

PROTEINI

ULOGA I KLINIČKI ZNAČAJ

Proteini

Uloga u organizmu

- ❑ **Najviša forma kretanja materije - razmišljanje**
- ❑ Osnovni gradivni materijal
 - ćelija,
 - organa i
 - međućelijskih supstanci
- ❑ **Rast i održavanje organizma**

- ❑ **Energetska uloga**
 - Promet materija
 - Promet energija
- ❑ **Kontrakcija mišića**
- ❑ **Razmnožavanje**
- ❑ **Nosioci nasljednih osobina.**
- ❑ **Ravnoteža tečnosti i soli**
- ❑ **Kiselo-bazna ravnoteža**

Proteini

Uloga u organizmu

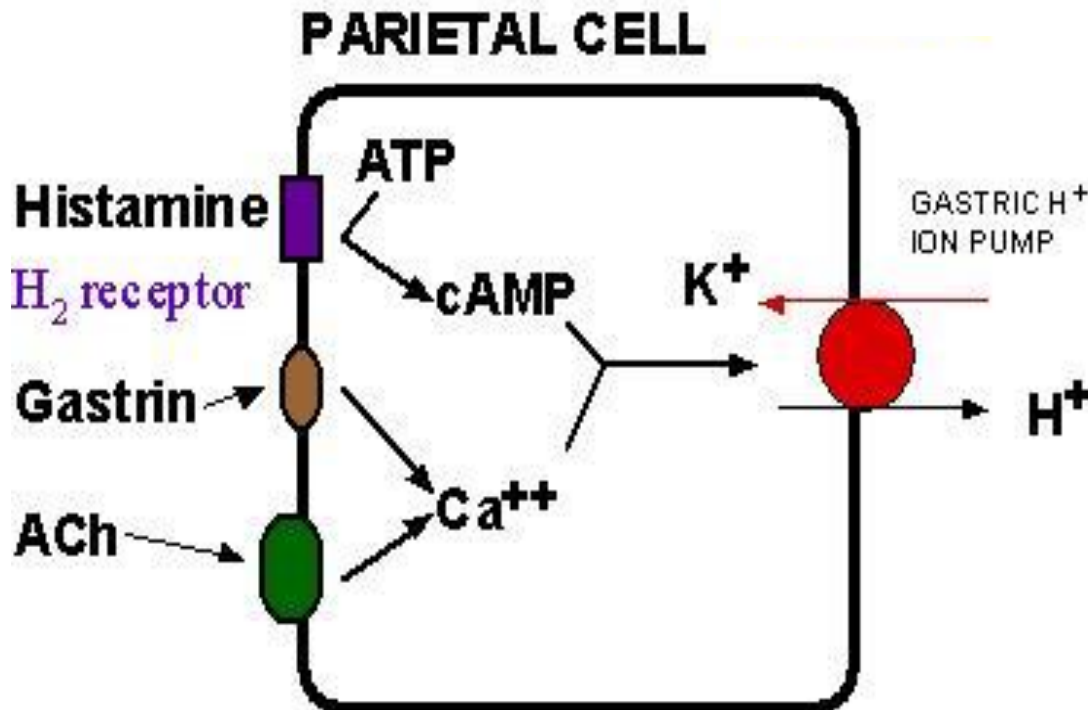
Ulaze u sastav:

- Enzima
- Hormona
 - insulin,
 - hormoni hipofize,
 - paratireoidni hormoni

- Pigmenta
- Antitijela
- Transport
 - kiseonika (hemoglobin),
 - masti,
 - šećera,
 - vitamina,
 - nekih minerala i
 - hormona
- Druge funkcije

Varenje proteina u želucu

- HCl luče želudčane žlijezde pod dejstvom ***ACETILHOLINA, GASTRINA I HISTAMINA***

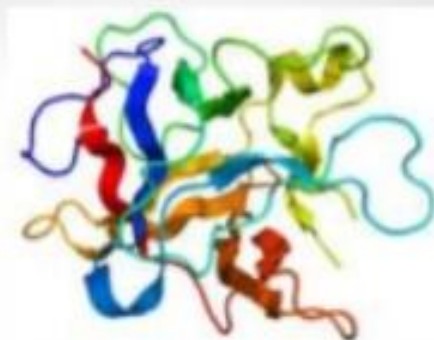


Varenje proteina i apsorbcija aminokiselina – key points

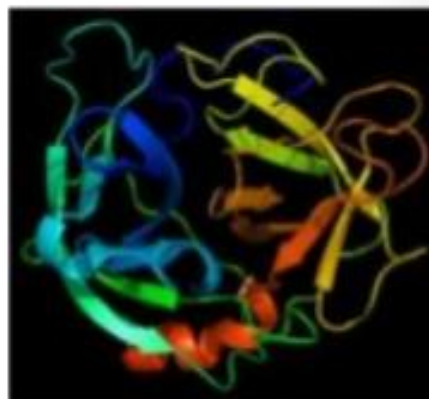
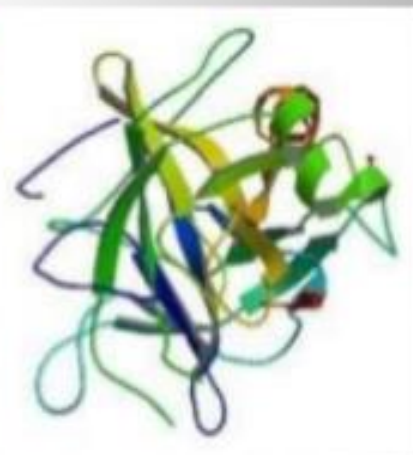
- **Proteaze** (proteolitički enzimi) razgrađuju proteine iz hrane do peptida i aminokiselina. Svoje djelovanje ispoljavaju u želucu i crijevima.
- **Pepsin** započinje varenje proteina u želucu.
- Neaktivni **zimogeni** izlučuju se iz pankreasa, a zatim se aktiviraju u crijevima i nastavljaju dalje varenje proteina.
- Za potpunu razgradnju proteina potrebni su i **enzimi koji se sintetišu u crijevnom epitelu**.
- Nakon proteolize proteina, dobijene aminokiselin se transportuju **olakšanom difuzijom i aktivnim transpotom** u cirkulaciju.
- Sistem za transport aminokiselina sličan je onom za prenos monosaharida.

Uloga proteolitičkih enzima u varenju proteina

- Varenje u želucu
- Pepsin
- Varenje u duodenumu
- Tripsin
- Himotripsin
- Elastaza
- Karboksipeptidaze A i B
- Varenje u tankom crevu
- Endopeptidaze
- Aminopeptidaze
- Dipeptidaze



Tripsin



ipsin

Elastaza

- U svim ćelijama razgradnja i promet proteina se odvija **neprekidno**.
- U razlaganju proteina unutar ćelija, učestvuju lizosomalni enzimi - **KATEPSINI**.
- Proteini se usmjeravaju u proces razgradnje, tako što se za njih kovalentno vezuju mali proteini – **UBIKVITINI**.
- Nastali kompleks stupa u interakciju sa **proteozomom**, velikim kompleksom koji omogućava razgradnju proteina u ATP zavisnom procesu, na svoje gradivne komponente.
- Nastale aminokiseline se **koriste za sintezu** novih proteina, glukoneogenezu ili dobijanje energije.

Razgradnja staničnih proteina

Struktura ubikvitina

Ubikvitin je biljeg kojim se obilježavaju stanični proteini koji će se razgraditi.

Izduženi C-terminalni kraj ubikvitina povezuje se na proteine "osuđene" za razgradnju. Na slici, označeni su i lizini ubikvitina, uključujući i lizin 48, koji je glavna poveznica s dodatnim ubikvitinima, te nastaje poli-ubikvitinski biljeg na proteinu kojeg se treba razgraditi.

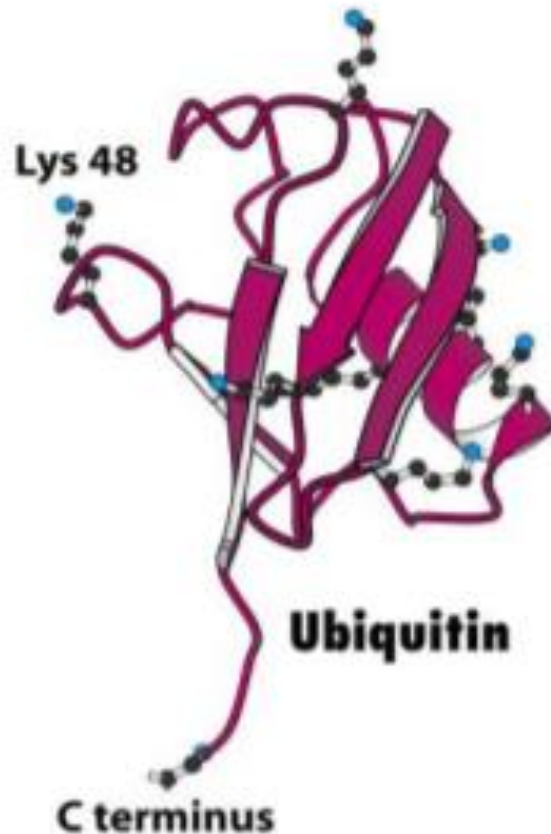


Figure 23-2
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Karboksilni kraj ubikvitina, glicin, kovalentno se veže za jedan lizinski ostatak koji se nalazi na proteinu kojeg stanica želi razgraditi.

Razgradnja staničnih proteina

Tri enzima sudjeluju u procesu vezivanja ubikvitina za protein: ubikvitin aktivirajući enzim, **E1**; ubikvitin konjugirajući enzim, **E2**; ubikvitin-protein ligaza, **E3**.

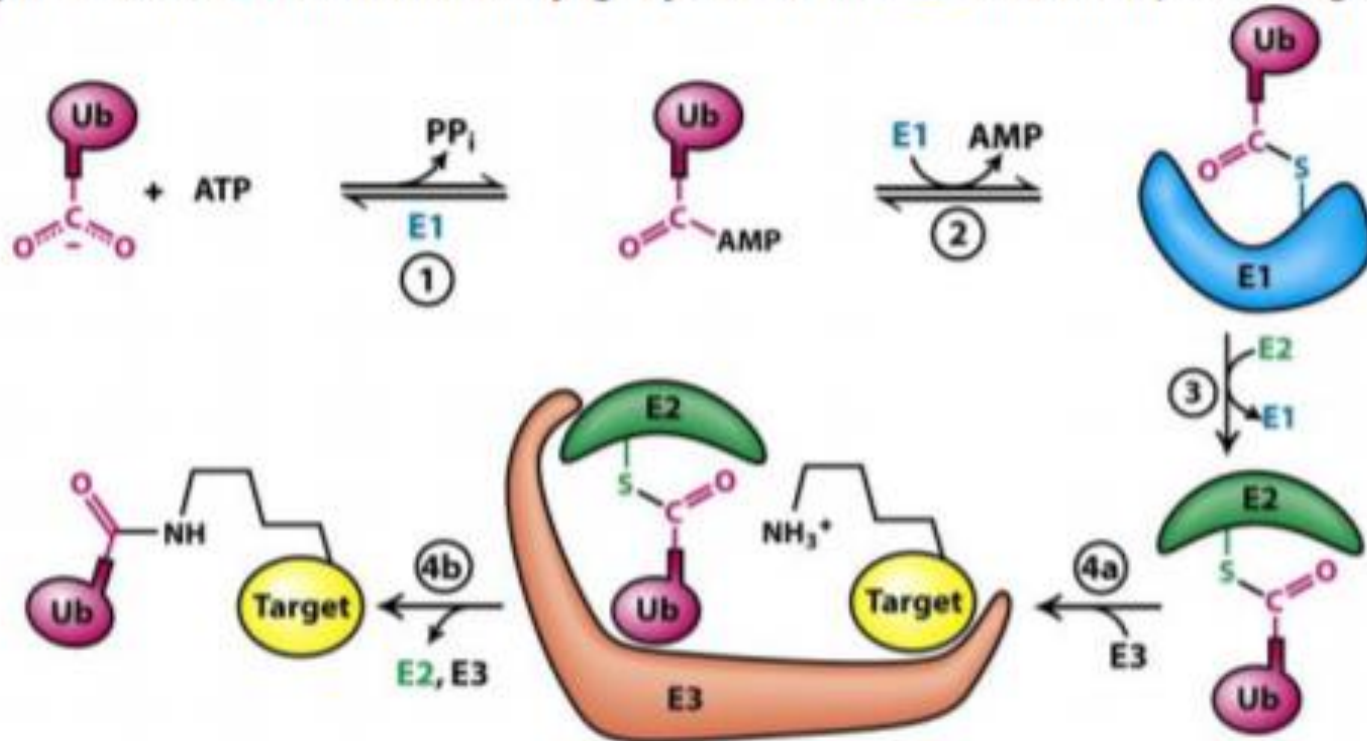
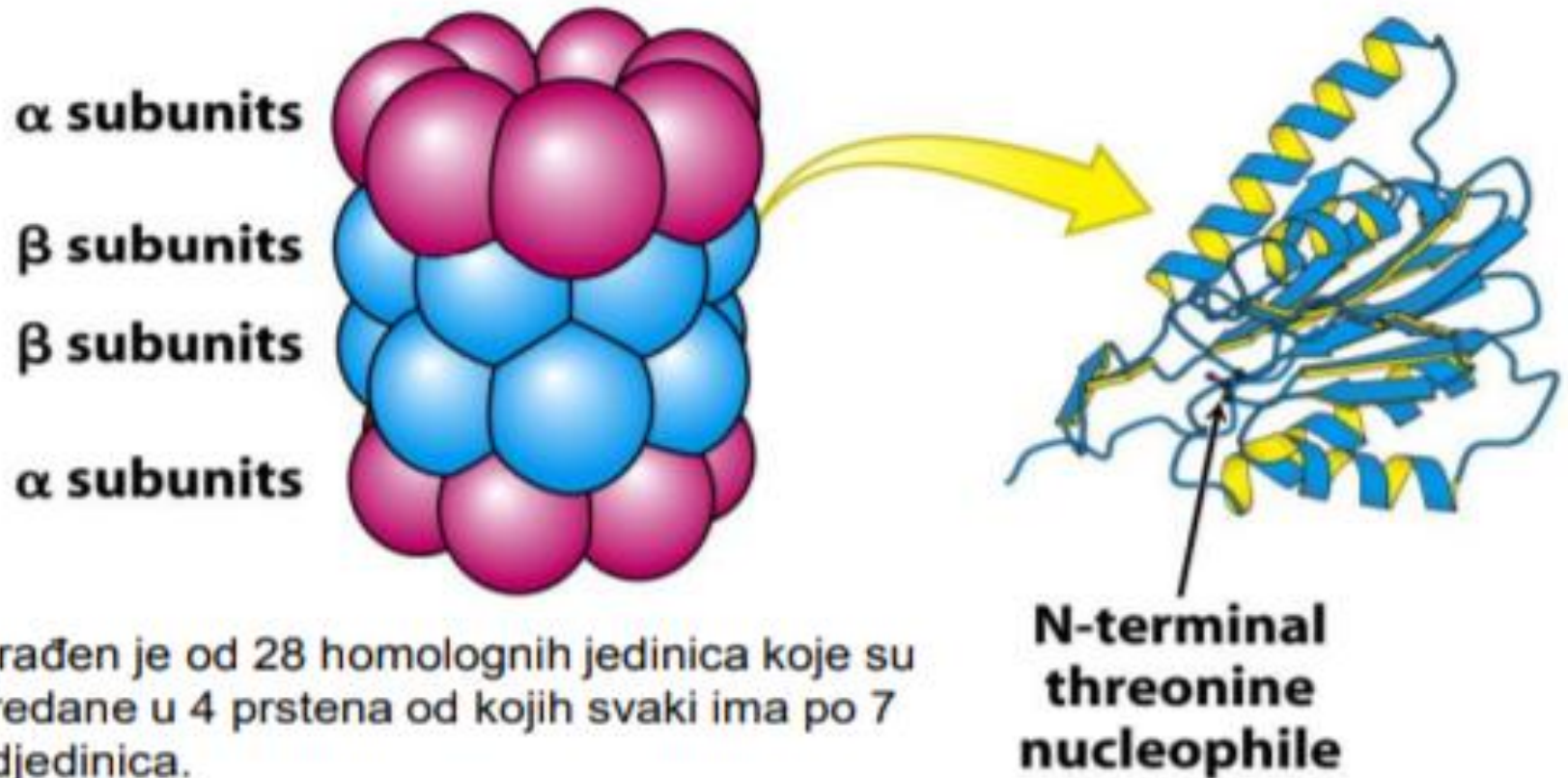


Figure 23-3
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

E1 adenilira ubikvitin (1) i prenosi ubikvitin na jedan od vlastitih cisteina (2). Ubikvitin se prenosi na cisteinski ostatak **E2** (3); Ubikvitin protein ligaza, **E3**, povezuje ubikvitin s lizinskim ostatkom proteina kojeg se želi razgraditi (4a i 4b).

Razgradnja staničnih proteina 20S proteasom (“katalitička bačva”)



Stanični procesi reguliraju se razgradnjom proteina

Procesi koji se reguliraju razgradnjom staničnih proteina

Transkripcija gena

Progresija staničnog ciklusa

Organogeneza

Cirkadijski ciklusi

Upale

Supresija tumora

Sinteza kolesterola

Razgradnja i procesiranje antigena

Razgradnja aminokiselina

- Aminokiseline se u organizmu životinja uglavnom razgrađuju reakcijama deaminacije i dekarboksilacije, kao i procesom konačne razgradnje tako nastalih međuproizvoda, do CO_2 i H_2O .
- Treći tip reakcija, koje su prisutne u pojedinim fazama razgradnje aminokiselina, su reakcije transaminacije.
- U toku odvijanja ovih reakcija dolazi do prenošenja aminogrupe sa jedne aminokiseline (npr. alanina) na ketokiselinu (npr. -ketoglutarat) pri čemu nastaje druga aminokiselina (glutamat).

Deaminacija aminokiselina

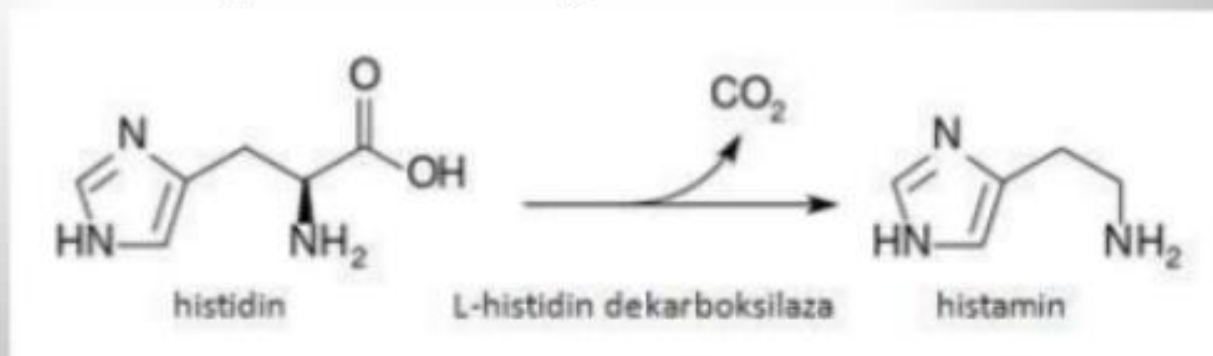
- U reakcijama deaminacije azot, koji je vezan u obliku -aminogrupe, se oslobađa u obliku amonijaka.
- Imajući u vidu da je amonijak i u malim koncentracijama veoma jak ćelijski otrov, organizam ga posebnim metaboličkim procesima prevodi u oblik koji se potom jednostavno uklanja, pri čemu se na ovaj način detoksikuje.

Deaminacija aminokiselina

- Oksidativna deaminacija - odvija se uz katalitičko delovanje dehidrogenaza, koje najčešće sadrže kao koenzimsku grupu FAD.
- Proces deaminacije počinje dehidrogenovanjem pri čemu nastaje iminokiselina, koja u sledećoj reakcionoj fazi daje -ketokiselinu i amonijak.
- Vodonik koji se izdvaja iz aminokiseline završava u respiratornom lancu gde sa kiseonikom daje konačan proizvod vodu.
- U mitohondrijama svih tkiva nalazi se enzim glutamat dehidrogenaza (GDH), koja prenosi vodonik na NAD^+ prema reakciji :
- $\text{Glutamat} + \text{NAD}^+ \xrightarrow{\text{GDH}} \alpha\text{-ketoglutarat} + \text{NADH} + \text{NH}_4^+$

Dekarboksilacija

- Drugi reakcioni put razgradnje aminokiselina predstavlja dekarboksilacija pri kojoj uz izdvajanje ugljendioksida iz aminokiseline nastaje primarni amin, čija se strukturna formula izvodi iz formule dekarboksilovane aminokiseline.
- Ovako nastali amini nazivaju se biogeni amini i imaju izrazito farmakološko delovanje, a učestvuju i kao značajni prekursori hormona, koenzima i drugih biološki važnih molekula.
- Histamin koji nastaje dekarboksilacijom histidina, u prisustvu enzima histidin dekarboksilaze pored ostalih efekata, utiče stimulatorno na lučenje želudačnog soka



Transaminacija aminokiselina

- Transaminacija predstavlja reakcioni put u toku koga dolazi do prenosa aminogrupe sa jedne aminokiseline na α -ketokiselinu pri čemu dolazi do nastajanja neesencijalne aminokiseline.
- Samim tim ne dolazi do izdvajanja slobodnog amonijaka. Ovim procesom praktično se povećava količina neesencijalnih aminokiselina u organizmu koje intenziviraju biosintezu proteina.
- U procesu transaminacije glutamat predstavlja osnovnog donora aminogrupe, dok se ketoglutarat pojavljuje kao glavni akceptor amino grupe.
- Enzimi koji katalizuju reakcije transaminacije najčešće imaju kao koenzimsku grupu piridoksalfosfat čija aldehidna grupa ima veoma bitnu ulogu u procesu prenosa aminogrupe.

Pregled razgradnje aminokiselina u sisavaca

Razgradnjom oslobođene amino skupine kao i skeleti ugljikovih atoma ulaze u različite metaboličke putove koji se međusobno povezani.

Svaka aminokiselina sadrži amino skupinu te metabolizam aminokiselina uključuje reakciju u kojoj se α -amino skupina uklanja s ugljikovog skeleta. Oslobođeni amonijevi ioni ulaze u druge biosintetske putove ili se uklanjaju. Amonijak je toksičan te različiti organizmi uklanjaju višak amonijaka na različite načine. Ugljikovi skeleti, ovisno o metaboličkom stanju organizma, ili se dalje oksidativno razgrađuju ili se koriste kao međuprodukti koji ulaze u druge biosintetske procese.

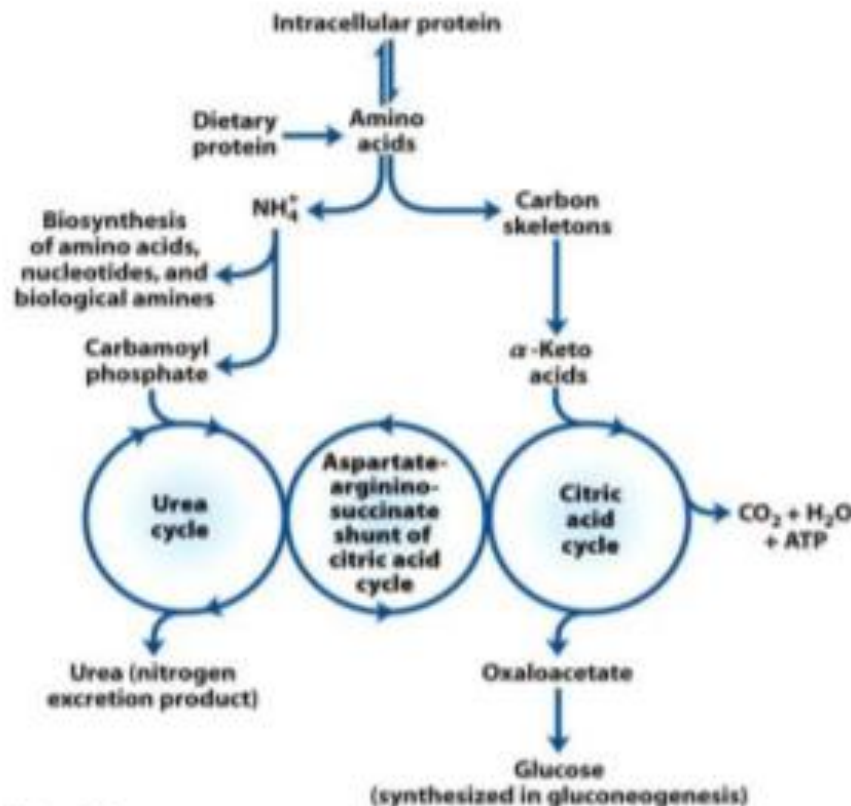


Figure 18-1
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Dušik je rasprostranjen u atmosferi ali je previše inertan da bi se mogao koristiti u većini biokemijskih reakcija. Samo mali broj mikroorganizama može iskoristiti i prevesti N_2 u NH_3 koji se može iskoristiti u biokemijskim reakcijama.

Stanični proteini razgrađuju se različitim brzinama

Iako su neki stanični proteini vrlo stabilni, proteini koji sudjeluju u regulacijama metabolizma imaju vrlo kratko vrijeme poluživota. Isto tako stanice uklanjaju oštećene proteine i ovi proteini moraju se ukloniti prije nego što se nakupe i agregiraju.

Vremena poluživota različitih proteina jako su različita. Npr. ornitin dekarboksilazi vrijeme poluživota iznosi 11 minuta, dok je vrijeme poluživota hemoglobina vrlo dugo, tj. ovisi o vremenu života eritrocita, a vrijeme života kristalina, proteina u leći oka, ovisi o vremenu života organizma.

Vremena poluživota proteina ovise o aminokiselinama na NH₃-kraju proteina

Highly stabilizing residues

($t_{1/2} > 20$ hours)

Ala	Cys	Gly	Met
Pro	Ser	Thr	Val

Intrinsically destabilizing residues

($t_{1/2} = 2$ to 30 minutes)

Arg	His	Ile	Leu
Lys	Phe	Trp	Tyr

Destabilizing residues after chemical modification

($t_{1/2} = 3$ to 30 minutes)

Asn	Asp	Gln	Glu
-----	-----	-----	-----

Source: J. W. Tobias, T. E. Schrader, G. Rocap, and A. Varshavsky. *Science* 254(1991):1374-1377.

Balans nitrogena

Protein energy malnutrition (PEM)



PROTEINSKI PROMET I AZOTNA RAVNOTEŽA

Proteinski promet

- Sastoji se iz dva dijela:
 1. Proteinska sinteza (anabolizam)
 2. Proteinska razgradnja (katabolizam)

Preporučeni dnevni unos

proteina – 0.83 g/kg/TM

Sportisti - 1,2 - 1,8 g/kg/TM

Azotna ravnoteža

- Formula izračunavanja:

$$N = N_{(\text{ukupni unos proteina})} - N_{(\text{u urinu})} - N_{(\text{u izmetu})} - N_{(\text{u znoju})}$$

$N = 0$ – **AZOTNA RAVNOTEŽA**

$N = \nearrow 0$ – **POZITIVNA AZOTNA RAVNOTEŽA**

Proteini se koriste za sintezu tkiva (mišića)

$N = \searrow 0$ – **NEGATIVNA AZOTNA RAVNOTEŽA**

Proteini se koriste za sintezu energije (razgradnja mišića)

HORMONSKA REGULACIJA PROTEINA

- Metabolizam proteina je pod kontrolom sledećih hormona:

1. *Hormona rasta* – anabolički efekat

Poremećaj – patuljasti rast i akromegalija

Anabolik u sportu

2. *Androgeni* – anabolički efekat

Najčešće korišten DOPING u sportu

3. *Glukokortikoidi i glikogena* - katabolici

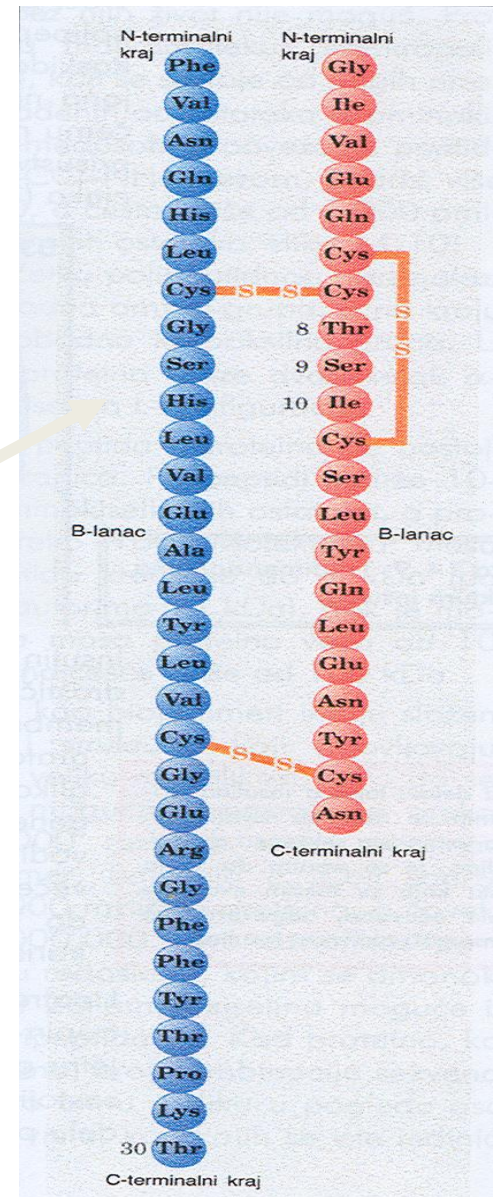
4. *Insulina* - anabolik

5. *Tireoidni hormoni* - katabolici

Obnavljanje proteina

- Svaki protein ima svoj **poluživot** ($T_{1/2}$), nakon čega se razgrađuje i ponovo sintetiše
- Resinteza proteina – **transkripcija**
- Molekularna biologija omogućila „dešifriranje“ genetskih kodova na osnovu kojih se transkribuju proteini (redoslijed aminokiselina u pojedinim proteinima)

- Prvi **peptid** kome je određena primarna struktura bio je **insulin** (Sanger, 1953)
- Prvi **protein**, kome je odrađena primarna struktura - **ribonukleaza** iz pankreasa (Hirs, Stein i Moor, 1959).

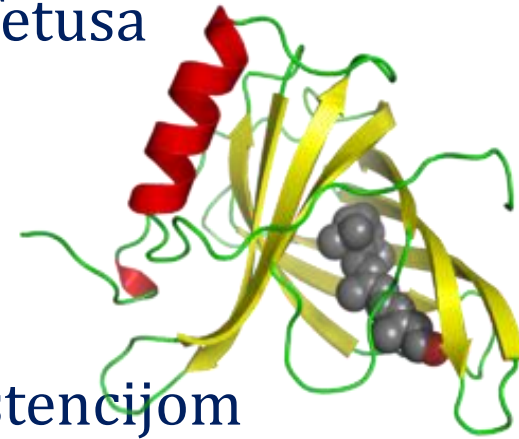


PROTEINI PLAZME

- Do danas je moguće **identifikovati preko 300 proteina** u organizmu, a smatra se da ljudski genom sadrži šifru, za oko desetine hiljada proteina.
- U kliničkim ispitivanjima **najvažniji su proteini koji su najpristupačniji**, tj. oni iz bioloških uzoraka dostupni za laboratorijsko ispitivanje
- Najznačajniji proteini plazme imaju višestruke uloge u organizmu

PREALBUMIN I RETINOL BINDING PROTEIN (RBP)

- RBP **transportni protein** za retinol (vitamin A) i hormona štitaste žlijezde
- Sintetiše se **u jetri**
- Klinički značaj u **determinaciji mase visceralnih proteina (nutritivni status)**
- Važna uloga u **modulaciji genske ekspresije** i razvoju i diferencijaciji tkiva – značaj za pravilan razvoj fetusa
- Geni zaduženi za njegovu ekspresiju –
RBP1, RBP2, RBP5, RBP7 – ćelijski;
RBP3 – intestinalni;
RBP4- plazma
- **RBP4** polimorfizam u vezi sa insulinskom rezistencijom
- **Snižene koncentracije** kod maligniteta, inflamacija, oboljenja jetre, malnutricija



ALBUMIN

- **Sintetiše se u jetri**, najzastupljenija frakcija od ukupne količine proteina plazme
- Višestruka **uloga u organizmu**:
 - Transportna – MK, hormoni, elektroliti, lijekovi
 - Koloidno-onkotski pritisak
 - Reaktant akutne faze
 - Antioksidativna
- Klinički značaj - **hipoalbuminemija**



ALFA1 ANTITRIPSIN (ATT)

- **Inhibitor** širokog opsega proteaza
- Sinteza **u jetri**
- Najznačajnija uloga – **štiti tkiva od enzima** (tripsin, himotripsin, kalikrein) a najznačajnije je djelovanje na enzime inflamatornih ćelija - **neutrofilna ELASTAZA**
- povećana koncentracija elastaze – **emfizem pluća**



ALFA1 KISELI GLIKOPROTEIN

- Globularni protein, **orozomukoid** jer je bogat heksozom, heksozaminom i sijalinom kiselinom
- **Sinteza u jetri**
- **Izoelektrična tačka 2.8-3.8**
- **Reaktant akutne faze** – povećanje kod sistemskog oštećenja tkiva, infekcije,...
- Ekspresija gena E je pod kontrolom velikog broja genskih medijatora (**IL1 i 6, TNF**)

ALFA 1 FETOPROTEIN

- Po molekularnoj težini **jedan od najvećih** proteina plazme
- **Sinteza u jetri** a tokom trudnoće sinteza od strane **placente** sa ulogom sprečavanja viralizacije fetusa
- Klinički značaj kao **tumor marker** kod postavljanja dijagnoze karcinoma jetre i germinativnih ćelija kao i kod urođenih **malformacija CNS**

HAPTOGLOBIN

- **Glikoprotein**, sinteza u jetri, ali i u koži, plućima i bubrezima
- U plazmi, **veže slobodan hemoglobin**, otpušten iz eritrocita a nastali kompleks se brzo metaboliše u RES (najznačajnija slezina)
- Ispoljava **oksidativnu aktivnost**
- **Klinički značajan** u dijagnozi i praćenju intravaskularne hemolize (hemolitička anemija), KVB kod DM1, Parkinsona, šizofrenije i **REAKTANT AKUTNE FAZE**

ALFA 2 MAKROGLOBULIN

- **Makroglobulin** plazme, pripada alfa 2 frakciji, sintetiše se u jetri, makrofagama, adrenokortikalnim ćelijama i fibroblastima
- **Inaktivniše proteinaze** - plazmin, kalikrein i trombin, i druge – inhibicija koagulacije
- **Karier je** za veliki broj faktora rasta i citokina (PDGF, TGF, insulin, IL-1)
- Klinički značaj u dijagnozi i praćenju nefrotskog sindroma

CERULOPLAZMIN

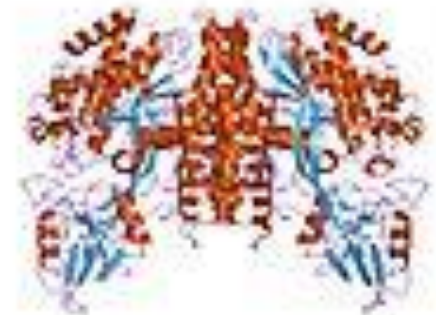
- **Glikoprotein** koji sadrži Cu
- Ispoljava **ferooksidaznu aktivnost** ($\text{Fe}^{2+} - \text{Fe}^{3+}$)
- **Antioksidans** – sprečava lipidnu peroksidaciju i sintezu slobodnih radikala
- **Kasni reaktant akutne faze**
- **Klinički značaj** – pored inflamacije, malapsorpcije, malnutricije, nefroze, najvažniji je kod dijagnoze **Wilsonove bolesti**
- Gen odgovoran za nastanak Wilsonove bolesti je **ATP7B na 13 X**, identifikovano oko 30 različitih mutacija
- Klinička slika – hepatolentikularna degeneracija uzrokovana Cu (Kayser-Fleisherov prsten)

TRANSFERIN

- Plazma glikoprotein, koji kontroliše nivo slobodnog Fe u biološkim tečnostima
- Sinteza proteina zavisi od koncentracije Fe u krvi (negativna povratna sprega)
- Za sebe veže 2 molekule feri gvožđa, transportuje do ćelija na kojima se nalazi receptor za transferin. R ispoljava ATP aktivnost i funkcioniše pri pH 5.5
- R se nalaze na ćelijama jetre, mukoze, makrofaga i urođenog imunog sistema
- Negativan reaktant akutne faze

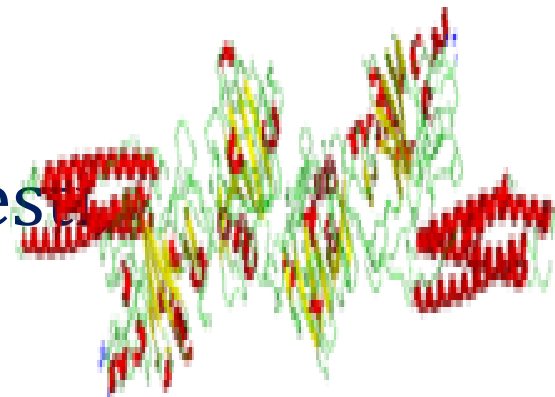
TRANSFERIN

- Istraživanja pokazuju da stupa u **interakciju sa IGF 2 i IGFBP**
- **Klinički značaj** kod:
 1. Anemija (hipohromna)
 2. Atransferinemije
 3. Mikrocitna anemija (nefrotski sindrom – gubitak velikog broja proteina)
 4. Hemohromatoza



FIBRINOGEN

- **Solubilni fibrilarni glikoprotein**, koji se konvertuje u fibrin, djelovanjem trombina, što vodi stvaranju krvnog ugruška
- **Sinteza u jetri**, reaktant akutne faze
- Fibrinogen **stvara vezu sa proteinom** trombocitne membrane GpIIb/IIIa
- Fibrin ima ključnu ulogu u inflamatornom odgovoru i **razvoju reumatoidnog artritisa**
- **Klinički značaj** kod dijagnoze inflamacija, KVB, peridontalnih bolesti, DIK, sepse, tromboza



C REAKTIVNI PROTEIN (CRP)

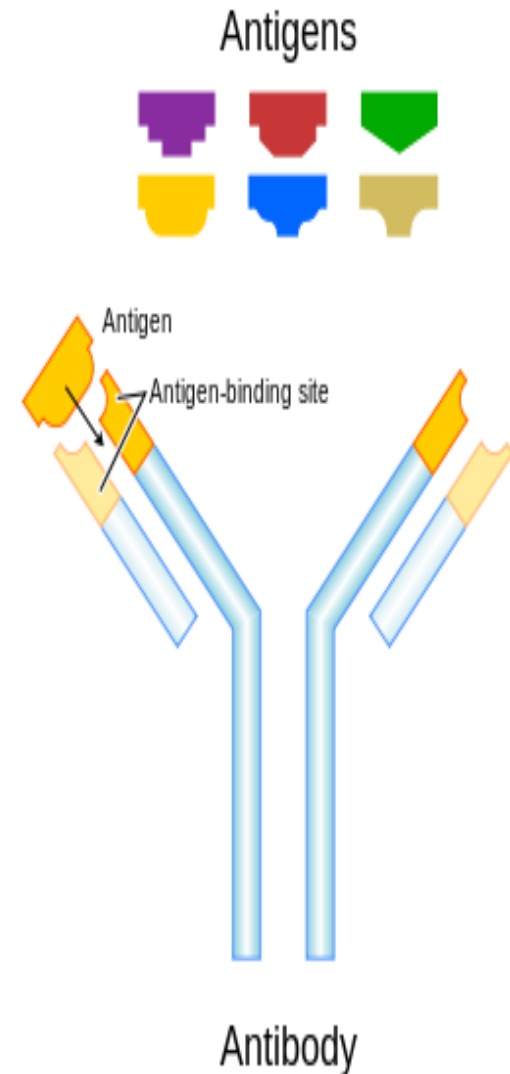
- Beta2 globulin je otkriven 1930. godine - reaguje sa C-polisaharidom kapsule bakterija
- Rani marker autnog odgovora, čija se koncentracija povećava već nakon nekoliko sati od inflamacije
- Ispoljava visoku osjetljivost a malu specifičnost (povećene koncentracije kod upala, nekroze tkiva, pneumonije, infarkta i tuberkuloze)
- Fiziološki je povezan sa imunološkim sistemom – nakon vezivanja sa patogenim Ag, postaje opsonin za FC R na makrofagama ili aktivira sistem komplementa – neutralizacija patogena

CRP

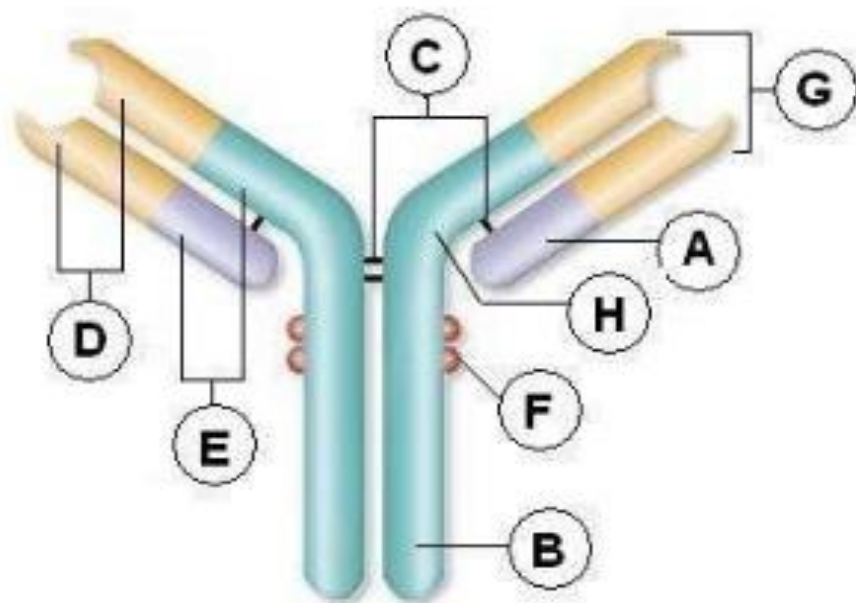
- **Imunološki efekti** CRP su brojni, a najznačajni su:
 - *aktivacija komplementa,*
 - *supresija ili aktivacija određenih tipova T-limfocita*
 - *prozvodnje nekih citokina,*
 - mogućnost vezivanja bakterijskih polisaharida i fosfolipida iz tkiva oštećenih zapaljenjem, traumom ili infekcijom.
- Na osnovu naprijed navedenog, a prema **stavu Američke asocijacije za srce**, praćenje vrijednosti hCRP, može omogućiti ranu procjenu rizika pojave kardiovaskularnih bolesti kod nekih osoba:
 - hs-CRP niži od 1 mg/L - nizak rizik
 - hs-CRP niži od 1–3 mg/L - umeren rizik
 - hs-CRP veći od 3 mg/L - visok rizik.

IMUNOGLOBULINI

- Poznati kao **antitijela**, klase gama proteina koje sintetišu plazma ćelije (leukociti), koje služe za prepoznavanje antigena i aktiviranje **HUMANOG IMUNOG ODGOVORA**
- Javljaju se u dva oblika – **solubilna** At koja se izlučuju iz ćelije i **membransko vezana** At na B limfocitima (R B limfocita) – BCR koje nakon aktivacije prelaze u B memorijske limfocite



Građa imunoglobulina



- A - laki lanac
- B - teški lanac
- C - disulfidne veze
- D - varijabilna regija
- E - konstantna regija
- F - komplement vezivajuće mjesto
- G - antigen vezivajuće mjesto
- H - zglobna regija

Molekula imunoglobulina sastoji se od dva teška lanaca i dva laka lanaca međusobno povezanih disulfidnim vezama.

Klase imunoglobulina

- Teški lanci strogo su specifični za svaku klasu imunoglobulina, te je i podjela na klase izvršena na osnovi razlika u strukturi teških peptidnih lanaca.
- Klase se označavaju slovima A, G, M, D i E, odnosno IgA, IgG itd.
- Svaki od njih ima posebnu ulogu u organizmu.

Imunoglobulin G
(IgG)



IgG antitijelo zaštitnik krvi i tkivnih tekućina

Imunoglobulin A
(IgA)



IgA antitijelo zaštitnik je površine sluznice

Imunoglobulin M
(IgM)



IgM najveće je antitijelo i dolazi uvijek u obliku pentamera i zaštitnik je cirkulacije

Imunoglobulin D
(IgD)



IgD antitijelo još uvijek nije dovoljno istraženo

Imunoglobulin E
(IgE)



IgE antitijelo odgovorno je za nastajanje alergijskih reakcija.

- **Antitijela djeluju kroz različite mehanizme:**

1. Najjednostavniji je **neutralizacija antigena** – nisu sposobni da razviju svoje toksično djelovanje ili neće biti u stanju da utiču na promjene na membrani ćelije ili na metaboličke procese u njoj (npr. prodor virusa i bakterija u tkiva).

2. Drugi, jeste da antitijela vezujući se na površinske strukture nekog antigena npr. bakterije, učine ovu lakše prepoznatljivom za odbrambene ćelije organizma – fagociti – **fagocitoza** njenog materijala.

3. Treći način djelovanja jeste **aktiviranje komplementarnog sistema**.

4. Antitijela imaju sposobnost vezivanja i na neke ćelije, vlastitog organizma, kod kojih je došlo do neželjenih i po organizam opasnih promjena. Antitijela vezana na takve ćelije, **aktiviraju tzv. NK ćelije** (Natural Killers - prirodne ubice), koje će uništiti ćelije sa štetnim promjenama. Ovaj proces je u stručnoj literaturi označen kao "**Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity**" (**ADCC**).

PROTEINI U URINU

- Naša **krv se filtrira u bubrezima**, kroz milijon malih „filtrirajućih jedinica“ (glomerula), gdje otpadni produkti i voda, prolaze kroz filter i otiču u urin, a one važne za tijelo ostaju u krvi.
- Dnevno se **jako malo proteina gubi urinom** (albumini) od 20-150 mg/dan.
- U nefrotskom sindromu proces filtracije je poremećen zbog propuštanja u glomerulima. To uzrokuje propuštanje proteina u urin - **proteinurija**.
- Zbog toga, premalo proteina ostaje u krvi – **hipoalbuminemija**, koja vodi u retenciju soli i vode i razvoju **edema**.

PROTEINURIJE

- **GLOMERULARNE** – uzrokovane:
 - Glomerulonefritisom
 - Benigno (funkcionalano) – vježba, ↑RR, ↑temp, ateroskleroza
 - Ortostatski – prolazna u trudnoći
- **TUBULARNA** – u tubulima izostaje reapsorbpcija proteina (ac. i ch)
- **PRERENALNA** – iv. Hemoliza- povećani gubitak hemoglobina i BensJonson proteini
- **POSTRENALNA** – upalni i maligni procesi distalno od bubrega

