

METABOLIZAM BJELANČEVINA I ČIMBENICI REGULACIJE

PROTEIN METABOLISM AND INVOLVEMENT OF DIFFERENT FACTORS

Tatjana Pirman, Jasna M. A. Stekar, Etiennette Combe

Pregledno - znanstveni članak
UDK: 636.085.13
Primljeno: 10. travanj 2002.

SAŽETAK

Ravnoteža između sinteze i razgradnje bjelančevina regulira ukupnu količinu bjelančevina u tijelu. Sinteza novih bjelančevina odvija se u nizu složenih reakcija. Razgradnja bjelančevina ima veliku ulogu u rastu i atrofiji mišića. U različitim tjelesnim tkivima postoje tri glavna proteolitička sustava. Većina metoda za praćenje sinteze i razgradnje bjelančevina temelji se na upotrebi izotopa.

Najvažniji čimbenici regulacije metabolizma bjelančevina su hormoni, supstrat, pojedine hranjive tvari iz obroka, genetska konstitucija i starost životinja. Najviše bjelančevina sintetizira se u tkivima gastrointestinalnog trakta: tanko crijevo 103,4% dan⁻¹, debelo crijevo 62,1% dan⁻¹, jetra 105,4% dan⁻¹, a slijede periferni organi i tkiva (mišići). Mišići sadrže najvišu količinu bjelančevina. Stupanj sinteze bjelančevina u cijelom tijelu mladih štakora doseže vrijednost oko 30% dan⁻¹ te opada sa starošću životinja.

UVOD

Ljudi i životinje moraju neprestano konzumirati bjelančevine, jer su tkiva i organi, enzimatски sustavi, prenosni mehanizmi i mnogi hormoni građeni od bjelančevina. Razlika u količini bjelančevina između novorođenčeta mase 3,5 kg i 60 kg teškog odraslog čovjeka iznosi 11 kg. Iz toga je vidljivo da hrana koja se konzumira mora sadržavati bjelančevine. Odrasla osoba kod koje tjelesna masa ostaje više ili manje nepromijenjena, još uvijek treba redovitu opskrbu bjelančevinama, da se u dinamičnoj ravnoteži nadomjesti bjelančevine izgubljene u tkivima.

Dnevno u metabolizmu odraslih osoba prosječne tjelesne mase sudjeluje 300 g bjelančevina. Od toga se 40 g izluči iz tijela, pa ih je potrebno nadomjestiti novim bjelančevinama.

U rastu, zrelosti, kod bavljenja sportom i pri oporavku nakon bolesti tijelo treba dodatne količine

bjelančevina. Količina konzumiranih bjelančevina mora biti veća od gubitaka da bi bilanca bjelančevina odnosno N, bila pozitivna. Gladovanjem ili pri gubitku mišićne mase dolazi i do negativne bilance N.

Metabolizam bjelančevina je kružni proces, jer se bjelančevine u tkivima i organima neprestano sintetiziraju i razgrađuju (Munro, 1970). Pri mirovanju, stupanj sinteze bjelančevina jednak je stupnju razgradnje bjelančevina. Inhibicija sinteze uzrokuje osjetno povećanje razgradnje aminokiselina (katabolizam) (Benevenga i sur., 1993).

Članak je dio magistarskog rada (obranjen 17. 12. 1996.), mentor prof. dr. Jasna Stekar.

Mr. Tatjana Pirman, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za Zootehniko, Groblje 3, SI-1230 Domžale, Slovenija; Prof. dr. Jasna M. A. Stekar; Ph. D., co-advisor Etiennette Combe, znanstvena savjetnica, INRA, Laboratorij za presnovu dušika, Center Clermont-Ferrand - Theix, F - 63122 Saint-Genes-Champanelle, Francuska.

SINTEZA BJELANČEVINA

Sinteza bjelančevina u eukariotskim stanicama je proces kojega kataliziraju i mnogi enzimi i u kojoj je uključena gotovo cijela stanica. U sam proces uključene su različite vrste ribonukleinskih kiselina (RNK), glasnička (mRNK), transfer (tRNK) i ribosomska (rRNK) koje se sintetiziraju u jetri. Za normalan tijek sinteze bjelančevina potrebne su još aminokiseline, aktivirani enzimi i energija.

Pri sintezi bjelančevina aminokiseline se vežu esterskom vezom na (tRNK) molekulu tRNK. Reakciju kataliziraju aminoacil - tRNK sintetaze specifične za svaku od 20 aminokiselina.

Ribosomi su građeni od rRNK i bjelančevina i sastavni su dio stanične jezgre. Sastoje se od dvije podjedinice, manje 40 S i veće 60 S, koje u sintezi bjelančevina grade 80 S ribosome. U većini eukariotskih stanica postoji nešto ribosoma, nešto ih je vezano za mrežicu endoplazmatskog retikuluma. U tkivima koja proizvode sekretorne bjelančevine npr. stanice jetre i pankreasa, veliki je udio ribosoma vezanih za mrežicu endoplazmatskog retikuluma.

mRNK - messenger RNK - glasnička

tRNK - transfer RNK

rRNK - ribosomska ribonukleinska kiselina

met-tRNK - metionin vezan za tRNK

U prijenosu (translacija) ribosomi se pomiču uzduž mRNK i tvore poliribosome ili polisome.

Sinteza bjelančevina odvija se u dva glavna stupnja: prijepisu (transkripciji) i prijenosu (translaciji). U tijeku transkripcije nastaje mRNK, koja je komplementarna molekuli DNK u stanici.

Drugi stupanj jest sinteza ribosoma koja se odvija u tri koraka: početak (inicijacija), produživanje (elongacija) i završetak (terminacija).

U prvom stupnju nastane početni kompleks, koji se sastoji od 80 S ribosoma, početna tRNK (met-tRNK) i RNK. U eukariotskim stanicama poznato je najmanje 9 sudionika inicijacije. Uz to je potreban gvanozintrifosfat (GTP). Ribosomi se moraju prije početnog stupnja razgraditi, jer se pojedine podjedinice postupno vežu na mRNK. U prvom koraku se sudionik inicijacije, GTP i met-tRNK, vežu na podjedinicu 40 S. Za početak sinteze bilo

koje bjelančevine potrebna je aminokiselina metionin. U sljedećem koraku se podjedinica 40 S veže na mRNK i dolazi na mjesto prvog kodona. Zadnji korak u početnom stupnju predstavlja razgradnju inicijacijskog sudionika kodona, hidrolizu GTP i vezanje 60 S podjedinice na ribosom. Tako sada ostaje 80 S početni kompleks spreman za prijem sledećih aminoacil - tRNK.

Kod produljivanja lanca jedna se za drugom ponavlja tri reakcije:

- nastanak aminoacil tRNK u odnosu na mRNK - kodon
- nastanak peptidnog lanca
- premještanje peptidil - tRNK iz mjesta A na ribosomu (primljena aminoacil -tRNK) na mjesto B

Kod zadnjeg stupnja ribosomi putuju duž kodona. Znamo, da su prisutna dva produživačka učesnika, prvi je prisutan pri nastanku aminoacil - tRNK i drugi pri promjeni peptidil-tRNK. Za obje reakcije potrebna je energija u obliku GTP.

Još nije u cjelosti jasno kako se odvija terminacija. Završetak mRNK signalizira poseban kodon i cijeli peptidni lanac se odvoji od tRNK, a ribosom se odvoji od mRNK. Iz eukariotskih stanica su izolirani tzv. oslobađajući sudionici, koji su očito nužno potrebni za završetak sinteze bjelančevina (Lehninger, 1988.).

RAZGRADNJA BJELANČEVINA

Mnogo je pokusa i studija razgradnje bjelančevina provedeno na skeletnim mišićima. Tako, kao i kod drugih tkiva sisavaca, mišići također sadrže raznovrsne proteolitičke sustave, koji vjerojatno sudjeluju u razgradnji bjelančevina. Čini se, da su za razgradnju bjelančevina u tkivima moguća tri glavna puta. Najbolje poznat proteolitički sustav je lizosomatski sustav. Lizosomi su u velikoj mjeri nazočni u jetri. Oni su stanični priključci koji sadrže različite hidrolitičke enzime, koji djeluju samo u kiselom mediju. Lizosomalne endo i egzo peptidaze sposobne su hidrolizirati bjelančevine do aminokiselina. U procesu, koji se zove pinocitoza, odnosno endocitoza, intracelularne bjelančevine i organele mogu hidrolizirati bjelančevine, koje ulaze

u stanicu. Pri tome su moguća dva mehanizma, autofagija i heterofagija. Mišići sadrže malo lizosoma i mnogi autori su u svojim ispitivanjima utvrdili da lizosomske proteaze (katepsin, B, H, L i D) u normalnim uvjetima ne pridonose mnogo u razgradnji bjelančevina u mišićima.

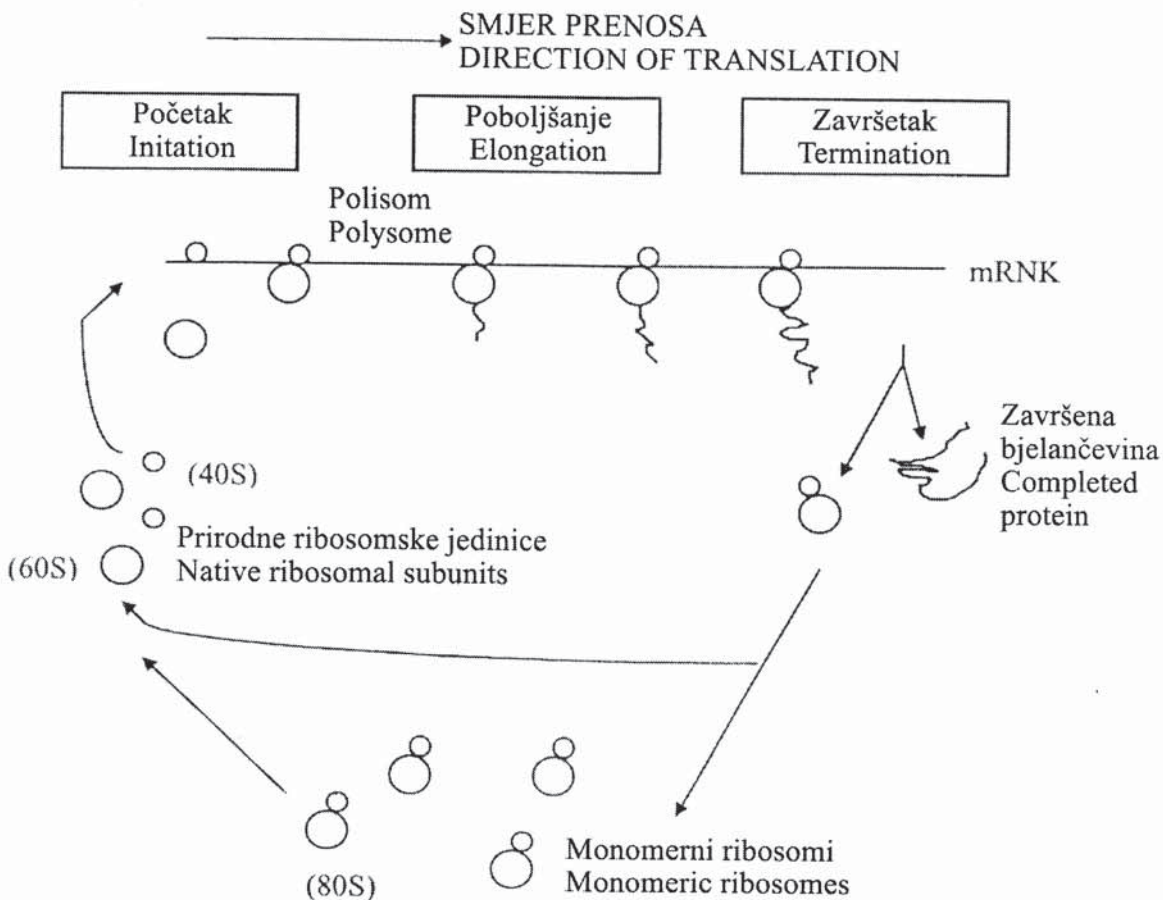
Najpoznatije nelizosomalne proteaze su dva enzima ovisna o Ca^{2+} , μ -kalpain i m-kalpain, koji se međusobno razlikuju po svom afinitetu prema Ca^{2+} ionu. O Ca^{2+} ovisni proteolitički proces ne pridonosi mnogo ukupnoj proteolizi u mišićima. U posljednje vrijeme otkiveni su u mišićima i drugi kalpaini: n-kalpain odnosno p-90, a u želucu i glatkim mišićima kalpain s oznakom p-94 (Twining, 1994.).

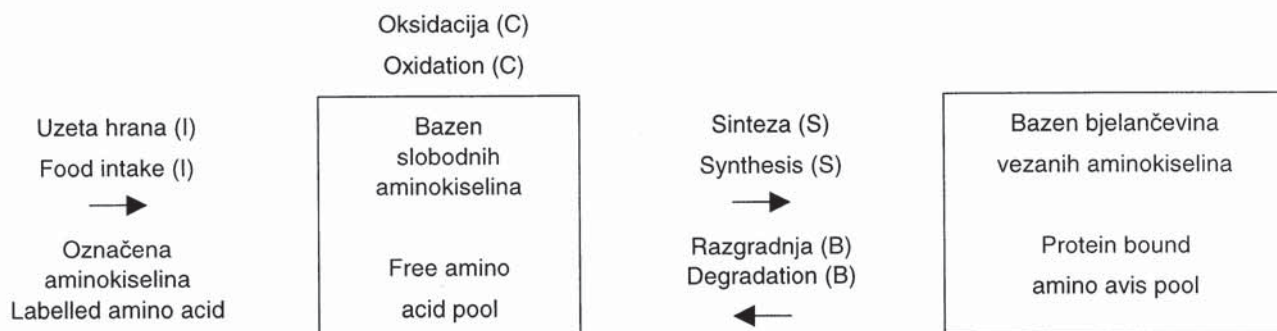
U novije vrijeme otkriće u mišićima i treći put razgradnje ovisan o ATP-ubikvitinu. Ubikvitin je bje-

lančevina sastavljena od 76 aminokiselina i pojavljuje se kod svih eukariotskih organizama. Ta se bjelančevina najprije aktivira pomoću ATP i zatim se kovalentnom vezom veže za bjelančevinu supstrat. Za ubikvinitizaciju bjelančevina uvijek je potreban ATP, ubikvitin aktivacijski enzim (E_1) i jedan od prenosnih ubikvitin bjelančevina (E_2). U tim uvjetima nastaje kovalentna sveza između jedne ubikvitin jedinice i supstrata. Za odvijanje nekih konjugacijskih reakcija potreban je i treći enzim, poznat kao ubikvitin bjelančevinasta ligaza (E_3) koji služi za prepoznavanje supstrata (Atteix i sur., 1994.). Na putu razgradnje bjelančevina, koji ovisi o ATP-ubikvitinu, selektivno se katalizira cijepanje kratkolančanih i neuobičajenih bjelančevina u različitim tkivima sisavaca. U mišićima se tim putem cijepaju miofibrilarne bjelančevine.

Slika 1. Predstavljanje protoka prenosa (prema Waterlow i sur., 1978.).

Figure 1. Diagram of the phases involved in translation (adapted by Waterlow et al., 1978).



Slika 2. Protok slobodnih i u bjelančevine vezane aminokiseline (Schaefer i Scott, 1993.)**Figure 2. Turnover of free bound amino acids (Schaefer and Scott, 1993)**

MJERENJE STUPNJA SINTEZE I RAZGRADNJE BJELANČEVINA

Metabolizam bjelančevina je dinamična ravnoteža između sinteze i razgradnje bjelančevina, a povezan je s procesom obnove tjelesnih bjelančevina. U mirovanju masa bjelančevina ostaje nepromijenjena, tj. oba procesa su jednaka. Ako se količina bjelančevina mijenja, potrebno je odvojeno mjeriti sintezu i razgradnju bjelančevina, jer samo tako se može izmjeriti obrtaj bjelančevina. Većina metoda za mjerenje sinteze i razgradnje bjelančevina temelji se na tehnici izotopa. Jedinica za mjerenje količine sintetiziranih i razgrađenih bjelančevina zove se stupanj sinteze, odnosno stupanj razgradnje bjelančevina, a izražava ga u količini po jedinici vremena. Frakcionalni stupanj sinteze bjelančevina je udio ili postotak mase bjelančevina u tkivu koje nastaje u jedinici vremena.

Na slici 2. prikazan je dvobazenski (two pool) model (Schaefer i Scott, 1993.) koji se upotrebljava za opis metabolizma bjelančevina. Označena (labelled) aminokiselina ulazi u bazen slobodnih aminokiselina intravenozno ili iz konzumirane hrane (I), koje se zatim ugrade u bjelančevine (S) ili se oksidiraju (C) u CO_2 i iz organizma se izluče kao mokraćna kiselina ili amonijak. Ukupni dio prolazi kroz bazen zove se protok (flux-F). Protok N ili slobodnih aminokiselina u mirovanju opisuje jednadžba:

$$F=S+C=1+B$$

Postoji više metoda kojima se mjeri sinteza bjelančevina, svaka ima prednosti i mane, zato ih je

potrebno poznavati prije nego li se odluči za određenu metodu. Najpoznatije i upotrebljavane metode su dugotrajne, kontinuirana infuzija označene aminokiseline i analiza tkiva odnosno organa, te metoda velikih doza (large dose method). Prva metoda temelji na neprekidnoj intravaskularnoj infuziji označene aminokiseline koja traje više sati. Na kraju pokusa životinje se žrtvuju i od njih se uzmu potrebna tkiva za analizu (Lobley, 1993.). Kod druge metode veliku količinu (5 do 50 puta) označene aminokiseline, najčešće su to radioaktivni izotopi, ubrizgavaju se u životinje. Ravnoteža se brzo uspostavi po cijelom tijelu i tako se izjednači aktivnost izotopa. Aktivnost označene aminokiseline se mjeri u kratkim razdobljima, nekoliko minuta do najviše 3 sata nakon ubrizgavanja označene aminokiseline. Za utvrđivanje stupnja sinteze bjelančevina u pojedinom tkivu, životinje se žrtvuju i uzimaju pojedina tkiva (McNurlan i sur., 1979.).

Određivanje stupnja razgradnje in vivo je još teže. U odnosu s mjerenjem sinteze bjelančevina ima malo pouzdanih metoda. Često se upotrebljava procjena razgradnje bjelančevina koja se temelji na razlici između sinteze bjelančevina i prirasta bjelančevina. Ipak se pri takvoj ocjeni nailazi na različite nedostatke. Tako se prirast količine bjelančevina mjeri u duljem vremenskom razdoblju, više dana ili tjedana, međutim, sintezu bjelančevina može se izmjeriti u nekoliko minuta. Upravo zbog toga potrebno je određeno pojednostavljenje. Uobičajena metoda za ocjenjivanje razgradnje bjelančevina u mišićima je mjerenje 3-metilhistidina izlučenog urinom. Njegova koncentracija upotrebljava se kao indeks za izračunavanje razgradnje miofibrilarnih

mišićnih bjelančevina. Druge metode upotrebljavaju se za mjerenje razgradnje bjelančevina *in vitro*, kod kojih se mjeri izlaz označene aminokiseline, koju organizam više ne metabolizira i nema mogućnosti daljnje razgradnje iz tkiva, npr. fenilalanin ili tirozin iz mišića.

ČIMBENICI KOJI UTJEČU NA METABOLIZAM I KRUŽENJE BJELANČEVINA

Poznato je da hranjive tvari koje se konzumiraju imaju važnu ulogu pri kruženju bjelančevina. Na sam metabolizam i kruženje bjelančevina utječu također i drugi čimbenici. Jedan od važnijih su hormoni koji djeluju na metabolizam bjelančevina; često kruženje bjelančevina ovisi o stanju organizma.

HORMONALNO REGULIRANJE

Hormoni reguliraju mnoge biokemijske reakcije. Pod utjecajem hormona odvijaju se, također, kruženje i metabolizam bjelančevina, iako su u pokusima *in vivo* do sada otkrili djelovanje samo nekih hormona. Najpoznatiji hormoni koji utječu na metabolizam bjelančevina su inzulin i inzulinu sličan čimbenik rasta 1 (IGF-1), koji potiče ugradnju aminokiselina u mišiće odraslih osoba putem antiproteolitičkog učinka. Za inzulin je značajno, da potiče translacijsku fazu sinteze bjelančevina u mišićima i zaustavlja proteolizu. Sprječavanjem izlučivanja inzulina kod mladih životinja vidljiv je njegov utjecaj na kruženje bjelančevina (Gizard i sur., 1995.).

Hormon rasta (GH) potiče direktno ili indirektno anaboličke procese, kao što su dijeljenje stanica, rast kostura i sinteza bjelančevina.

Glukokortikoidi utječu na smanjenje sinteze bjelančevina. Kada je razina konzumiranih bjelančevina niža od potreba životinja, oni utječu na smanjenje razgradnje bjelančevina. Oba procesa u rokuju smanjenje mišićne mase.

Hormoni štitnjače potiču razgradnju bjelančevina, međutim, imaju manji utjecaj na sintezu bjelančevina (Gizard i sur., 1995.). Hayase i sur. (1987.) su opazili, da je dodatkom hormona štitnjače stupanj razgradnje bjelančevina u jetrima bio po-

većan, međutim, nije bilo posebnog utjecaja na razgradnju bjelančevina u tankom crijevu. Jepson i sur. (1988.) su opazili povećanu koncentraciju RNK u mišićima pod utjecajem trijodtironina.

UTJECAJ SUPSTRATA

Količina i vrsta konzumirane hrane utječu na povećanje količine bjelančevina u pojedinim tkivima i organima u organizmu. Bjelančevine i esencijalne aminokiseline hrane utječu i na sintezu i na razgradnju bjelančevina (Arnal i sur., 1987.). Količina bjelančevina u hrani mijenja metabolizam bjelančevina, a važan je i aminokiselinski sastav bjelančevina. Zbog toga smanjenje dijela konzumiranih bjelančevina ili pomanjkanje određene aminokiseline u obroku može smanjiti količinu sintetiziranih bjelančevina (Tesseraud, 1995.).

Hrana, a posebno aminokiseline, imaju, kako to navode različiti autori, vrlo vjerojatno važnu ulogu pri regulaciji metabolizma bjelančevina u mišićima. Ipak je upotrebom metode preplavlivanja (flooding dose method) *in vivo*, pri infuziji aminokiselina opaženo, iznenađujuće, tek malo povećanje sinteze bjelančevina. Pokusima *in vivo* je dokazano da aminokiseline djeluju lagano anabolički putem interakcije s hormonom inzulinom. Na primjer, za ukupno antiproteolitičko djelovanje hormona, inzulina, potrebna je dostatna nazočnost aminokiselina (Gizard i sur., 1995.).

U zadnje vrijeme uveliko se proučava povezanost između metabolizma aminokiselina i energije, iako specifičan utjecaj glukoze, masti i ketonskih tijela nije u cijelosti razjašnjen (Boirie i Beaufre, 1995.).

KRATKOROČNI UTJECAJ HRANJIVIH TVARI

Odmah nakon konzumacije hrane aminokiseline se ugrađuju u mišiće. Tako se smanjuje nedostatak mišićnih bjelančevina do kojih dolazi nakon apsorpcije. Veličina toga kruženja ovisna je o sadržaju bjelančevina u obroku (Arnal i sur., 1987.). Stupanj razgradnje mišićne mase ovisi o ravnoteži između sinteze i razgradnje bjelančevina. Čim je manji stupanj razgradnje bjelančevina, utvrđen po ATP-ubikvitin

proteolitičkom putu, tim je manji anabolizam mišićnoga tkiva. Do toga vjerojatno dolazi radi uspojednog učinka inzulina, koji potiče odlaganje aminokiselina u mišićno tkivo (Pacy i sur., 1994.). Vjerojatno, također, utječe na smanjeno djelovanje glukokortikoida koji potiču razgradnju bjelančevina u mišićima (Millward i sur., 1983.).

DUGOROČNI UTJECAJ KONZUMIRANIH BJELANČEVINA I AMINOKISELINA

Na dugoročni utjecaj konzumiranih bjelančevina i aminokiselina djeluje na jednoj strani njihov sadržaj u obroku, na drugoj strani pak kakvoća bjelančevina odnosno uravnoteženost aminokiselinskog sastava obroka. Dugotrajno pomanjkanje bjelančevina u obroku uzrokuje smanjenu sintezu bjelančevina, čiji je uzrok smanjena ribosomalna sposobnost. Yahya i Millward (1994.) i Yahya i sur. (1994.) su proveli pokuse na mladim štakorima. Hranili su ih hranom s 5 g, 35 g i 70 g bjelančevina u kilogramu, dok je kontrolna hrana sadržavala 200 g/kg bjelančevina. Kod svih pokusnih hrana bila je smanjena ribosomalna sposobnost. Kod hrane s 5 g bjelančevina u kilogramu se, osim toga, smanjila i ribosomalna aktivnost, smanjila se također i razgradnja bjelančevina. Čini se, da je učinak pomanjkanja bjelančevina u obroku povezan sa smanjenim djelovanjem hormona IGF-I i inzulina.

Već se dugo zna, da višak bjelančevina (15 do 30%) kod mladih štakora može samo malo poboljšati prirast bjelančevina u mišićima. Krivulja stupnja sinteze bjelančevina u mišićima, izražena kao funkcija količine bjelančevina u hrani također doseže razinu pri visokom sadržaju bjelančevina u hrani (Laurent i sur., 1984.). Pri velikoj koncentraciji bjelančevina u hrani (30 do 40%), posebno pri primjerenom obroku, u nekim primjerima se stupanj sinteze bjelančevina malo smanjio. Radi visokog sadržaja bjelančevina u hrani povećava se razgradnja aminokiselina u jetri i sprječava njihovo smanjenje u krvi.

Poboljšanjem kakvoće bjelančevina u obroku utječe se na povećanje rasta i gomilanje N u organizmu ili u druge životinjske proizvode. To se postiže dopunjavanjem obroka limitirajućim aminokiselinama. Pokus proveden na tri tjedna starim

pilićima koji su hranjeni hranom kojoj je dodan lizin (9 g kg^{-1}) je pokazao povećanje količine bjelančevina u mišićima. Također je uočeno povećanje apsolutnog stupnja sinteze i razgradnje bjelančevina.

Kad je ribosomalna aktivnost optimalna postignut je najveći prirast bjelančevina (Tessaraud i sur., 1992.). Povezanost između promjene kruženja (turnover) bjelančevina i koncentracije hormona, inzulina, IGF-I i glukokortikoida kod dodatka aminokiselina u obrok, još nije razjašnjena (Cortamira i sur., 1991.).

UTJECAJ KRONIČNOG POMANJKANJA ENERGIJE

Pomanjkanje energije u obroku postiže se ako se životinjama daje obrok s visokim sadržajem bjelančevina u ograničenoj količini s obzirom na njihove potrebe. Stupanj rasta mladih životinja je slabiji ovisno o stupnju ograničenja energije. Prirast masti se smanjuje, međutim, a i sadržaj se bjelančevina u tkivima blago smanjuje (Gizard i sur., 1995.). Iz pokusnih rezultata može se utvrditi, da je pri ograničavanju energije u obroku polaganiji rast kosti, djelomično također na račun relativne rezistencije rasta mišića pri ograničenoj energiji (Yahya i sur., 1994.; Yahya i Millward, 1994.).

Yahya i sur. (1994.) su proučavali utjecaj pomanjkanja energije u obroku na m. gastrocnemius kod štakora u rastu. Životinje su dobivale hranu s jednakim sadržajem bjelančevina, ali su im ograničili količinu hrane na 75%, 50% i 25% od hrane pri ad libitum hranidbi. Nakon četiri dana stupanj sinteze bjelančevina ostao je relativno visok kod svih skupina, osim kod skupine ograničene na 25% gdje je smanjen za 40%. Nakon osam dana pokusa stupanj sinteze bjelančevina blago je pao također kod skupina sa 75% i 50% hrane, a kod skupine s 25% još se i nadalje smanjivao. Kod sve 3 skupine smanjena je ribosomalna mogućnost; ribosomalna učinkovitost smanjivala se samo kod skupina s 25 i 50% obroka, kako kod četverodnevno tako i kod osmodnevnog pokusa. Razgradnja bjelančevina je ostala nepromijenjena, jedino se kod skupine s 25% obroka nakon osam dana povećala za 40%.

UTJECAJ DUGOTRAJNOG GLADOVANJA

Pri gladovanju odraslih štakora postoje 3 razdoblja koja su se odrazila u promjenama dnevnog izlučivanja dušika i dnevnom smanjivanju tjelesne mase. U prvom razdoblju, drugi i treći dan, smanjuje se izlučivanje dušika i promjena tjelesne mase u odnosu na jedinicu žive mase životinja za 60%. Oba parametra se u drugom razdoblju, treći do sedmi dan ustaljuju, u trećem razdoblju, sedmi do deseti dan, se povećaju za dva puta. Nakon dva dana gladovanja kod mladih štakora frakcionalni stupanj sinteze bjelančevina u jetrima se smanjio od 87% dan⁻¹, kod kontrolne skupine, na 62% dan⁻¹ kod pokusnih skupina (McNurlan i sur., 1979.).

U drugom razdoblju dolazi do očuvanja bjelančevina, što znači da su se životinje prilagodile nastalim prilikama smanjenjem razgradnje bjelančevina u tijelu. Stupanj sinteze bjelančevina u mišićima ostajao je na istoj razini, jer se ribosomalna učinkovitost vraća na istu razinu nakon kratkotrajnog smanjenja u prvom razdoblju. Nakon devetog dana gladovanja štakori počnu smanjivati bjelančevine. U tom trenutku razgradnja bjelančevina više se ne povisuje i iznosi oko 80% vrijednosti kod sitih štakora. Suprotno tome, sinteza bjelančevina u mišića je izrazito smanjena kao rezultat smanjenja ribosomalne mogućnosti i učinkovitosti (Cherel i sur., 1991.).

Štakori i druge vrste životinja mogu sačuvati bjelančevine u mišićima kod umjerenog gladovanja, što ovisi o jednakomjernoj opskrbi mastima. S obzirom na to istraživači pretpostavljaju, da dotok masnoće neposredno uravnotežuje metabolizam bjelančevina u mišićima i sprječava bitno povećanje koncentracije kataboličkih hormona, glukokortikoida, u kruženju (Lowell i Goodman, 1987.). Smanjena pojava anabolnih hormona, GF-I, inzulina, hormona rasta i hormona štitnjače vjerojatno doprinosi učinku gladovanja štakora (Thissen i sur., 1994.).

PROMJENE KOD GLADOVANJA

Gubitak mišićne mase u razdoblju gladovanja kod ljudi i životinja su dobro opisane (Holloszy i sur., 1991.) i podudaraju se sa smanjenjem mišićnih bjelančevina, što je rezultat neuravnoteženosti između sinteze i razgradnje bjelančevina u mišićima.

Sustavno praćenje utjecaja gladovanja na sintezu i razgradnju bjelančevina kod proučavanih vrsta životinja pokazalo je smanjenu stopu sinteze, kao i razgradnje bjelančevina. Taj proces teče u svim tkivima i organima u tijelu od rođenja do starosti (Lobley, 1993.). Izrazitije smanjenje sinteze i razgradnje bjelančevina javlja se u mišićnoj masi. Kod starih životinja te su vrijednosti oko 30% od vrijednosti pri rođenju. U ostalim tkivima, jetrima, bubrezima, tankom i debelom crijevu frakcionalni stupanj sinteze bjelančevina se isto tako smanjuje, ali u manjem opsegu (Goldspink i Kelly, 1984.; Mossoni i sur., 1993.). Te promjene su posljedica pada ribosomalne mogućnosti.

Kod starijih prevladava visok sadržaj glukokortikoida, što može uzrokovati laganu, a ipak dugotrajnu neuravnoteženost između sinteze i razgradnje bjelančevina u mišićima (Gizard i sur., 1995.), posebice jer su ta svojstva više pod utjecajem djelovanja tih hormona.

U jetri tek okočenih štakora je 12% svih tjelesnih bjelančevina. Taj se udio starenjem smanjuje i kod starijih životinja iznosi oko 4%. Nakon odbića mladih štakora, masa bjelančevina u probavnom traktu se povećava. Zbog toga se povećava metabolizam bjelančevina cijeloga tijela od 10 do 33%, a ipak se apsolutni i frakcionalni stupanj sinteze bjelančevina smanji (Merry i sur., 1992.). To je u velikoj mjeri posljedica smanjenje ribosomalne učinkovitosti povezane sa starošću.

UTJECAJ GENETIKE NA METABOLIZAM BJELANČEVINA

Selekcijskim odabirom kroz mnogo generacija dobivaju se kod nekih životinjskih vrsta genetske linije s različitim stopom rasta. Među njima postoje razlike u mišićnoj masi, u broju i promjeru mišićnih vlakana. To znači da je stupanj sinteze bjelančevina u mnogim organima i tkivima, posebice u mišićima, ovisna o genetskoj liniji vrste.

Bates i Millward (1981.) su mjerili sintezu bjelančevina i stupanj rasta mišića kod brzo i polagano rastućih linija štakora. Iz dobivenih rezultata su zaključili da je za najveću učinkovitost pri sintezi bjelančevina u velikoj mjeri odgovoran niski stupanj razgradnje bjelančevina kod brzo rastućih štakora u usporedbi s polako rastućim

linijama. Saunderson i Leslie (1998.) su dobili slične rezultate kod usporedbe brojerskih linija kokoši; brzo rastuće linije su uspoređivali s polagano rastućim linijama kokoši nesilica.

METABOLIZAM BJELANČEVINA U TKIVIMA

Sinteza bjelančevina u tijelu je zbroj njihove sinteze u pojedinim organima i tkivima. U pojedinom tkivu odnosno organu utvrđuje se frakcionalni stupanj sinteze bjelančevina. Neto masa bjelančevina tkiva nije uvijek odraz metaboličke aktivnosti bjelančevina. U odnosu na frakcionalni stupanj sinteze bjelančevina svi organi slijede približno jednaki redoslijed kod većine životinja. Pri tome je najviši stupanj sinteze bjelančevina organa i tkiva gastrointestinalnog trakta i jetre, zatim slijede bubrezi, koža i mišići. Odnos metaboličke aktivnosti bjelančevina između pojedinih tkiva nije stalan i mijenja se starenjem, vjerojatno također i s konzumacijom hrane.

TKIVA GASTROINTESTINALNOG TRAKTA

Tkiva gastrointestinalnog trakta su najučinkovitija tkiva u tijelu. McNurlan i sur. (1980.) su utvrdili da je stupanj sinteze bjelančevina u tankom crijevu kod mladih štakora $103,4\%/dan^{-1}$, u debelom crijevu $62,1\%/dan^{-1}$. Kod 6 do 9 dana stare janjadi koja još ne preživa frakcionalni stupanj sinteze u cijelom gastrointestinalnom traktu je $69\%/dan^{-1}$, što je tri puta više u odnosu na stupanj sinteze bjelančevina u mišićima ($22\%/dan^{-1}$) tih životinja (Attaix i Arnal, 1987.; Attaix i sur., 1988.b). U tkivima probavnog trakta je, ipak, oko 4% svih tjelesnih bjelančevina, dok ih je u mišićima 31%. Tako je prirast tkiva probavnog trakta 12% od sinteze bjelančevina cijeloga tijela, a u mišićima 29%. Kod starijih životinja, osobito preživača, ta se razdioba mijenja. Masa bjelančevina u tkivima probavnog trakta u odnosu na ukupnu masu bjelančevina se poveća na 6 do 8%, frakcionalni stupanj sinteze bjelančevina može također pasti za 50%. U mišićima se, pak, može smanjiti za 10 i više puta (Lobley i sur., 1980.). Ta je pojava nazočna posebice kod preživača, zbog velikog opsega probavnoga trakta u odnosu na masu životinje. U tim uvjetima naraste prirast tkiva i organa u probavnom traktu u cijeloj sintezi bjelančevina s 12% na 27% (Attaix i sur., 1988.a).

JETRA

Kod mladih štakora stupanj sinteze bjelančevina u jetrima je prosječno $105,4\%/dan^{-1}$ (McNurlan i sur., 1980.). Metabolizam bjelančevina u jetrima se također mijenja sa starošću životinja i s dotokom hrane. Kod janjadi stare jedan tjedan izmjerili su stupanj sinteze bjelančevina $100\%/dan^{-1}$, kod osam tjedana on je opao na $50\%/dan^{-1}$. Stupanj sinteze bjelančevina sa starošću životinja i dalje pada i pri 5 do 9 mjeseci starosti iznosio je 25 do $35\%/dan^{-1}$ (Lobley i sur., 1992.). Jedan od uzroka za takve promjene je u tome što jetra sudjeluje u ukupnoj sintezi bjelančevina kod rođenja 12%, zatim taj udio pada i kod odraslih životinja iznosi samo 7%, što jasno pokazuje važnost metabolizma bjelančevina u jetrima u prvim danima života, osobito jer sadrži svega 3% svih tjelesnih bjelančevina.

SKELETNI MIŠIĆI

Mišići predstavljaju najveće skladište bjelančevina u tijelu. Udio tjelesnih bjelančevina u mišićima naraste od približno 30% kod rođenja na 45% kod odraslih. Najviše se povećava masa bjelančevina u mišićima. Glavna uloga mišića je kretanje i rezerva bjelančevina, učinak metabolizma bjelančevina je manji nego kod unutarnjih organa. U mišićima stupanj sinteze najviše pada sa starošću. Kod tjedan dana stare janjadi frakcionalni stupanj sinteze bjelančevina približno je $22\%/dan^{-1}$, kod odbića tek $6\%/dan^{-1}$ (Attaix i sur., 1988-a), a zatim još pada do $3\%/dan^{-1}$ ili manje, kad životinje dosegnu masu od 30 do 40 kg (Lobley i sur., 1990.).

ZAKLJUČAK

Neto prirast, a isto tako i gubitak bjelančevina vode dva suprotna procesa, sinteza i razgradnja bjelančevina. Sinteza bjelančevina teče preko brojnih zamršenih reakcija koje se događaju u jezgri i citosolu stanice, te na drugim subcelularnim mjestima, što je do sada dobro istraženo. Nasuprot tome, mehanizam razgradnje bjelančevina je slabo poznat. U tkivima postoje tri glavna proteolitička sustava: lizosomalni i proteolitički sustav ovisan od Ca^{2+} i od ATP-ubikvitina.

Postoji mnogo metoda za mjerenje kruženja bjelančevina. Izbor ovisi o problemu kojega se želi istražiti i od pokusnih uvjeta. Sve metode uključuju pretpostavke i približne ocjene, što sve pridonosi određenoj pogrešci.

Hormoni sudjeluju pri vođenju mnogih biokemijskih procesa u kruženju bjelančevina. Priliv hormona inzulina ili AGF-I potiču ugradnju aminokiselina s antiproteolitičkim utjecajem. Hormoni, koji su također uključeni u metabolizam i kruženje bjelančevina su hormon rasta, glukokortikoidi i hormoni štitnjače. Hrana, a osobito aminokiseline, imaju potencijalnu ulogu pri reguliranju metabolizma bjelančevina. Pri apsorpciji hranjivih tvari aminokiseline se talože što utječe na gubitak bjelančevina u post apsorpcijskom stadiju.

Manjak bjelančevina u obroku uzrokuje naglo smanjenje sinteze bjelančevina. Proces razgradnje bjelančevina ima suprotnu reakciju, ovisno o strogosti ograničenja. Pri starenju su gubici bjelančevina u mišićima veliki, starije životinje su više prihvatljive za glukokortikoide, koji smanjuju sintezu bjelančevina. Hranjive tvari, posebice aminokiseline, su jak usklađivač metabolizma bjelančevina. Slabo poznavanje metabolizma potječe iz komplicirane sveze između hormona i hrane.

Doprinos je različitih organa u sintezi bjelančevina u tijelu, a ovisi samo o udjelu bjelančevina u njima, u odnosu na ukupni sadržaj bjelančevina u tijelu. Mišići sadrže polovicu svih tjelesnih bjelančevina, ipak imaju niski frakcionalni stupanj sinteze bjelančevina, pa tako sintetiziraju 20 do 30% svih tjelesnih bjelančevina. Ostali organi, prije svega tkiva probavnog trakta, sadrže tek 5% tjelesnih bjelančevina, ipak sintetiziraju istu količinu tjelesnih bjelančevina kao mišići, radi visokog frakcijskog stupnja sinteze bjelančevina u tim tkivima.

LITERATURA

1. Arnal, M., C. Obled, D. Attaix, P. Patureau Mirand, D. Bonin (1987): Dietary control of protein turnover. *Diabete et Metabolisme*, 13, 630-642.
2. Attaix, D., M. Arnal, (1987): Protein synthesis and growth in the gastrointestinal tract of the young pre-ruminant lamb. *British Journal of Nutrition*, 58, 159-169.
3. Attaix, D., E. Aurousseau, A. Boyle, D. Rosolowska-Huszcz, M. Arnal (1988a): Respective influences of age and weaning on skeletal and visceral muscle protein synthesis in the lamb. *Biochemical Journal*, 256, 7, 791-795.
4. Attaix, D., E. Aurousseau, A. Manghebati, M. Arnal (1988b): Contribution of liver, skin and skeletal muscle to whole-body protein synthesis in the young lamb. *British Journal of Nutrition*, 60, 1, 77-84.
5. Attaix, D., D. Taillandier, S. Temparis, D. Larbaud, E. Aurousseau, L. Combaret, L. Voisin (1994): Regulation of ATP-ubiquitin dependent proteolysis in muscle wasting. *Reproduction Nutrition Development*, 34, 6, 583-597.
6. Bates, P. C., D. J. Millward (1981): Characteristics of skeletal muscle growth and protein turnover in a fast - growing rat strain. *British Journal of Nutrition*, 46, 1, 7-13.
7. Benevenga, N. J., M. J. Gahl, K. P. Blemings (1993): Role of protein synthesis in aminoacid catabolism. *Journal of Nutrition*, 123, 2, II., 332-336.
8. Boirie, Y., B. Beaufriere (1995): Control of amino acid metabolism by lipid, ketone bodies, and glucose substrates. V: *Amino Acid Metabolism and Therapy in Health and Nutritional Disease* (ur.: Cynober L. A.). New York, CRC Press, 157-179.
9. Cherel, Y., D. Attaix, D. Rosolowska - Huszcz, R. Belkhou, J. P. Robin, M. Amal, Y. Le Maho (1991): Whole body protein synthesis during brief and prolonged fasting in the rat. *Clinical science*, 81, 5, 611-619.
10. Cortamira, N. O., B. Seve, Y. Lebreton, P. Ganier (1991): Effect of dietary tryptophan on muscle, liver and whole-body protein synthesis in weaned piglets: relationship to plasma insulin. *British Journal of Nutrition*, 66, 3, 423-435.
11. Goldspink, D. F., F. J. Kelly (1984): Protein turnover and growth in the whole body, liver and kidney of the rat from foetus to senility. *Biochemical Journal*, 217, 507-516.
12. Grizard, J., D. Dardevet, I. Papet, L. Mosoni, P. Patureau Mirand, D. Attaix, I. Tauveron, D. Bonin, M. Arnal (1995). Nutrient regulation of skeletal muscle protein metabolism in animals. The involvement of hormones substrates. *Nutrition Research Reviews*, 81, 67-91.
13. Hayase, K., G. Yonekawa, A. Yoshida (1987): Effect of thyroid hormone on turnover of tissue protein in rats. *Nutritional Reports International*, 35, 2, 393-404.
14. Holloszy, J. O., M. Chen, G. D. Cartee, J. C. Young (1991): Skeletal muscle atrophy in old rats: differential changes in the three fiber types. Mechanism of ageing and development, 60, 1, 199-213.

15. Jepson, M. M., P. C. Bates, D. J. Millward (1988): The role of insulin and thyroid hormones in the regulation of muscle growth and protein turnover in response to dietary protein in the rat. *British Journal of Nutrition*, 59, 3, 397-415.
16. Laurent, B. C., L. L. Moldawer, V. R. Young, B. R. Bistran, G. L. Blackburn (1984): Whole-body leucine and muscle protein kinetics in rats fed varying protein intakes. *American Journal of Physiology*, 246, E444-E451.
17. Lehninger, A. L. (1988): *Principles of Biochemistry*. New York Worth Publishers, Inc., 1011.
18. Lobley, G. E. (1993): Species comparisons of tissue protein metabolism effects of age and hormonal action. *Journal of Nutrition*, 123, 2-II, 337-343.
19. Lobley, G. E., A. Conell, E. Milne, V. Buchan, A. G. Calder, S. E. Anderson (1990): Muscle protein synthesis in response to testosterone administration in wether lambs. *British Journal of Nutrition*, 64, 4, 691-704.
20. Lobley, G. E., P. M. Harris, P. A. Skene, D. Brown, E. Milne, A. G. Calder (1992): Responses in tissues protein synthesis to sub- and supra-maintenance intake in young growing sheep; comparison of large dose and continuous infusion techniques. *British Journal of Nutrition*, 68, 3, 373-388.
21. Lobley, G. E., V. Milne, J. M. Lovie, P. J. Reeds, K. Pennie (1980): Whole body and tissue protein synthesis in cattle. *British Journal of Nutrition*, 32, 4, 491-502.
22. Lowell, B. B., M. N. Goodman (1987): Protein sparing in skeletal muscle during prolonged starvation. Dependence on lipid fuel availability. *Diabetes*, 36, 1, 14-19.
23. McNurlan, M. A., P. J. Garlick (1980): Contribution of rat liver and gastrointestinal tract to whole-body protein synthesis in the rat. *Biochemical Journal*, 186, 381-383.
24. McNurlan, M. A., A. M. Tomkins, P. J. Garlick (1979): The effect of starvation on the rate of protein synthesis in rat liver and small intestine. *Biochemical Journal* 178, 373-379.
25. Merry, B. J., S. E. M. Lewis, D. F. Goldspink (1992): The influence of age and chronic restricted feeding on protein synthesis in the small intestine of the rat. *Experimental Gerontology*, 27, 191-200.
26. Millward, D. J., B. Odedra, P. C. Bates (1983): Role of insulin, corticosterone and other factors in the acute recovery of muscle protein synthesis on refeeding food-deprived rats. *Biochemical Journal*, 216, 5, 583-587.
27. Mosoni, L., P. Patureau Mirand, M. L. Houlier, M. Arnal (1993): Age-related changes in protein synthesis measured in vivo in rat liver and gastrocnemius muscle. Mechanism of aging and development, 68, 113, 209-220.
28. Munro, H. N. (1970): A general survey of mechanism regulating protein metabolism in mammals. V: Mammalian protein metabolism (ur.: H. N. Munro). Vol. 4. New York and London, Academic press, 53-130.
29. Pacy, P. J., G. M. Price, D. Holliday, M. R. Quevedo, D. J. Millward (1994): Nitrogen homeostasis in man: the diurnal response of protein synthesis and degradation and amino acid oxidation to diets with increasing protein intakes. *Clinical Science*, 86, 1, 103-118.
30. Saunderson, C. L., S. Leslie (1988): Muscle growth and protein degradation during early development in chicks of fast and slow-growing strains. Comparison in *Biochemistry and Physiology*, 89, 333-337.
31. Schaefer, A. L., S. L. Scott (1993): Amino acid flooding doses for measuring rates of protein synthesis. *Amino Acids*, 4, 8, 5-19.
32. Tesseraud, S. (1995): Metabolisme proteique chez le poulet en croissance. Effect des proteines alimentaires. *INRA Production Animale*, 8, 3, 197-212.
33. Tesseraud, S., M. Larbier, A. M. Chagneau, P. A. Geraert (1992): Effect of dietary lysine on muscle protein turnover in growing chickens. *Reproduction, Nutrition, Developpement*, 32, 1, 163-171.
34. Thissen, J. P., J. M. Ketelslegers, L. E. Underwood (1994): Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. *Endocrine Reviews*, 15, 1, 80-101.
35. Twining, S. S. (1994): Regulation of proteolytic activity in tissues: Critical reviews in biochemistry and molecular biology, 29, 5, 315-383.
36. Waterlow, J. C., P. J. Garlick, D. J. Millward (1978): Protein turnover in mamalian tissues and in the whole body. Amsterdam, North-Holland publishing company, 804.
37. Yahya, Z. A. H., D. J. Millward (1994): Dietary protein and the regulation of long bone and muscle growth in the rat. *Clinical science* 87, 2, 213-224.
38. Yahya, Z. A. H., J. O. Tirapegui, P. C. Bates, D. J. Millward (1994): Influence of dietary protein, energy and corticosteroides on protein turnover, proteoglycan sulphation and growth of long bone and skeletal muscle in the rat. *Clinical nutrition*, 87, 6, 607-618.

ABSTRACT

The balance between protein synthesis and breakdown (protein turnover) regulates the whole body protein mass. Synthesis of new proteins is achieved by complex series of reactions. Protein breakdown plays a major role in muscle growth and atrophy and in different tissues in body three major proteolytic systems are known. Most methods for quantifying protein synthesis and breakdown are based on isotopic techniques. The most important factors of the regulation of protein metabolism are presented: hormones, substrates, nutrients of the diet, genetic constitution and age of the animal. The highest protein synthesis rate is achieved by tissues of gastrointestinal tract: small intestine $103.4\% \text{ day}^{-1}$ and large intestine $62.1\% \text{ day}^{-1}$, and liver $105.4\% \text{ day}^{-1}$ followed by the peripheral tissues (skeletal muscles). Skeletal muscles contain the highest amount of protein. Whole body protein synthesis rate of the young rats is around $30\% \text{ day}^{-1}$ and decreases with age.

Key words: protein, metabolism, synthesis, degradation, regulation, rats



FARMER spa - Mantova - Italia

Proizvodi aditive namijenjene za hranidbu životinja i to:
svinja, sve vrste peradi, mliječne krave, junad, ovce i koze.

Među našim proizvodima nalaze se:

- *Aditivi za stočnu hranu (krmne smjese): zakiseljivači, konzervansi za žitarice i stočnu hranu, enzimi, prirodni pigmentanti (biljnog podrijetla) za jaja i meso peradi; probiotici, energetski dodaci, itd.*
- *Vitaminsko-mineralni premiksi (u prahu i tekući) i dopune za stočnu hranu.*



DELFA-FARMER d.o.o. Zagreb

Stubička 55, tel. +385/1/36-38-306, fax +385/1/36-38-316

Zastupa i distribuira proizvode za FARMER spa Mantova,
u Hrvatskoj, Bosni i Hercegovini i Sloveniji