasami nazywamy aniony, które są protonodawcami, zaś zasadami kationy będące protonobiorcami. Układami buforującymi są: układ kwasny (słaby kwas, jego anion oraz sprzężona zasada) oraz układ zasadowy (słaba zasada i sprzężony kwas).

Pojemność buforowa jest to zdolność zgromadzenia w roztworze jak największej ilości kwasów lub/i zasad bez zmiany o jedną jednostkę pH

Równanie Hendersona-Hasselbaha;

$$pH = pK_a + \log(\text{sól tego kwasu/kwasu})$$

pK_a - stała dysocjacji, czyli stosunek ilości zdysocjowanych cząsteczek do niezdisocjowanego roztworu. Jeżeli do buforu dodamy kwasu, a zatem H^+ to:



Pojemność buforowa zależy od mocy kwasu i stosunku składników. W płynach ustrojowych pH jest różne dla każdej tkanki:

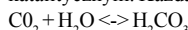
Krew - pH=7,4

Płyn zewnątrz komórkowy - pH trochę niższe niż w krwi.

Sok żołądkowy - pH=1.

Sok jelitowy pH=7-8.

W organizmie najczęściej wytwarzane są kwasy, homeostaza prowadzi do usunięcia kwasów z ustroju. Organizm wytwarza dziennie od 15-20 mol CO_2 . 1 mol dwutlenku węgla to około 22,2 litra. Gaz ten pochodzi z przemian metabolicznych (dekarboksylacji) i w postaci lotnej, może być usuwany przez płuca. W organizmie wytwarzane są również kwasy nie lotne takie jak: masłowy, acetoocetowy (i inne ciała ketonowe), siarkowy i fosforowy. Ich produkcja wynosi około 70 umol/dobę. O utrzymaniu stałego pH decydują zarówno układy buforujące jak i anhidraza węglanowa, która występuje wewnątrz komórek [erytrocyty; pęcherzyki płucne; komórki okładzinowe; kanaliki nerkowe] (wyjątek kanalik proksymalny). Anhidraza jest łąką, bardzo aktywnym enzymem o dużej liczbie obrotów, zawiera cynk w centrum katalitycznym. Każda cząsteczka katalizuje uwodnienie $10^5 CO_2$ w ciągu 1s.



$H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$ Reakcja jest zależna od reakcji pierwszej i od usuwania produktów.

Usuwanie jonów HCO_3^- odbywa się dzięki białku transportowemu, które działa na zasadzie wymiennika z Cl^- . Proces nazywamy przesunięciem chlorkowym.

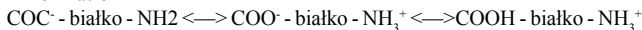
We krwi znajdują się cztery podstawowe układy buforujące: węglanowy (3%; kwas węglowy i wodorowęglan, pojemność buforowa = 2,6), fosforanowy (1%, pojemność buforowa = 0,4); białczanowy (6%, pojemność buforowa = 5,0) oraz hemoglobinowy (21%, pojemność buforowa = 15,2). Bufor wodorowęglanowy jest niestabilny, a jego stężenie zależy od prężności CO_2 w roztworze oraz od aktywności oddechowej. Współdziała on z buforem hemoglobinowym.

Na działanie buforu hemoglobinowego wpływają między innymi: ciśnienia parcjale tlenu, a konkretniej ich różnica pomiędzy ciśnieniem płucnym a tkankowym. Ważnym czynnikiem jest wysycenie hemoglobiny tlenem oraz stopień wysycenia nim w płucach, który zazwyczaj wynosi około 97%. W tkankach hemoglobina oddając tlen wysycona jest już jedynie w 25%. $IgHb = 1,34 \text{ mlO}_2$

Bufor białczanowy

Stanowią go białka (7%), które są obojętne, a ich ładunek zależy od ilości grup karboksylowych i aminowych.

Anion kation



Bufor fosforanowy

Jest głównym buforem znajdującym się w moczu. Składa się z $H_2PO_4^-$ i HPO_4^{2-}

Za usuwanie kwasowości odpowiadają płuca i nerki. W nerkach zachodzi resorpcja zwrotna wodorowęglanów. Nerki usuwają kwasy nie lotne, kwaśny fosforan i inne słabe kwasy, oraz jon amonowy.

Z jonem amonowym wiąże się **bufor amonowy**. W jego skład wchodzi NH_4OH (NH_3) oraz NH_4^+ . O ilości NH_3 , OH^- decyduje prężność NH_3 nad roztworem.

Wskaźnik oceny równowagi kwasowo-zasadowej pH krwi jest wypadkową dwóch składowych:

- a) metabolicznej (nie oddechowej)
- b) oddechowej.

Komponent metaboliczny znajduje swój wyraz w stężeniu wodorowęglanów, oddechowy natomiast w ciśnieniu cząsteczkowym CO_2 .

$$pH = 6,11 + \log \frac{HCO_3^-}{0,226 \times pCO_2} \quad \text{HCO}_3^- \text{ - to komponent metaboliczny, zaś } pCO_2 \text{ - to komponent oddechowy.}$$

Zmiany pH krwi uwarunkowane metabolicznie mogą więc być spowodowane utratą zasad z płynami wydalnymi lub wydzielanymi lub też mogą być związane z nadmierną podażą lub wytwarzaniem kwasów w ustroju.

Hipowentylacja doprowadza do kwasicy oddechowej, zaś hiperwentylacja do alkalozji oddechowej.

Parametry równowagi kwasowo-zasadowej krwi.

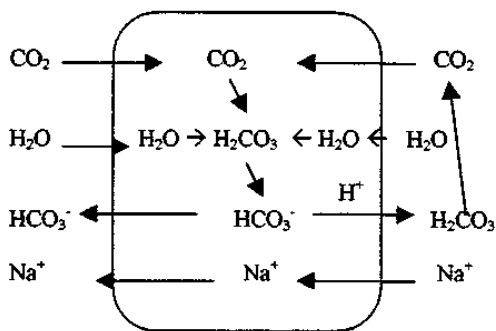
- a) pH krwi
- b) Aktualne ciśnienie cząsteczkowe CO_2 dla krwi tętniczej.
- c) Aktualne stężenie jonów HCO_3^- wyrażone w mmol/l.
- d) Niedobór lub nadmiar zasad

pH krwi - 7,35 - 7,45 H^+ - 35,5 - 44,7 mmol/l PCO_2 - 4,7 - 6,0 kPa HCCV - 24-28 mmol/l

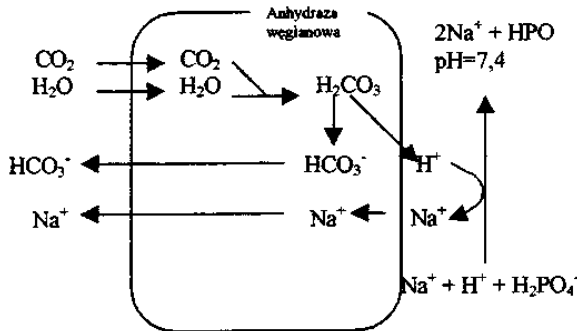
przyczyna	Zaburzenie pierwotne	Zaburzenie wtórne
Zapalenie oskrzeli	Kwasica oddechowa	Zasadowica metaboliczna
Zatrucie aspiryną	Kwasica metaboliczna	Zasadowica oddechowa
Niedrożność przewodu pokarmowego	Zasadowica metaboliczna	Zasadowica oddechowa
Przedawkowanie leków nasennych	Kwasica oddechowa	Kwasica metaboliczna
Cukrzyca	Kwasica metaboliczna	Zasadowica oddechowa
Hiperwentylacja	Zasadowica oddechowa	Zasadowica metaboliczna

Nerka.

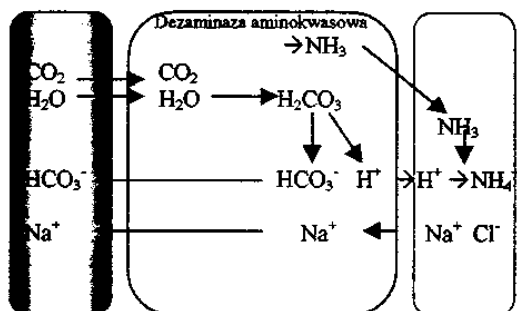
Komórki cewki bliższej.



Komórki cewki dalszej.



Krew komórki cewki dalszej przesącz cewki



Wykład z Biochemii, wykład XXIV i XXV, 4/5 maja 2004 r. GOSPODARKA WODNO-MINERALNA/WODNO-ELEKTROLITOWA.

Równowaga to taki stan, w którym wszystkie elektrolity są rozmieszczone w przestrzeniach wodnych w granicach ich fizjologicznych stężeń.

Prawa rządzące równowagą:

- 1) Prawo elektroobojętności - pfony ustrojowe obojętnie w jakich przestrzeniach są elektrycznie obojętne.
- 2) Prawo izosmolalności - ciśnienie osmotyczne płynów ustrojowych wszystkich przestrzeni wodnych jest jednakowe. Osmolalność osocza wynosi - 290 mmol/kgH₂O.
- 3) Charakter fizjologiczny, który dotyczy dążności ustroju do zachowania stałego stężenia jonów (izojonii) w tym również jonów H⁺.

Osmolalność - jest miarą ciśnienia osmotycznego będącego czynnikiem, który decyduje o rozmieszczeniu wody w poszczególnych przestrzeniach ustroju.

Płyny ustrojowe są to roztwory substancji organicznych i nieorganicznych. Woda związana jest również z kolidami wodochłonny. W wodzie w stanie wolnym znajdują się związki mineralne, które są w całości lub prawie zdysocjowane. Całkowita ilość wody uzależniona jest od zawartości tkanki tłuszczowej, płci i wieku.

u osób otyłych woda stanowi 44% m.c., zaś szczupłych do 70% m.c.

zawartość wody maleje z wiekiem.

- > noworodek - 77% m.c.
- > 10 miesięcy - 63% m.c.
- > 10 rok życia - 59% m.c.
- > dorośli - 60% m.c.
- > mężczyźni - 56-70% m.c.
- > kobiety - 44-65% m.c.

Każdego dnia wymienia się od 3-6 % całkowitej ilości wody. Utrata wody wynosząca około 10% wywołuje groźne dla życia skutki, zaś utrata 20% całkowitej ilości wody doprowadza do nieuchronnej śmierci.

Płyny ustrojowe:

1) płyn komórkowy / śródkomórkowy — stanowi największą przestrzeń wodną ustroju, do około 70%. Jego głównymi jonami są K⁺ i HPO₄²⁻.

- a) pozanacyniowy (komórki, tkanki)
- b) śródmaczyniowy (krwinki)

2) płyn pozakomórkowy — stanowi około 28% wody całkowitej, tworzy środowisko zewnętrzne komórek, główne jony to Na⁺ i Cl⁻ i HCO₃⁻.

- a) płyn śródmiąższowy (obmywa komórki, odpowiada limfie)
- b) płyn transcelularny (przewód pokarmowy, płyn rdzeniowo-mózgowy)
- c) płyn śródmaczyniowy (osocze)

Płyn wewnątrzkomórkowy i zewnątrzkomórkowy pozostają ze sobą w stałej równowadze dynamicznej, tzn. istnieje ciągły ruch wody i elektrolitów, który nie zakłóca równowagi.

Regulacja:

- Prawidłowe dostarczanie wody, pokarmów i soli mineralnych.
- Prawidłowa czynność nerek i układu nerwowo-hormonalnego.

właśnie tego czynnika, które koduje preproANP, mający 152 aminokwasy. Odszczepienie peptydu sygnałowego powoduje powstanie proANP i ich gromadzenie w pęcherzykach

i wydzielniczych, z których są wydzielane jako aktywne peptydy ANP. Receptory dla tego czynnika znajdują się w kłębuszkach nerkowych, w błonach płazmatycznych kanalików dystalnych, w korze nadnerczy i mózgu. Wzmacnia naddiurezę i diurezę, a hamuje wydzielanie reniny. Blokuje również syntezę aldosteronu pobudzanego przez A II. Oprócz ANF istnieje najprawdopodobniej inny czynnik, o małej masie cząsteczkowej, wytwarzany w podwzgórze, który hamuje pompę Na⁺K⁺ATP-azę -> do tej pory nie wyizolowano.

- Pośrednia lub bezpośrednia regulacja nerek.

W regulacji wolenii biorą udział ponadto: prostaglandyny (PGI₂), bradykininy, NO₂ które pośrednio lub bezpośrednio wiążą się z układem RAA, aldosteronem lub wazopresyną.

Rola nerek.

- Wydalanie wody
- Resorpcja zwrotna Na⁺.
- Zagęszczanie i rozcieńczanie moczu.

Kanalik bliższy - resorpcja zwrotna:

- 85% przesączonego Na⁺, Cl⁻, HCO₃⁻, fosforanów i H₂O
- 90-95% przesączonego Ca²⁺. - 60% przesączonego mocznika - 75% przesączonego K⁺. Prawie cała ilość przesączonej glukozy.

Kanalik dalszy-resorpcja zwrotna:

- Na⁺
- H₂O

Wymiana jonów Na⁺ na K⁺ lub H⁺.

Zaburzenia. [Stężenie Na⁺. - Przewodnienie - Odwodnienie

<135	Hipotonia	Hipotonia
135-145	Izotonia	Izotonia
>145	Hipertonii	Hipertonii

Odwodnienie izotoniczne

Na skutek utraty wody z przewodu pokarmowego (wymioty, rozwolnienia) lub moczowego, zapalenia otrzewnej, oparzenia lub ograniczonej podaży wody i soli mineralnych. Zmniejszenie płynu pozakomórkowego przyspiesza akcję serca, zmniejsza ilość wydalanego moczu, zwiększa substancje azotowe we krwi.

Izotoniczne przewodnienie.

Zwiększenie ilości płynu pozakomórkowego bez zmiany ilości płynu wewnątrzkomórkowego i tym samym osmolalności. Przyczyny: przewlekła niewydolność krążenia, przewlekłe obrzęki, nerczyca, gwałtowne rozwolnienie (utrata białek). Obniżenie hemoglobiny i hematokrytu przy prawidłowych objętościach moczu i osmolalności.

Hipertoniczne przewodnienie

Pod wpływem nadmiernej podaży sodu lub jego retencji w tkankach, przy jednoczesnym niedostatecznym dowozie wody. Zwiększenie płynu zewnątrzkomórkowego, kosztem zmniejszenia płynu wewnątrzkomórkowego, wzrost ciśnienia osmotycznego płynu zewnątrzkomórkowego co powoduje przechodzenie płynu wewnątrzkomórkowego do zewnątrzkomórkowego, Może wystąpić na skutek infuzji stężonego NaCl, lub picia wody morskiej. Powoduje to niewydolność nerek i zatrzymanie sodu w tkankach. Dalszą konsekwencją jest nadciśnienie, a nawet wzrost objętości płynu zewnątrzkomórkowego do tego stopnia, że powoduje obrzęki płuc.

Odwodnienie hipertoniczne

Wysuszenie. Na skutek utraty płynu wewnątrz i zewnątrzkomórkowego, wynikiem tego jest wzrost osmolalności. Powoduje je bardzo duża utrata wody przez skórę (pot), płuca (hiperwentylacja), nerki (moczówka) lub przez jelita (rozwolnienia).

Odwodnienie hipotoniczne

Przy nadmiernej utracie sodu, co powoduje spadek ciśnienia osmotycznego płynu zewnątrzkomórkowego. Gwałtowna utrata Na⁺ występuje przy potach, niewydolności nerek, zapaleniu nerek, rozwolnieniach i z powodu zmniejszenia objętości krwi.

Hipotoniczne przewodnienie.

Zwiększenie płynu zewnątrzkomórkowego i wewnątrzkomórkowego z jednoczesnym spadkiem ciśnienia osmotycznego (zatrucie wodne). Przyczynami są: nadmierna podaż wody (płukanie żołądka), retencja wody, infuzje płynów hipotonicznych, obrzęki płuc, mózgu, ostra niewydolność krążeniowa.

SÓD

- * reguluje osmolalność komórki i zjawiska bioelektryczne.
- * Występuje w płynach zewnątrzkomórkowych - 140-145 mmol/l
- * W organizmie jest go około 60 mmol/kg m.c., przy czym 1/3 jest słabo lub niewymienialna (kości).
- * Dobowy ppbór w pokarmach wynosi od 2-4g.
- * Wchłanianie w środkowym i dolnym odcinku jelita cienkiego.
- * Wydalanie: 95% przez nerki; 4,5% przez przewód pokarmowy; 0,5% przez skórę.
- * Regulacja
- > przesączenie kłębuszkowe - jego spadek jest w przypadku spadku ciśnienia tętniczego, co powoduje spadek wydalania sodu z moczem.

Bilans.

Pobór		Utrata	
1) Woda preformowana		1) Perspiratio insensibilis (parowanie niewyczuwalne)	
> Płyny	1500ml	> przez płuca	400ml
> Woda w pokarmach	700ml	> przez skórę	500ml
2) Woda oksydacyjna	300ml	2) Z moczem	1500ml
		3) Z kałem	100ml

2500ml	2500ml
--------	--------

Utrata wody przez płuca i skórę jest obligatoryjna, tzn. że zachodzi również w stanach niedoboru wody. Przy podwyższeniu temperatury o 1°C powyżej 37°C ilość wody wydalanej przez parowanie wzrasta o 500ml.

Woda oksydacyjna jest to woda powstała w wyniku przemian metabolicznych w organizmie. Ze 100g węglowodanów wytwarza się 60ml wody; ze 100g tłuszczów aż 110ml wody. Ze 100g białek powstaje zaledwie 45ml wody.

Kontrola bilansu wodnego.

O Komórki zaopatrzone w osmoreceptory wrażliwe na zmiany osmolalności płynu poza-komórkowego.

Znajdują się one w podwzgórze i w układzie wrotnym wątroby. => Układ integrujący leżący w centralnym układzie nerwowym. => Neurowydzielniczy mechanizm wytwarzający wazopresynę. => Mechanizm nerkowy wydalający lub zatrzymujący wodę.

Mechanizmy regulacji fizjologicznej wielkości przestrzeni wodnej ustroju.

- autoregulacja czynności nerek — polega na przystosowaniu procesu wchłaniania jonów i wody dla pokrycia potrzeb organizmu. Oligowolemia jest silnym stymulatorem wydzielania reniny (w naczyniach doprowadzających krew do kłębuszków). Ta pobudza wydzielanie Angiotensyny I, która pod wpływem enzymu konwertującego przemienia się w II i III. Angiotensyna II zwnęza naczynia przedkłębuszkowe i nasila resorpcję zwrotną Na⁺.
- Mechanizm aldosteronowy — stymuluje procesy resorpcji Na⁺ i H₂O oraz wydzielania K⁺ przez dystalne części kanalików.
- Mechanizm wazopresywny
- Przedśionkowy peptyd natriuretyczny ANP/ANF, produkowany jest przez kardiomiocyty przedśionkowe. ANP krąży jako 28 aminokwasowy polipeptyd. Gen kodujący jest bardzo aktywny, a aż 3% całkowitej ilości mRNA stanowi matrycę

> Aldosteron — stymuluje resorpcję zwrotną, pobudza wymianę Na^+ na Ca^{2+} . > ANP, wazopresyna, A 11, progesteron, prostaglandyny, uroguanilina (ten ostatni to mało cząsteczkowy polipeptyd o długości 13-15 aminokwasów, który jest wytwarzany przez jelito cienkie i nasila spożycie pokarmów bogatoseoicznych).

> Ukrwienie nerek.

• Hiponatriemia

- poniżej 135mmol/l

- niedobór sodu w pokarmach, lub zbyt rozcieńczenie płynów

• hipematriemia

- powyżej 150 mmol/l dla płynów pozakomórkowych i powyżej

14 mmol/l dla płynów wewnątrzkomórkowych.

POTAS

odpowiada za zjawiska bioelektryczne, jest niezbędny do prawidłowych czynności komórki. Najważniejszy kation przestrzeni wewnątrzkomórkowej - 130-150 mmol/l - 50mmol/kg m.c.

- 2% znajduje się w płynie zewnątrzkomórkowym (3,5-5 mmol/l).

- Dobowe zapotrzebowanie-70-130 mmol/l.

- Wchłania się w górnych odcinkach przewodu pokarmowego.

-Wydalenie: 90% z moczem, 10% z kałem.

-Regulacja:

> Insulina - ułatwia transport K^+ do mięśni i wątroby poprzez pompę sodowo-potasową. Zwiększa

przepuszczalność błony plazmatycznej dla potasu. > Aminy katecholowe - pobudzenie p-receptorów jest sprzężone z aktywacją cyklazy adenylanowej.

cAMP pobudza kinazę białek a ta powoduje zwiększony napływ potasu do komórki.

> Aldosteron - pobudza wydzielanie potasu przez kanaliki dystalne i zbiorcze.

Hipokaliemia Powody

• niedobór potasu

• niedostateczna podaż

• utrata przez przewód pokarmowy, towarzyszy hiperaldosteronizm

• utrata przez nerki pod wpływem leków moczopędnych

• „ucieczka” przy wlewach (np. insuliny)

Objawy: nerwowo-mięśniowe porażenie, apatia, niedrożność przewodu pokarmowego, porażenie pęcherza, nadmierna polaryzacja błon ze zmniejszeniem pobudliwości, nefropatia hipokaliemiczna z wielomoczem.

Hiperkaliemia

Powody:

• zwiększona podaż potasu

• zmniejszone wydalanie nerkowe,

• uwalnianie potasu komórkowego przy rozpadzie komórek

Objawy: zaburzenia mięśni, w tym i serca, zmniejszone przewodnictwo, przy stężeniu 10 mmol/l dochodzi

do migotania komór.

MAGNEZ

- Niezbędny do aktywacji enzymów reakcji przenoszenia grup fosforanowych i ich tworzenia, - Udział w tlenowej fosforylacji i w różnych etapach biosyntezy białek i kwasów nukleinowych. - 24g/70kg; 90% znajduje się w komórkach, 1% w płynach.

- Wchłanianie -jelito cienkie. - Wydalenie: 30% z moczem i 70% z kałem. -

Hipomagnezemia: Powody:

• poniżej 1,4mmol/l

• niedostateczna podaż

• przewlekły alkoholizm

• niewydolność nerek

• rozwolnienia

• niedoczynność tarczycy

• oparzenia

Objawy: zwiększenie pobudliwości nerwowo-mięśniowej, tachykardia, arytmia, drgawki. - Hipermagnezemia Powody:

• powyżej 2,5 mmol/l

• poziom krytyczny - 6 mmol/l

Objawy, ostra przewlekła niewydolność nerek, obniżenie pobudliwości mięśniowej, zniesienie odruchów,

śpiączka.

WAPŃ

- udział w procesach mineralizacji kości [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$]

- aktywacja enzymów (np. IV czynnik krzepnięcia krwi).

- Stabilizacja błon komórkowych. Obniżenie Ca w przestrzeni zewnątrzkomórkowej powoduje obniżenie progu pobudliwości błon komórek mięśni i nerwów przez zwiększenie przepuszczalności dla sodu.

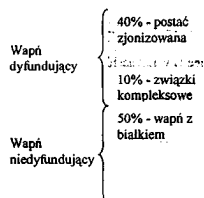
- Procesy skurczu mięśni.

- 99% znajduje się w kościach i zębach

- w osoczu w postaci dyfundującej lub niedyfundującej (po 50%).

• 40% całkowitego wapnia jest w formie zjonizowanej, jest to forma aktywna, i może przenikać przez naczynia włosowate do przestrzeni międzykomórkowej.

• 60% jest w postaci nie zjonizowanej. I tu wyróżniamy wapń związany z kwasem cytrynowym, fosforowym lub dwuwęglanami (10% całkowitej ilości Ca) i z białkami (50% całkowitej ilości wapnia).



* Wchłanianie - w dwunastnicy, wchłania się 30-40% spożytego wapnia. Fosforany i kwasy tłuszczowe wiążą Ca i uniemożliwiają jego wchłanianie. Zwiększona zawartość laktozy pobudza wchłanianie w dystalnych częściach jelita cienkiego, tak samo jak Lys, Arg i Trp.

* Regulacja: PTH, pochodne witaminy D, kalcytonina.

* Wydalanie: 20-30% z moczem; 50-80% z kałem; 10-20% z potem. Zależy od wielkości przesączenia kłębuszkowego. 90% ulega resorpcji zwrotnej, a tylko 1% wydalane jest z moczem. * PTH, hiperfosfatemia, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pobudzają resorpcję zwrotną.

* Hipermagnezemia, kalcytonina hamują resorpcję zwrotną.

• Hipokalcemia Przyczyny:

• Złe wchłanianie wapnia z przewodu pokarmowego.

• Zmniejszona podaż wapnia z kości (niedobór witaminy D_3).

• Hiperfosfatemia, wlewy cytrynianu, EDTA

• Zapalenie trzustki. >> Hiperkalcemia Przyczyny:

• zwiększona mobilizacja Ca z kości (nowotwory, niedoczynność przytarczyc).

• Wzrost wchłaniania z przewodu pokarmowego.

• Zmniejszenie wydalania z moczem.

• Niedoczynność nadnerczy.

FOSFOR

- Jest silnie trujący, zaś fosforany są niezbędne.

- Składnik kośćca (hydroksyapatydy).

- Składnik kwasów nukleinowych, związków wysoko energetycznych, fosfolipidów, błon komórkowych, mikrosomalnych i mitochondrialnych.

- Udział w glikolizie, glukoneogenezie, fosforylacji histonów jądrowych, w translacji i transkrypcji. - Zawartość: 350-450 mmol co stanowi 1% m.c.; w kościach 85%, w mięśniach 6%, a w pozostałych tkankach 9%.

W surowicy w postaci estrów i fosforanów nieorganicznych - 0,9-1,6 mmol/l - Wchłanianie: głównie w jelicie cienkim (wymaga sodu), zależne jest od wielkości podaży fosforanów, wzrasta się pod wpływem PTH i $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, maleje zaś przy dużej ilości Mg. - Wydalanie: głównie przez nerki i przewód pokarmowy, zależy od stężeń w surowicy. - Hipofosfatemia

Przyczyny:

• poniżej 0,9 mmol/l

• alkoholizm uboga dieta

Objawy: spadek syntezy związków wysokoenergetycznych, utrudnia oddawanie tlenu przez Hb, zaburzenia czynności OUN.

• Fosfaturia

Przyczyny:

• wydalanie dużych ilości fosforanów z moczem, jest związana z genetycznym zaburzeniem w obrębie cewek nerek.

SIARKA

• występuje w aminokwasach (Cys, Met), w witaminach (tiamina, biotyna), w wysoko spolimeryzowanych cząsteczkach (sulfatydy, insulina, heparyna).

• Wchłanianie głównie w przewodzie pokarmowym jako związki organiczne.

• Wydalanie jest zwiększone w chorobach tkanki łącznej (mukopolisacharydozy).

• Posiada zdolności odtruwające wątrobę (unieczynnina fenole, skatole, indole, sprzęga bilirubinę - PAPS).

• Unieszkodliwia metale ciężkie (Pb, Hg, tworzy siarczki).

• Ochrona przed promieniowaniem jonizującym (Cys, cysteinoamina).

• Ochrona enzymów erytrocytarnych (glutation).

CHLOR

> najczęściej spotykany anion

> 100-113mmol/l

> 80g/70kg

> 88% w przestrzeni zewnątrzkomórkowej, 12% w wewnątrzkomórkowej z czego 1/2 w kościach.

> Pobierany jako NaCl (4-9g/dobę), wchłaniany w jelicie cienkim.

>Wydalany przez nerki w 98% sprzężeniu z sodem, potasem wapniem lub amoniakiem.

> Ściśle związany z Na^+ , podlega tej samej regulacji.

> Równowazy ładunki (przy powstawaniu HCl, przy przenoszeniu tlenu i dwutlenku węgla).

> Hipochloremia i hiperchloremia towarzyszą hipo- i hipernatriemii.

PIERWIASKI ŚLADOWE

Są to pierwiastki występujące w stężeniach 1×10^{-6} - 1×10^{-12} g/g tkanki. Podział:

1) niezbędne - żelazo, miedź, molibden, kobalt, cynk, mangan, chrom, jod, cyna, selen, wanad.

2) prawdopodobnie niezbędne - fluor, nikiel, brom, arsen, kadm, bar, stront, glin,

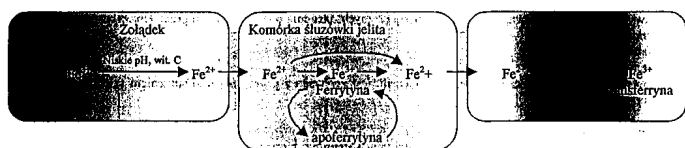
3) nie niezbędne - antymon, ołów, rtęć.

Wyróżniamy również grupę pierwiastków potrzebnych: żelazo, miedź, molibden, kobalt, cynk, mangan, chrom, jod, selen, fluor.

Pierwiastek	Niedobór	Nadmiar
Żelazo	niedokrwistość	Hemochromatoza
Miedź	Niedokrwistość	Choroba Wilsona
Cynk	Karłowatość Niedomoga gonad	
Kobalt	Niedokrwistość	Niedomoga serca
Mangan	Dysfunkcja gonad Nieprawidłowy kościac	Policystemia Ataksja
Selen	Martwica wątroby	
Chrom	Zaburzenia przemiany glukozy	
Ołów		Anemia, encephalitis, neuritis
Kadm		Zapalenie nerek
Rtęć		Zapalenie mózgu i nerwów

ŻELAZO

- 3-5g
- 66% związane jest z Hb, 4,5% z mioglobina, 0,2% z cytochromami, katalazami i peroksydazami, 10% z enzymami niehemoproteinowymi, 0,2% z transferyną, 19% stanowi żelazo zapasowe (ferrytyna, hemosyderyna).
Pobór u mężczyzn 1mg/dobę, a u kobiet 3mg/dobę. Wchłania się tylko 10% spożytego żelaza.



Niedobór spowodowany jest niedostateczną zawartością żelaza w pokarmie, lub utratą dużej ilości krwi, w przewlekłych i utajonych krwawieniach. Niedobór wywołuje niedokrwistość mikrocytarną (małe krwinki) i hipochromalyczną (niski poziom hemoglobiny c krwinkach).

Nadmiar żelaza objawia się zespołem hemochromatozy - w wieku średnim, związany jest z tworzenie ferrytyny lub swoistą chemochromatozą (wrodzona choroba, niekontrolowane wchłanianie w przewodzie pokarmowym, kumulacja w wątrobie, trzustce i sercu, co powoduje marskość wątroby, cukrzycę u niedomogi).

MIEDŹ

- Występuje w prawie w każdej tkance.
- Wchodzi w skład enzymów oksydacyjnych
- oksydaza cytochromu c₁
- oksydaza lizynowa
- oksydaza witaminy C
- monoaminooksydaza
- tyrozydaza
- katalaza - 2-3 mg na dobę - miedź łączy się z albuminami w początkowej fazie wchłaniania, następnie w 90% wiąże się z a-globulinami tworząc ceruloplazminę. Wzrost ceruloplazminy obserwujemy w chorobach zakaźnych, zawałach, nadczynności tarczycy, marskości wątroby, u noworodków i kobiet w ciąży. Spadek ceruloplazminy występuje u wcześniaków, narażonych na chorobę Wilsona (zwyrodnienie soczewkowo-wątrobowe). - Zespół Menkera - jest to wrodzony niedobór czynnika błonowego przenoszącego miedź, jest zależny od ATP. Miedź nie przechodzi przez błonę do krwi, zaś wewnętrzny transport komórkowy jest prawidłowy. Prowadzi to do niedorozwoju umysłowego, łamliwości włosów, demineralizacji kości.

CYNK

- 1,5-2,5g w tkankach

- 10-15 mg/dobę
- resorbowany w dwunastnicy
- magazynowany w erytrocytach (75% cynku znajduje się w anhidryzie węglanowej we krwi, następnie w gruczołach krokowym, tkance kostnej, włosach).
- Jest to integralny składnik metaloenzymów (około 20), występuje również w postaci jonowej. - Występowanie:
> anhidryza węglanowa
> alkaliczna fosfataza
> karboksypeptydaza trzustkowa
> polimerazy RNA i DNA
> dehydrogenaza alkoholowa, mleczanowa i glutaminianowa. \$ Aktywuje enzymu (arginaza, enolaza, peptydaza). \$ Stabilizuje błonę komórkową.

KOBALT

- Pobierany w przewodzie pokarmowym w 100%, szybko wydalany. - Związany z witaminą B₁₂.
> koenzym izomeryzacji metylomalonyloCoA do burztynyloCoA
> metylacji homocysteiny do metioniny
> metylacji urydyny do tymidyny - Niedobór - niedokrwistość złośliwa, niedobór erythropoetyny.

MANGAN

- Aktywator wielu enzymów
> dezoksyrybonukleazy
> fosfatazy
> karboksylazy (pirogonianowej)
> enzym katalizujący polimeryzację. - 3-9 mg/dobę
- 0,2-4,0 ug%, najczęściej znajduje się w wątrobie. - Związany z arginazą (Arg w moczniku i omytynę). - Wydalany przez przewód pokarmowy. - Nadmiar -> uszkodzenie pnia mózgu (neurotoksyczność), wywołuje objawy Parkinsona

JOD

- 20-50 mg w organizmie, 80% w tarczycy
- 0,05-0,1 mg/dobę
- resorbowany jako jodek
- wydalany przez nerki
- zużywany do biosyntezy T₃ i T₄.

FLUOR

- 0,1 mg%
- bierze udział w procesach wapnienia kości i tworzenia szkliwa zębowego
- nie jest niezbędny dla procesów komórkowych, jest za to istotny dla zdrowia - chroni przed próchnicą. - W dużych ilościach ma właściwości toksyczne, hamuje działanie enzymów glikolitycznych ustroju, strącając Ca powoduje jego niedobór.

MOLIBDEN

- Udział w przenoszeniu elektronów przez flawoproteiny (oksydaza ksantynowa).

SELEN

- Składnik peroksydazy glutationowej — rozkłada nadtlarki.

CHROM

- Wpływa na tolerancję glukozy
- Kofaktor reakcji miedzy insuliną, a receptorem błonowym narządów docelowych.

BROM

- 1mg%
- W miedzymózgowiu, w gruczołach wydzielania wewnętrznego, w przysadce, tarczycy, nadnerczach.

KRZEM

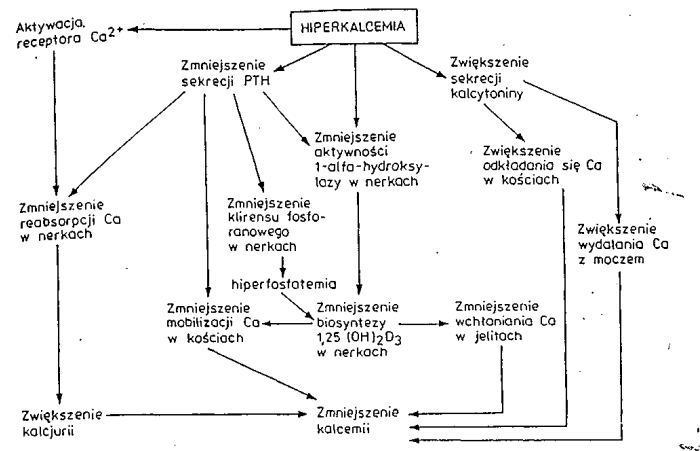
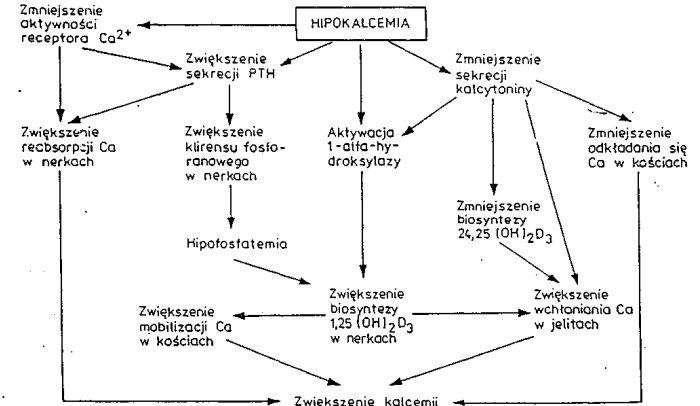
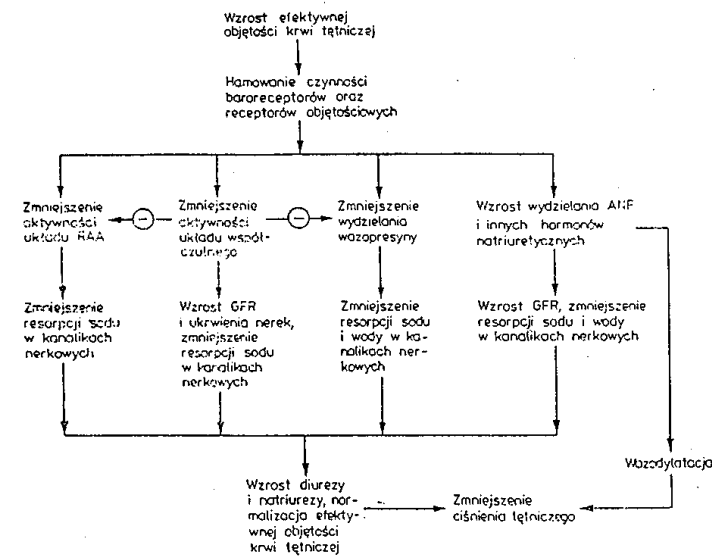
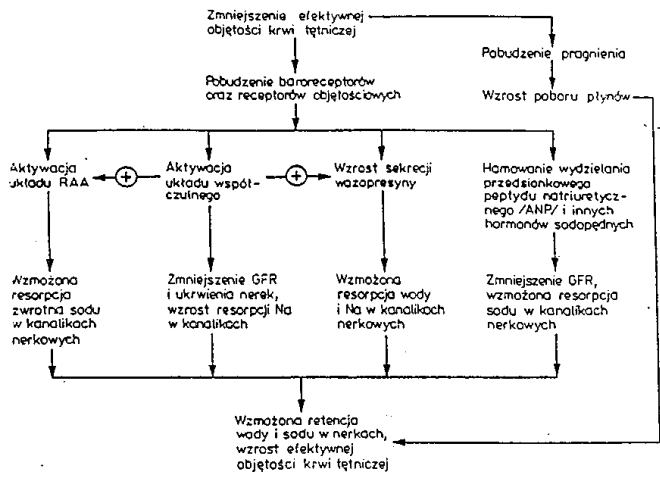
- Udział w przemianach lipidów.
- Pobudza rozrost tkanki łącznej w płucach i narządach, powodując ich zwłóknienie.

GLIN

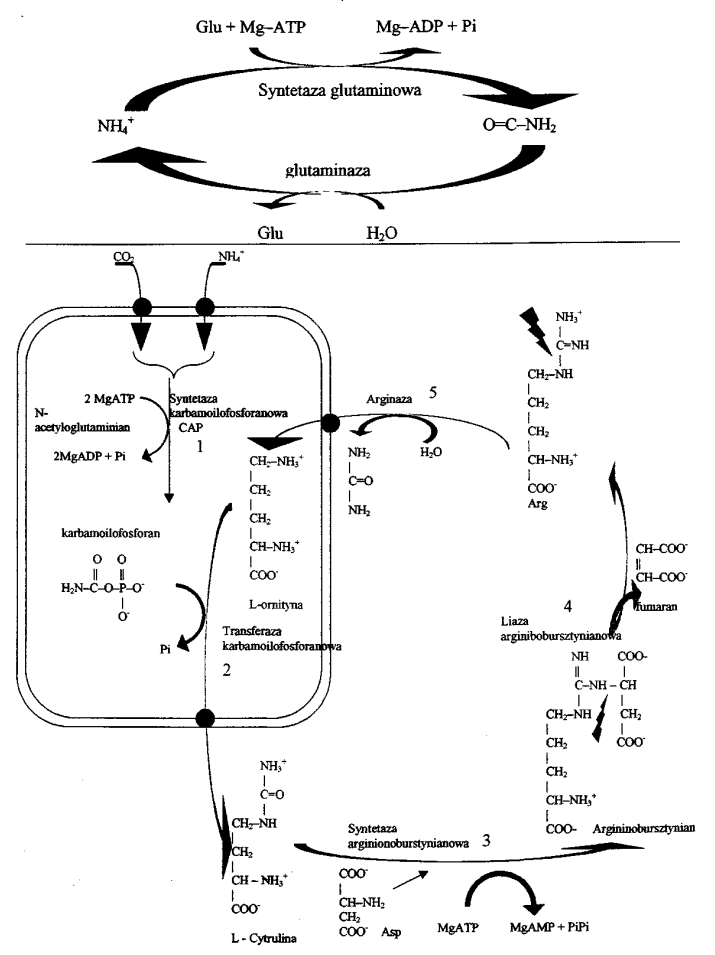
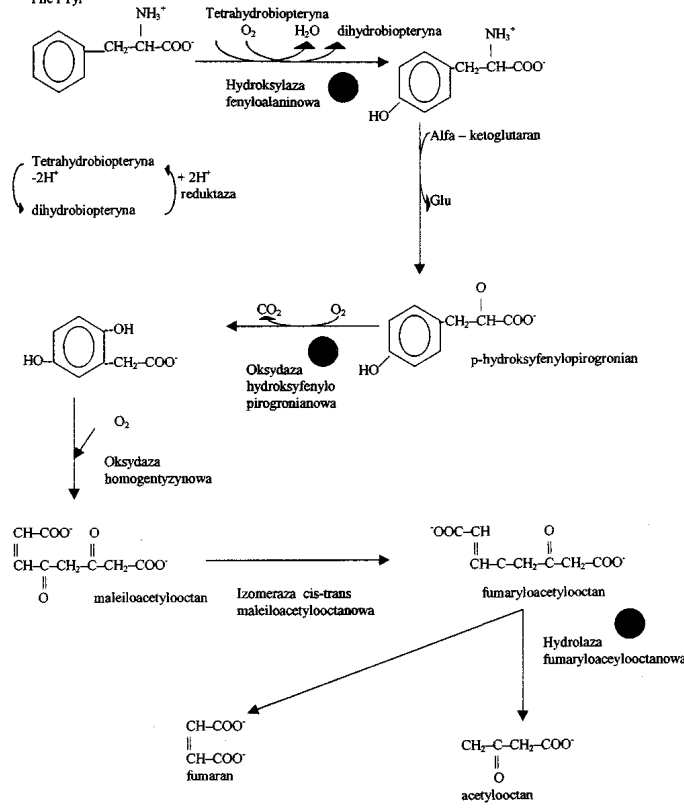
Aktywuje dehydrogenazy w układzie cytochromów.

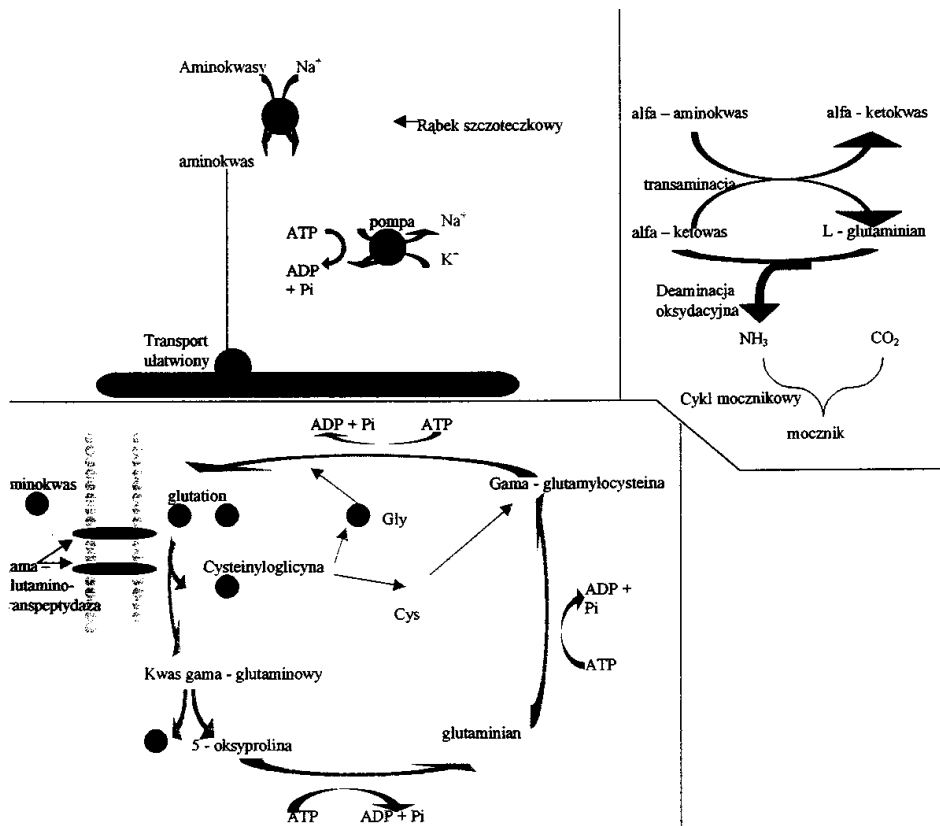
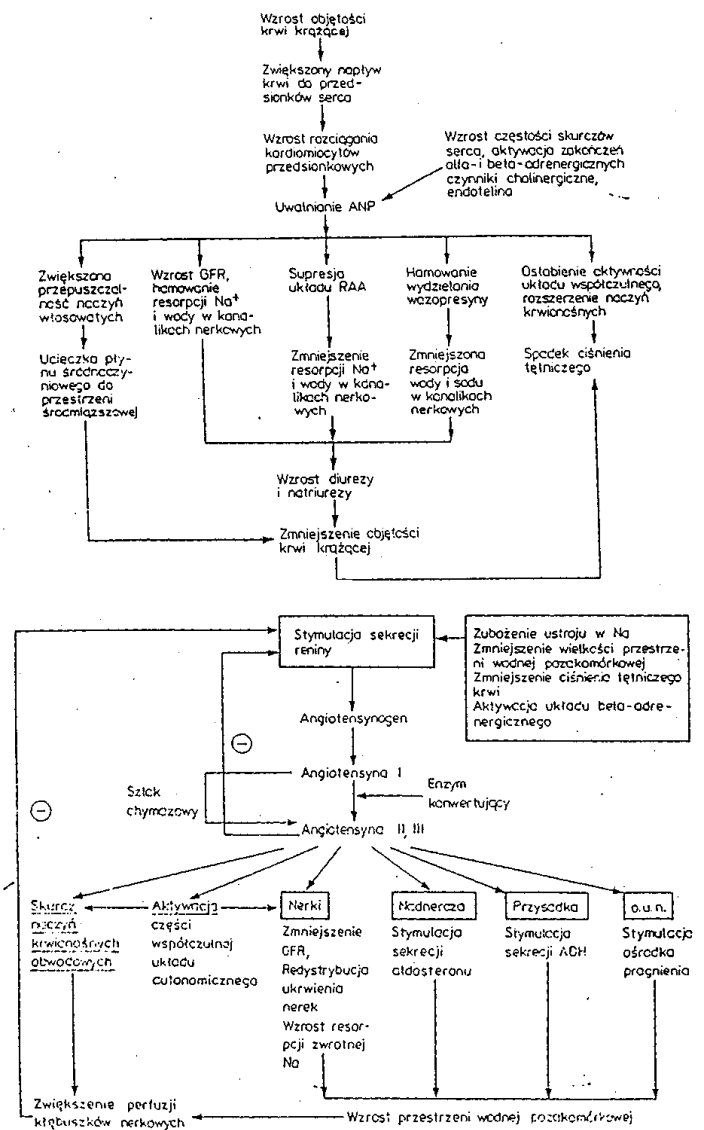
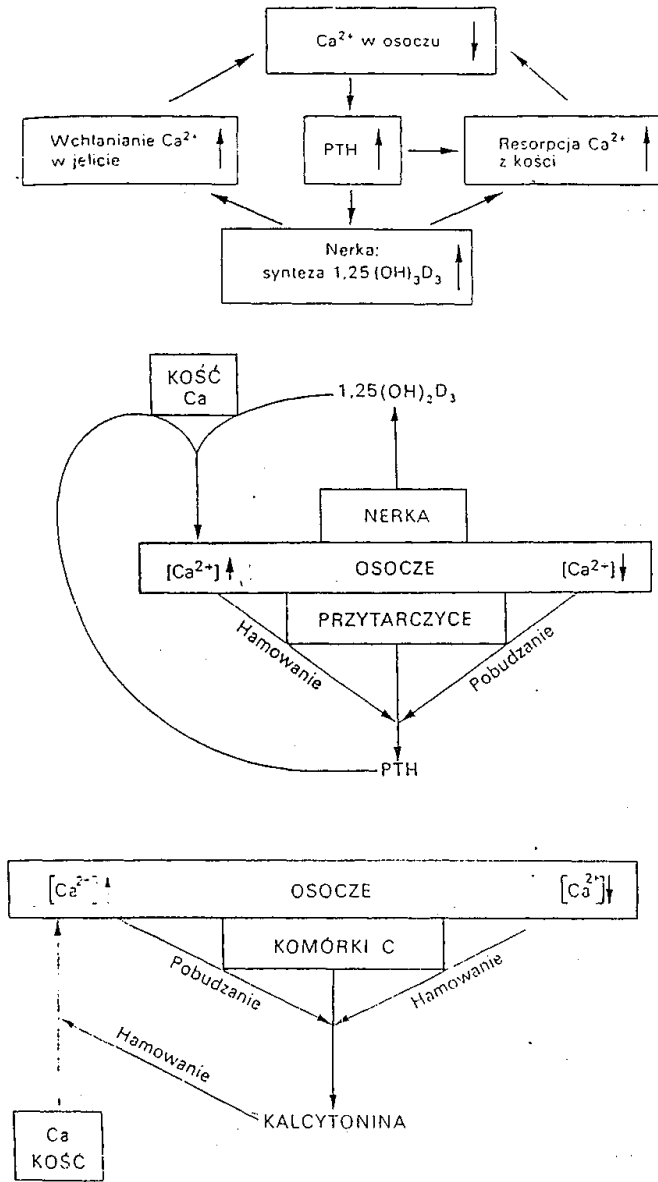
CYNA

Dużo w jamie ustnej i erytrocytach.



Do wykładu z Biochemii, wykład III. Metabolizm Aminokwasów, Phe i Tyr





Do wykładu z biochemii, wykład II.

N-acetyloglutaminian -> jest aktywatorem enzymu (1), jego przyłączenie do enzymu powoduje zmianę konformacyjną, zwiększającą powinowactwo syntetazy do ATP. Zwiększa ilość jonów amonowych w komórce (?).

Choroby związane z brakiem enzymów Brak:

- (1) - wywołuje hiperamonemię typu I (dziedziczenie autosomalne)
- (2) - wywołuje hiperamonemię typu II (dziedziczenie sprzężone z chromosomem X) > przerywana ataksja, śpiączka -> opóźnienie umysłowe > podwyższony poziom glutaminy we krwi
- (3) - wywołuje cytrulinemię, zwiększenie ilości cytruliny > zwiększone wydalanie cytruliny z moczem > choroba autosomalna, recesywna
- (4) - wywołuje argininobursztynurię > zwiększone stężenie argininobursztynianu w osoczu, moczu i płynie

mózgowo-rdzeniowym > choroba autosomalna, recesywna > możliwość diagnostyki prenatalnej > objawy pojawiają się w 2 r.z., prowadzą do śmierci

(5) - wywołuje hiperarginemię

> zwiększony poziom Arg we krwi, płynie mózgowo - rdzeniowym > niski poziom arginazy w erytrocytach

W wyżej wymienionych chorobach w celu usunięcia amoniaku podaje się fenylooctan lub benzoosan w celu usunięcia Gly lub Gln, które w swojej budowie mają grupę amonową.

Benzoosan + ATP <-> AMP-benzoosan + CoA <-> benzoilo-CoA + PPn Benzoilo-CoA + Gly -> kwas hipurowy (wydalany z moczem, nazwa związana z odkryciem go w moczu konia)

Fenylooctan + ATP <-> AMP-fenylooctan + acetylo-CoA <-> fenyloacetylo-CoA

Fenyloacetylo - CoA + Gln -> fenyloacetyloglutamina

