

Jak Krebs na syntézu močoviny

aneb Odhalení prvního biochemického cyklu přišel

PETR
ZOUHAR

V roce 1932 H. A. Krebs a K. Henseleit popsali v časopise *Zeitschrift für physiologische Chemie* mechanismus ornithinového cyklu (resp. cyklu močoviny). Ač bylo tou dobou odhalování tajů biochemických pochodů na denním pořádku, tento se přece jen poněkud vymykal.

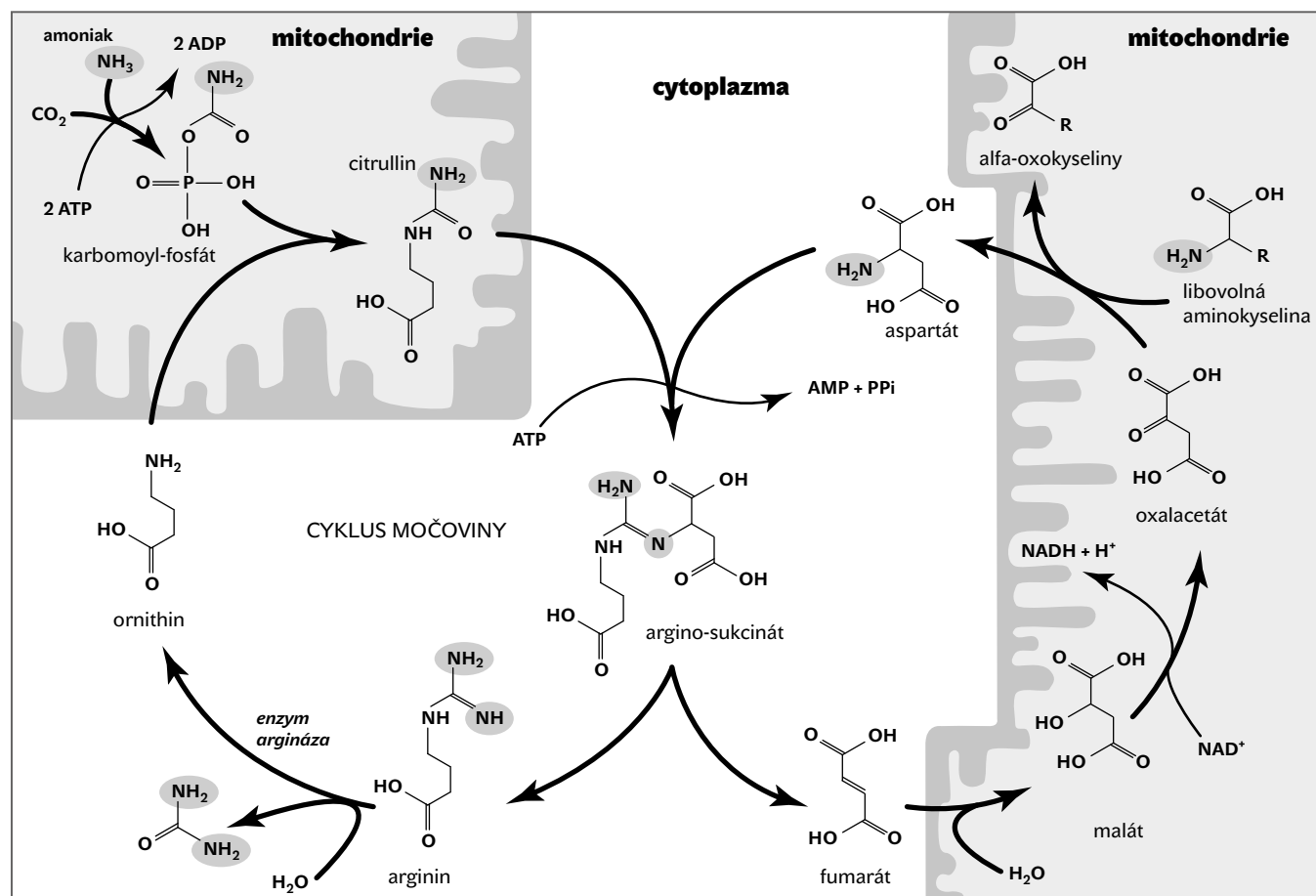
Obecně je úkolem ornithinového cyklu zabudovat odpadní dusík do neškodné molekuly močoviny. (Jinak by mohlo při odbourávání aminokyselin vznikat nebezpečné množství toxického amoniaku.) Oproti jednoduché dráze typu glykolýzy však v případě cyklu močoviny nejde o pouhou sérii enzymatických reakcí. Jak už označení „cyklus“ napovídá, jeden z produktů biochemického procesu se vrací na začátek, aby mohl v dalším kole opětovně sloužit jako výchozí látka. Močovinový cyklus byl vůbec první sérií reakcí tohoto druhu. Jakmile byl tento koncept jednou popsán, mohl už za několik let následovat objev známějšího Krebsovsya cyklu

a posléze i rozšířování Calvinova cyklu temnostní fáze fotosyntézy.

Močovina [urea, resp. $(\text{NH}_4)_2\text{CO}$] hrála v historii vědy významnou roli mnohem dříve, než se Krebs s Henseleitem začali zajímat o to, jak v našich tělech vzniká. V 19. století se ale spíše řešilo, jak močovinu připravit uměle v laboratoři. Tehdy se totiž věřilo, že pro vznik organických látek je nezbytná tajemná životní síla. Tvrdí se, že této vitalistické teorii odzvonilo v roce 1828, kdy Friedrich Wöhler močovinu jednoduše připravil ve zkumavce reakcí anorganických sloučenin amoniaku a kyseliny kyanaaté.¹ Dokázal tak, že k syntéze organických látek nejsou vůbec nutná živá těla ani jejich tajemná síla – stačí průměrně vybavená laboratoř. Tím také symbolicky odstartovala éra organické chemie.

O sto let později nazrála doba podívat se podrobněji na to, jak močovina vzniká v lidském těle. Teorie životní síly už byla opuštěna.

Schéma ornithinového cyklu a jeho napojení na další dráhy (reakce fumarátu na malát a posléze oxalacetát je společná s Krebsovým cyklem). Část reakcí probíhá v cytoplazmě a část v mitochondrii.



těna, horkým hitem byly naopak enzymatické kaskády. Doktor Hans A. Krebs tehdy ve Freiburgu testoval možnosti techniky tenkých tkáňových řezů pro analýzu biochemických syntéz.² Jako model si zvolil právě syntézu močoviny v játrech, protože tato dráha pracuje obzvláště výkonně: Játra člověka krmného běžnou stravou vyprodukuje denně 30 g močoviny, což představuje 1,5 molu.³

Původní záměr nevypadal nikterak ambiciózně. Jelikož ve formě močoviny odchází z těla dusík z degradovaných aminokyselin, Krebse zajímalo, zda bude rychlost výroby močoviny záviset na druhu odbourávané aminokyseliny. Další otázkou pak bylo, zda musí být aminoskupina nejprve odštěpena ve formě amoniaku, nebo zda se do močoviny může dostat bez tohoto mezikroku. Výzkumný tým tedy k jaterním řezům přidával různé koncentrace amonných iontů a všemožných aminokyselin a následně měřil koncentrace močoviny v médiu. Překvapení se dostavilo, když byla do média s dostatkem amoniaku přidána aminokyselina ornithin – tehdy totiž byla močovina vyráběna rekordně rychle.

Už tenkrát bylo známo, že se v játrech vyskytuje vysoce aktivní enzym argináza, který katalyzuje rozpad argininu na močovinu a ornithin. Vzniklo tedy neurčité podezření, že by rozpad argininu mohl být součás-

tí fyziologické syntézy močoviny. Stále však nebylo jasné, jak by měl proces konkrétně fungovat, aby nezvyklé pozorování s ornithinem vysvětlil.

Nápovědu poskytlo měření výroby močoviny v médiu s nižší koncentrací ornithinu. Tyto podmínky umožnily spočítat, že na jednu molekulu ornithinu může vzniknout až dvacet molekul močoviny, jsou-li v médiu přítomny zároveň amonné ionty. Ornithin tedy působí v podstatě jako katalyzátor, který umožňuje zabudování amoniaku do močoviny. Jelikož je to však zároveň vedlejší produkt rozpadu argininu, dospěl Krebs ke klíčové myšlence, že celý proces probíhá cyklicky: Na ornithin by se nějakým způsobem mohly vázat amonné ionty z média, až by vznikl arginin (konkrétně: ornithin + $\text{CO}_2 + 2\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{arginin}$). Arginin by pak byl arginázou štěpen zpět na ornithin a močovinu. A idea ornithinového cyklu byla na světě!

Zároveň ale bylo zřejmé, že přeměna ornithinu na arginin je příliš složitá na to, aby mohla proběhnout v jednom kroku (musely by se naráz potkat hned čtyři molekuly: ornithin, CO_2 a dva amonné ionty). Proto bylo zahájeno pátrání po možných meziprozdech. Podezření padlo na citrullin, který byl tou dobou právě poprvé izolován z vodního melounu (lat. *Citrullus*). A skutečně se prokázalo, že přidavek citrullinu k jaterním řezům má na produkci močoviny podobný účinek jako ornithin.

Základ močového cyklu tak byl znám. Pozdější výzkum schéma doplnil ještě o karbamoyl-fosfát a argino-sukcinát. To už se ovšem H. A. Krebs, který prchl před nacismem do Velké Británie, soustředil na jiné výzkumné problémy: Zkoumal syntézu kyseliny močové u ptáků a zejména pak aerobní oxidaci cukrů. Právě popisem cyklu kyseliny citronové si jednak zasloužil Nobelovu cenu za fyziologii (1953), jednak zvětšil své jméno pro všechna příští pokolení studentů biochemie.⁴

- Krebs, H. A. (1973):
Biochemical
education. 1, 2.
Krebs, H. A. et
Henseleit, K. (1932),
Z. Physiol. Chem.
210, 33.

1) Ve skutečnosti se ale Wöhlerovi podařila první umělá syntéza přírodní látky už o čtyři roky dříve, když přidáním vody ke kyanogenu $(\text{CN})_2$ získal kyselinu šťavelovou $(\text{COOH})_2$.

2) Když pro tento účel hledal optimální médium, které by představovalo co nejnějnější obdobu podmínek v živočišném těle, vylepšil Ringerovo solné médium přidáním bikarbonátu a oxidu uhličitého. Nový Krebsův-Ringerův pufr (KRB) se dodnes používá při práci s izolovanými buňkami a tkáněmi.

3) Pro srovnání: Z ostatních biosyntéz je nejvýznamnější jaterní glukoneogeneze, kterou denně vzniká cca 100 g glukózy, což je ovšem jen 0,55 molů. Pokud bychom se zajímali o meziprodukty a rychle odbourávané látky, pak patří zde ATP, kterého denně vzniká přes 180 molů – protože se ale opět rychle spotřebuje, může ho být v jednom okamžiku v těle asi jen 0,1 molu.

4) Krebsův (resp. citrátový) cyklus je některými svými meziprodukty (fumarát, oxalacetát – aspartát) s močovinovým cyklem propojen, a někdy se proto mluví o tzv. Krebsově bicyklu (viz obr.).

Mgr. Petr Zouhar (*1985)
je postgraduálním
studentem Přírodovědecké
fakulty UK v Praze.
Ve Fyziologickém ústavu
AV ČR, v. v. i., se zabývá
zejména metabolismem
tukové tkáně a s tím
spojenou problematikou
obezity a diabetu.