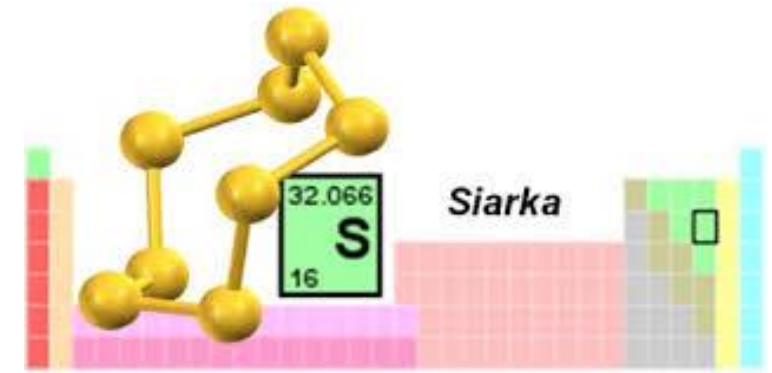


Związki tiolowe w diagnostyce metabolicznej.

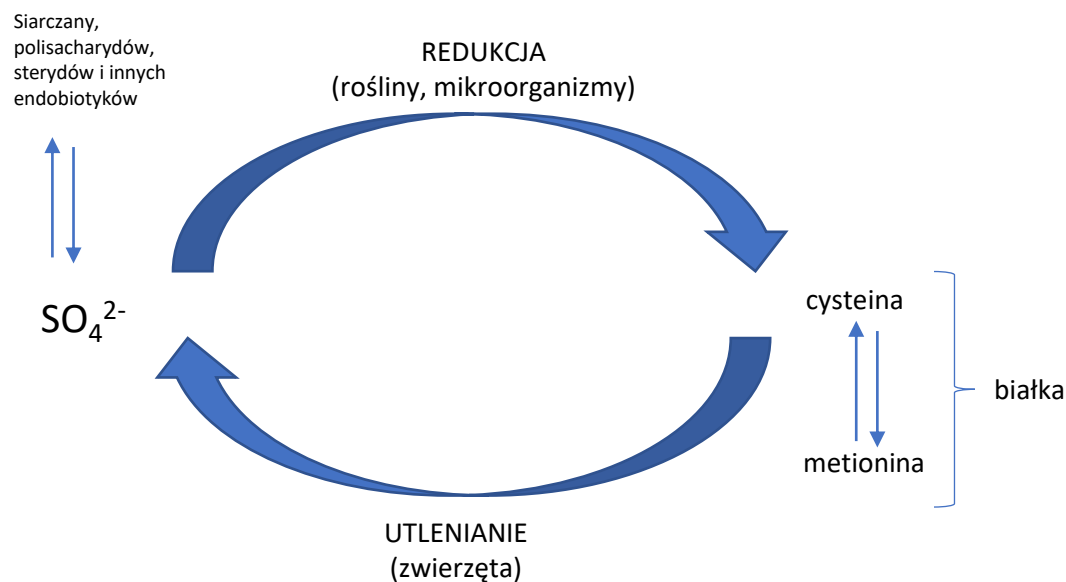
Zakład Badań Przesiewowych i Diagnostyki Metabolicznej
Instytut Matki i Dziecka

Siarka



- niemetal
- Siarka występuje na stopniach utlenienia 2, 4 i 6, a liczba koordynacyjna zmienia się od 0 do 7.
- W temperaturze pokojowej jest to ciało stałe o jasnożółtej barwie, mało reaktywne.
- W przyrodzie występuje w stanie wolnym, a także w postaci minerałów siarczkowych (Cu_2S , FeS_2) oraz siarczanowych ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).
- Wiązanie C-S jest na tyle silne, by związki były trwałe, lecz na tyle słabe, by je selektywnie rozerwać w obecności silniejszego wiązania C-O. Atomy siarki tworzą też wiązania pomiędzy sobą.
- Związki posiadające wiązania S-S oraz S-halogen są trwałe i można je wyodrębnić, w przeciwieństwie do związków z wiązaniem O-O oraz związków O-halogenowych, które są nietrwałe i często wybuchowe.

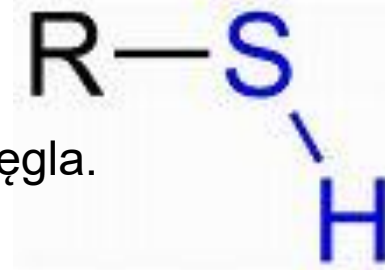
Obieg siarki w przyrodzie



Rośliny i liczne mikroorganizmy wykazują zdolność redukcyjnej asymilacji siarczanów z powstawaniem aminokwasów siarkowych: metioniny i cysteiny, które następnie w organizmach zwierzęcych ulegają tlenowej biodegradacji ponownie do siarczanów.

Metionina w komórkach ssaków może być źródłem cysteiny, dlatego przy jej dostatecznej ilości w diecie cysteina przestaje być aminokwasem niezbędnym.

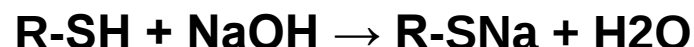
Związki tiolowe



Tiole to związki organicznie zawierające grupę -SH (merkaptanową) związaną z atomem węgla.

Są to związki o większej kwasowości niż odpowiadające im pochodne tlenowe.

Tiole są kwasami silniejszymi od wody, zatem reagują z wodnymi roztworami wodorotlenków alkalicznych, w wyniku czego powstają sole:

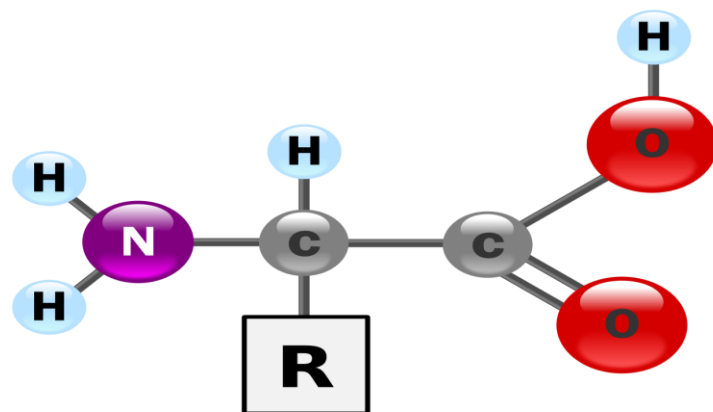


Funkcje w organizmie:

- Utrzymują prawidłową funkcję i strukturę białek
- Kontrolują aktywność czynników transkrypcyjnych
- Regulują aktywność enzymów
- Chronią przed stresem oksydacyjnym
- Związki tiolowe mogą mieć postać niskocząsteczkową lub białkową

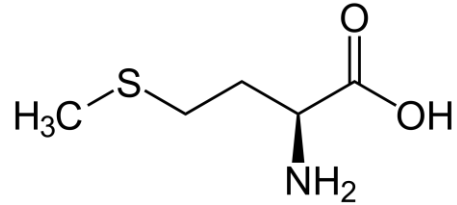
Aminokwasy siarkowe to związki organiczne, które zawierają w swojej budowie dwie grupy funkcyjne:

- grupę aminową (NH₂) – tzw. N-koniec
- grupę karboksylową – tzw. C-koniec.
- Atom siarki w łańcuchu bocznym (grupa tiolowa (–SH), grupą sulfonową – SO₃H)

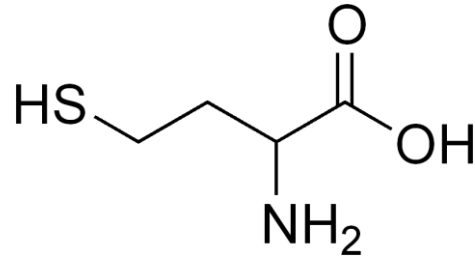


Do aminokwasów siarkowych należy:

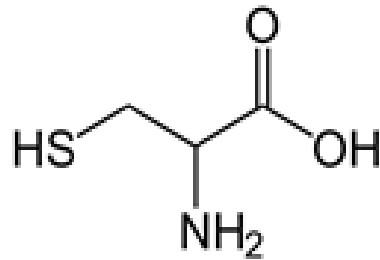
- Metionina



- Homocysteina

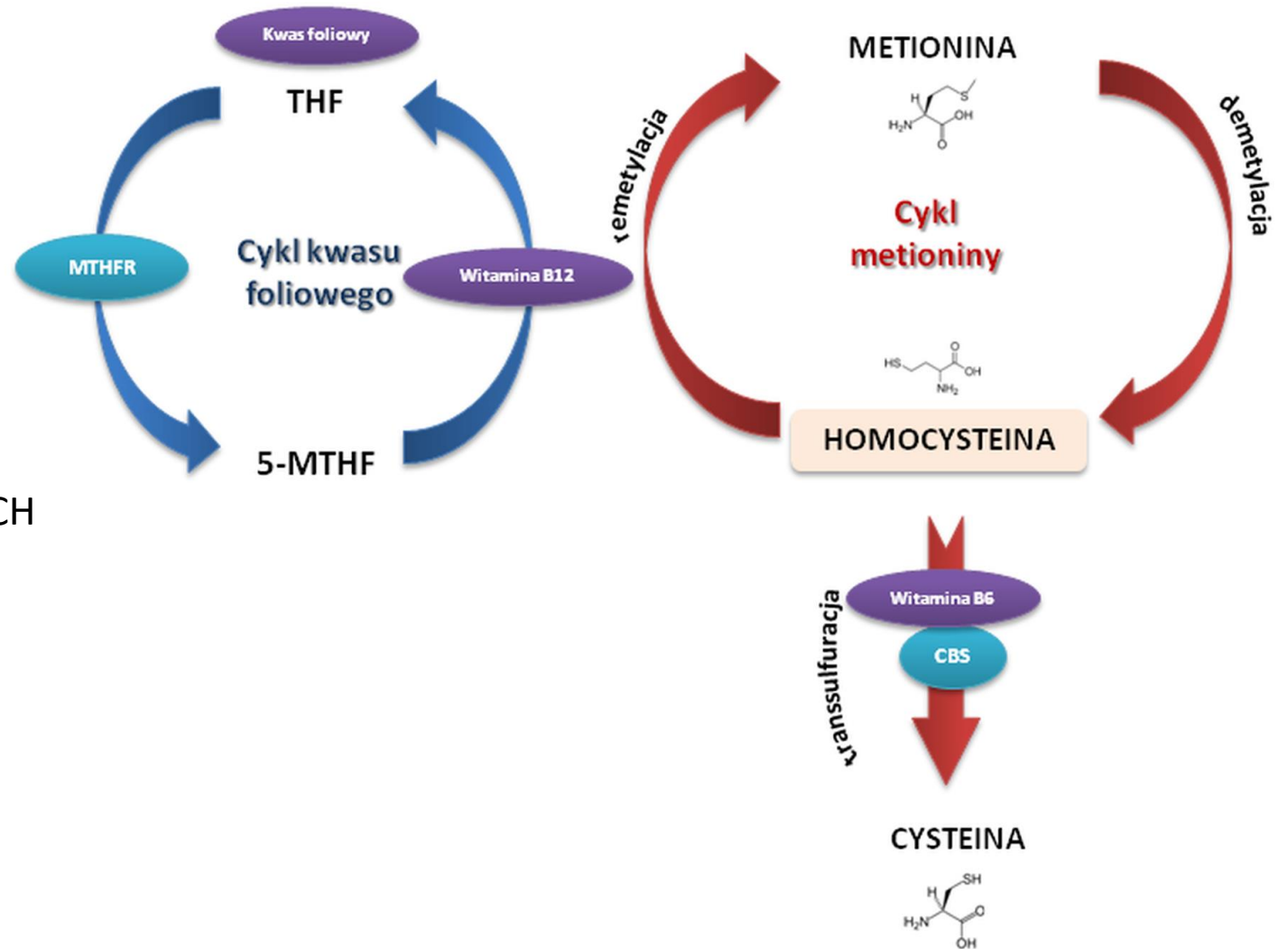


- Cysteina



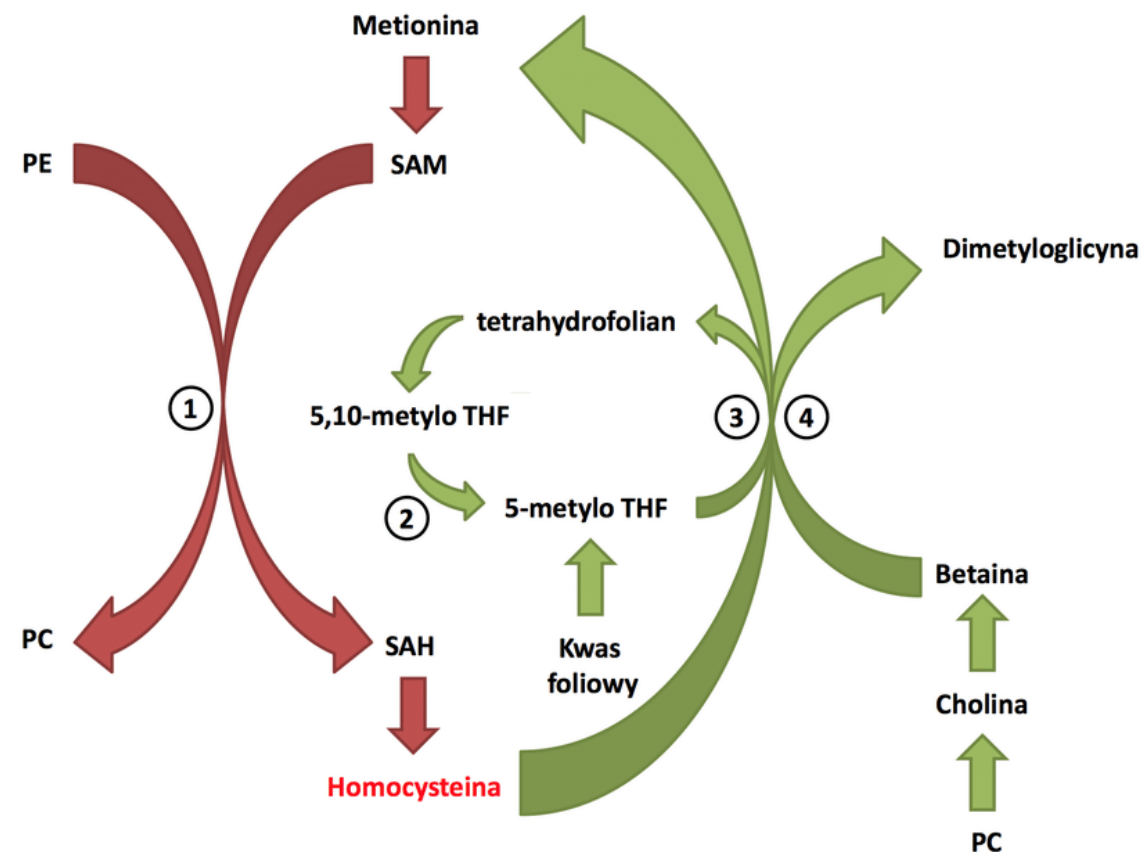
Metionina i cysteina

- Z aminokwasów siarkowych, tylko metionina i cysteina są wbudowane w białka. Uważane są za główne aminokwasy zawierające siarkę, ponieważ są to 2 z niezbędnych 20 aminokwasów budujących białek.

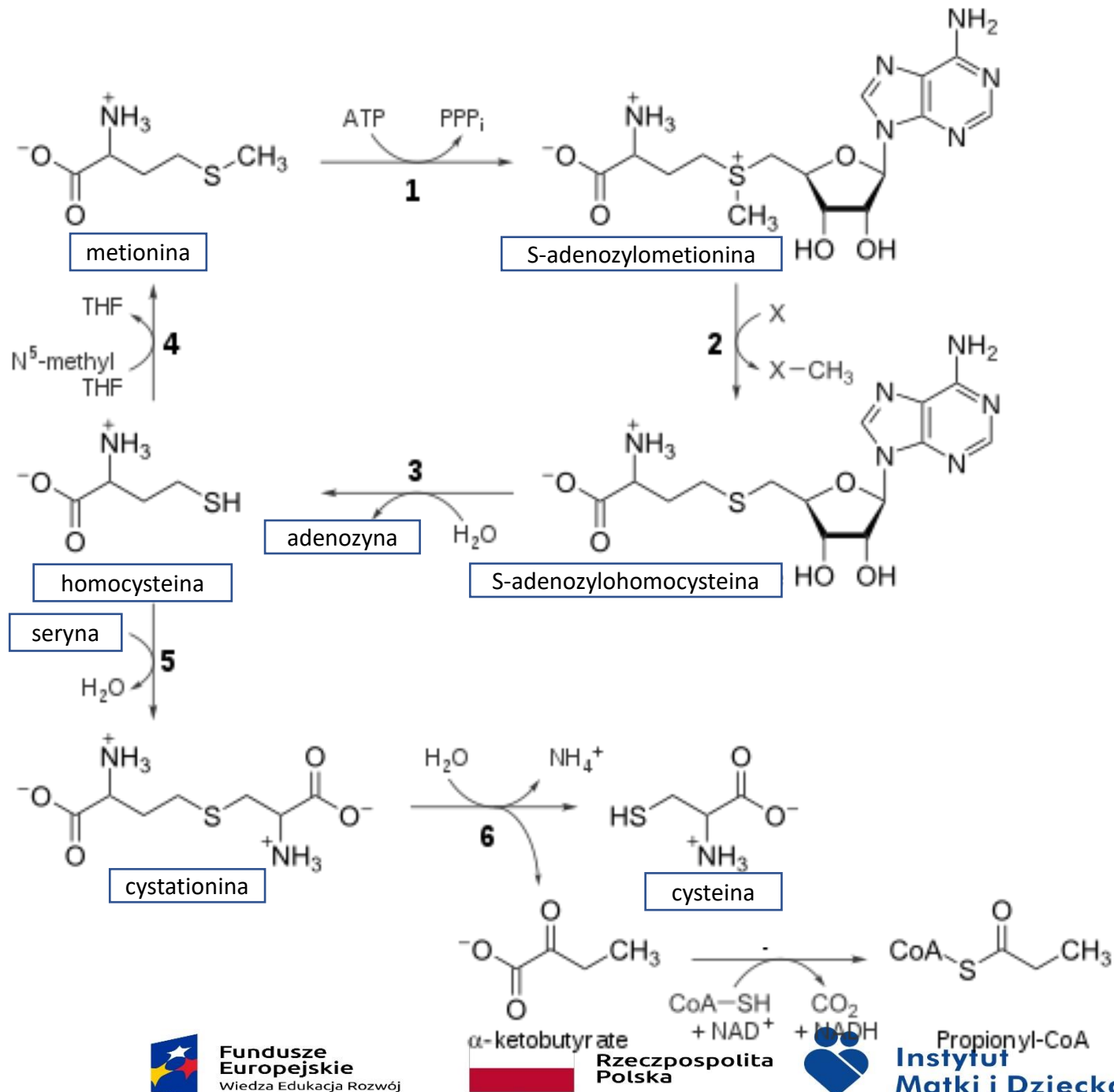


METBOLIZM AMINOKWASÓW SIARKOWYCH
OBEJMUJE TRZY GŁÓWNE SZLAKI:

- DEMETYLACJĘ
- REMETYLACJĘ
- TRANSSULFURACJĘ



1 – N-metylotransferaza fosfatydyloetanoloaminy;
 2 – reduktaza 5,10-metylenotetrahydrofolianowa; 3 – syntaza metioninowa;
 4 – metylotransferaza betaina-homocysteina



- 1 - Adenozylotransferaza metioniny
- 2 – Metylotransferaza
- 3 – Hydrolaza S- adenozylhomocysteiny
- 4 – Syntaza metioniny
- 5 - Beta - Syntaza cystationiny
- 6 - Gamma liaza cystationiny

Metionina (Met)

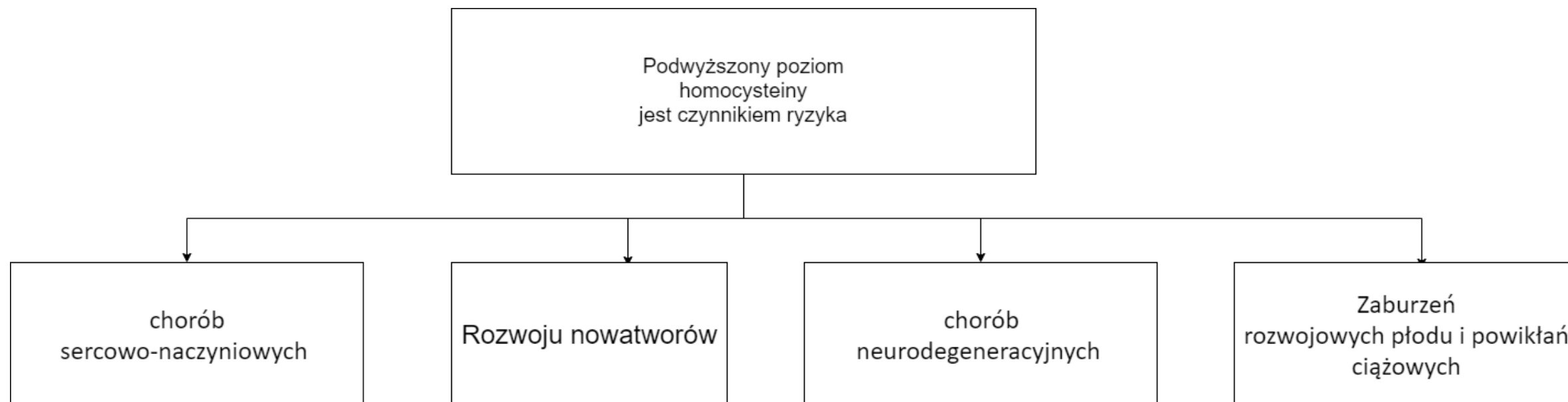
- Metionina występuje w kazeinie mlekowej, białku jaj, mięsie, rybach, parmezanie. Poza tym źródłem metioniny są również nasiona lnu, pestki dyni i słonecznika oraz warzywa: brukselka, brokuły, szpinak, groch czy fasola.
- Należy do aminokwasów egzogennych niezbędnych dla człowieka (nie może być syntetyzowany w organizmie człowieka i musi być dostarczany z pożywieniem).
- Metionina tylko jeden kodon – kodowana jest przez trójkę AUG. Jest to kodon odczytywany przez rybosom jako miejsce startu translacji. Metionina jest inicjującym aminokwasem w syntezie praktycznie wszystkich białek - wbudowywana jako pierwszy aminokwas wszystkich białek, choć zwykle jest usuwana w procesie modyfikacji potranslacyjnej.
- Uczestniczy w:
 - **Reakcjach metylacji (S-adenozylometionina),**
 - **Dostarcza grupy siarkowe do reakcji metabolicznych.**
 - **Nie tworzy mostków siarczkowych –S–S–, gdyż nie ma grup tiolowych –SH.**

Homocysteina

- Homocysteina ze względu na obecność wysoce reaktywnej grupy tiolowej bardzo łatwo modyfikuje białka osocza krwi (m.in. albuminę oraz hemoglobinę).
- Skutkiem tego procesu jest zmiana struktury i tym samym upośledzenie funkcji tych ważnych biologicznie białek.

Homocysteina może modyfikować białka na dwa sposoby.

1. S-homocysteinyłacje – tworzenie wiązań diosiarczkowych z grupami tiolowymi białek. Skutkiem jest utrata lub znaczne upośledzenie funkcji białek (albuminy, hemoglobiny oraz γ -globulin).
2. N-homocysteinyłacje - tworzenie wiązań diosiarczkowych z grupami aminowymi białek



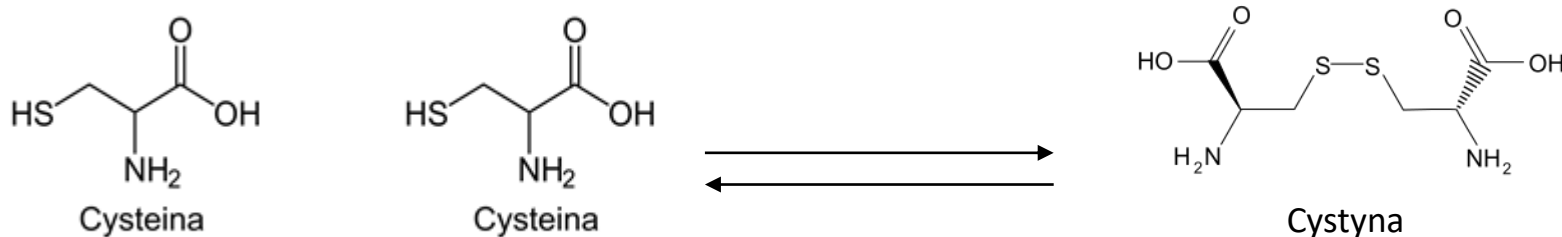
Cysteina

- Cysteina jest niezbędna do produkcji aminokwasu tauryny,
- cysteina jest składnikiem przeciwutleniacza glutationu
- odgrywa rolę w metabolizmie niezbędnych substancji biochemicznych, takich jak koenzym A, heparyna i biotyna
- Cysteina w komórkach występuje na bardzo niskim poziomie, co jest mechanizmem obronnym przed jej toksycznością, szczególnie niebezpieczną w stosunku do centralnego systemu nerwowego(CSN). Utrzymanie fizjologicznie niskiego stężenia cysteiny w komórkach jest regulowane reakcjami wbudowywania w białka i w peptydy, a także poprzez tlenowe i beztlenowe przemiany

Cysteina w swej zredukowanej postaci jest tiolem wysoce toksycznym w stosunku do CSN,

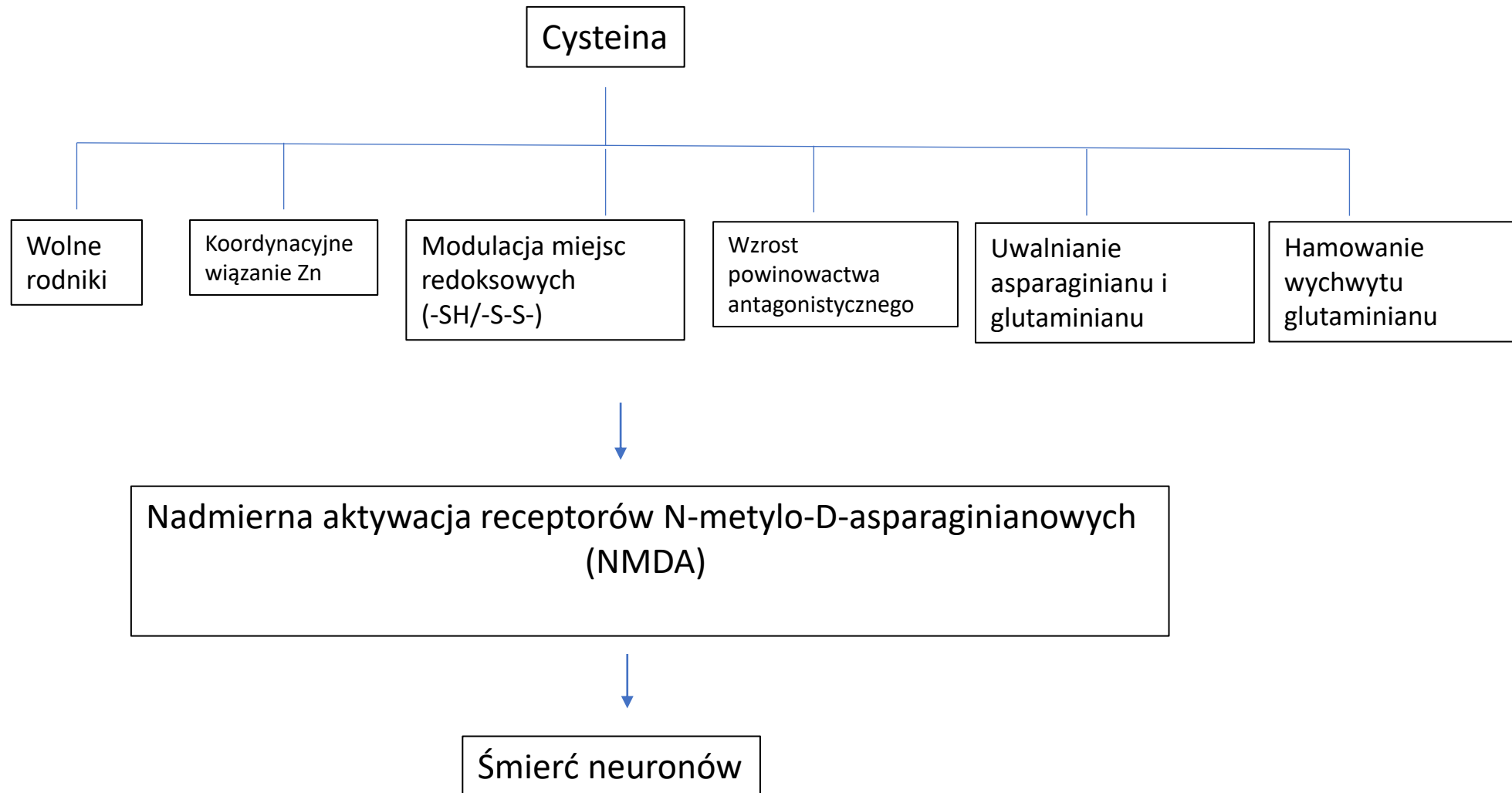
- wywołuje spadek poziomu GSH i ATP w komórkach i prowadzi do zmian neurodegeneracyjnych
- Cysteina powoduje uszkodzenia neuronalne poprzez różnego typu mechanizmy wywołujące neurotoksyczność

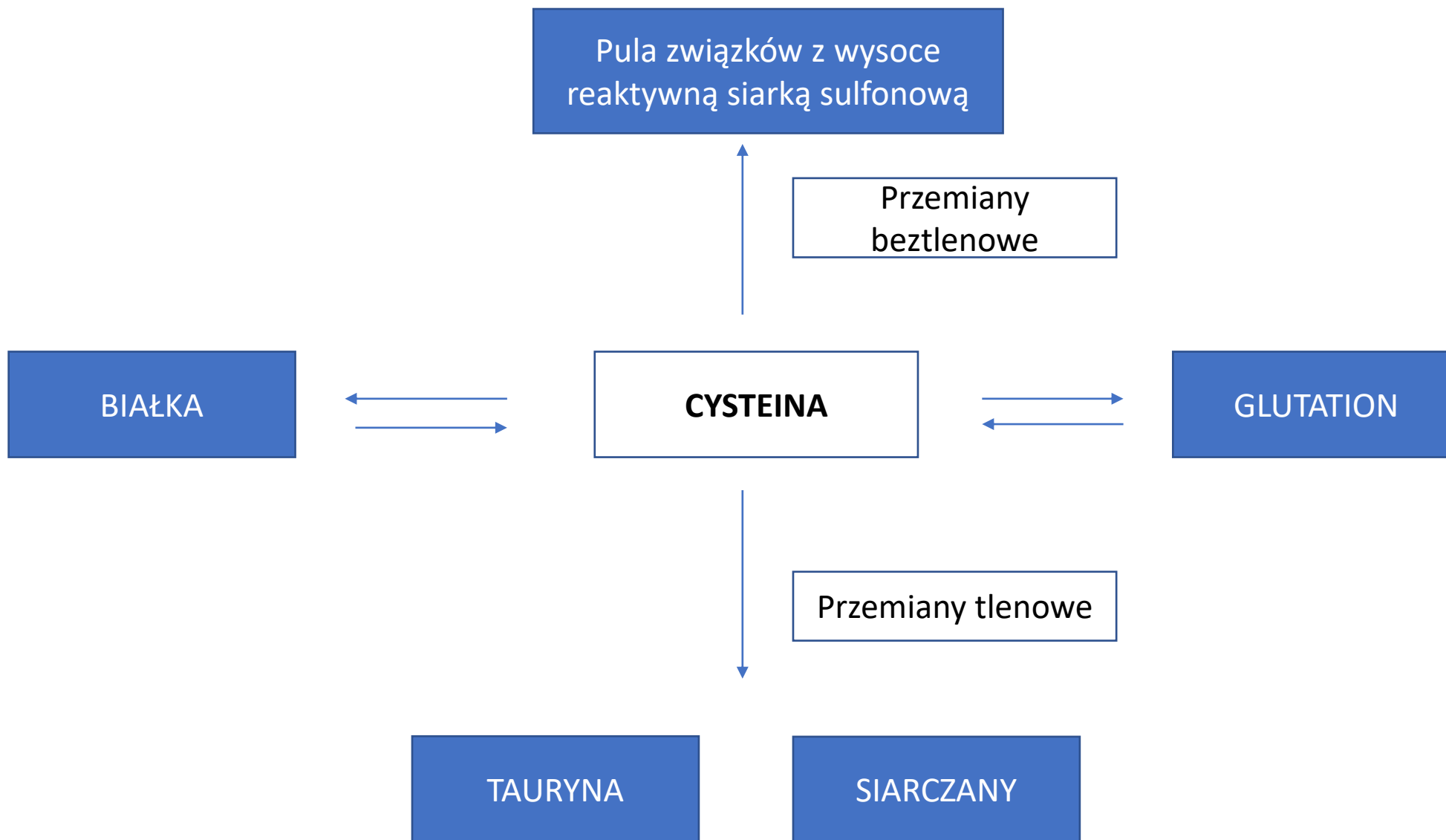
CYSTYNA



Cysteina, ze względu na swoją zdolność do tworzenia wiązań dwusiarczkowych, odgrywa kluczową rolę w strukturze białka i ścieżkach fałdowania białka.

W wyniku połączenia dwóch cząsteczek cysteiny poprzez mostek dwusiarczkowy powstaje cystyna (jest to więc dimer).

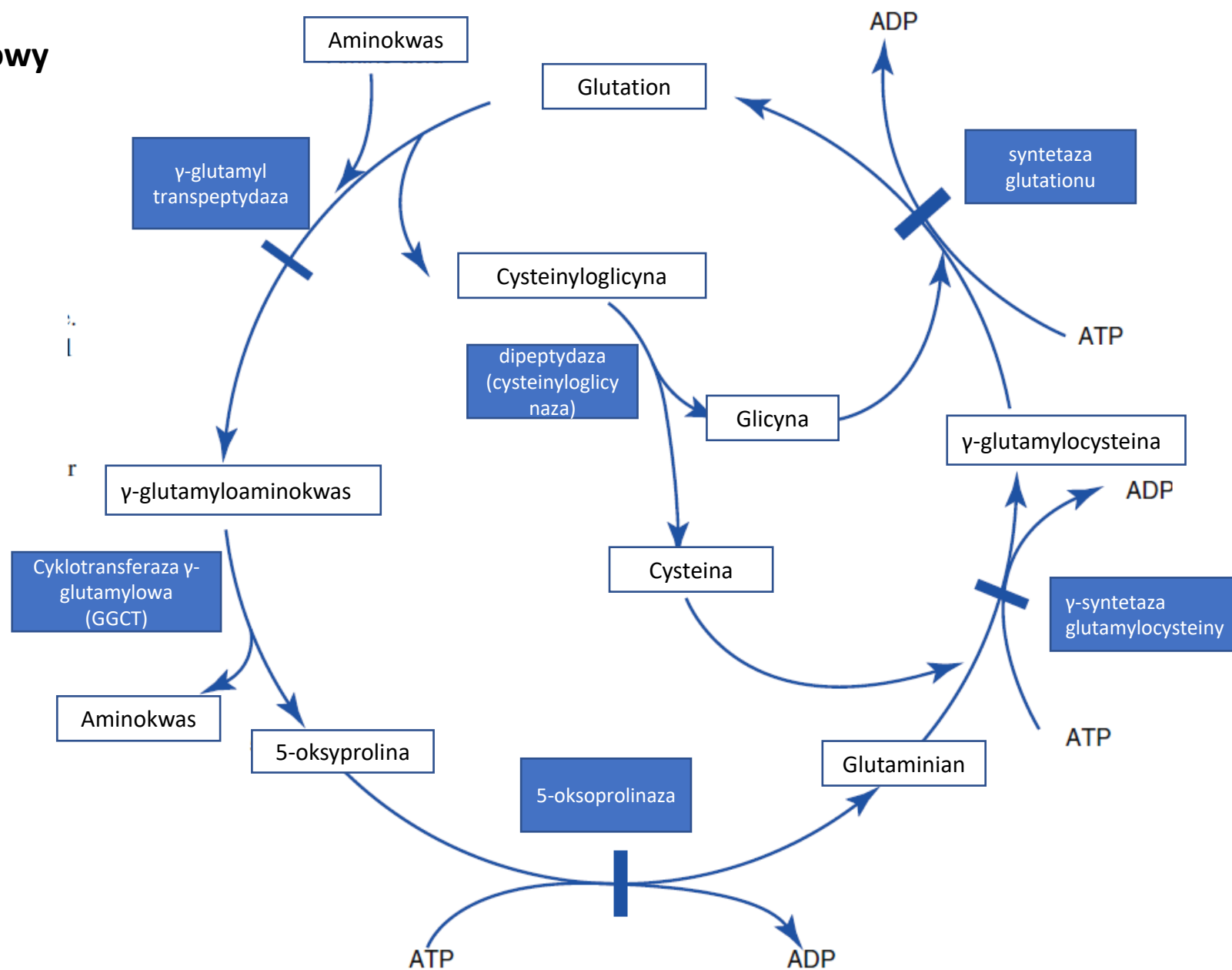




Funkcje glutationu

- Glutation to jedyny peptyd, który nie jest syntetyzowany na matrycy mRNA.
- Glutation, który jest wytwarzany i rozkładany w cykl γ -glutamylowym
- Głównym miejscem jego syntezy jest wątroba.
- Silny przeciwutleniacz
- Ochrona przed wolnymi rodnikami.
- Ochrona przed stresem oksydacyjnym.
- Układ oksydo-redukcyjny chroniący grupy –SH białek przed utlenieniem.
- Ochrona komórki przed uszkodzeniem ze strony toksyn.
- Istotny dla metabolizmu ksenobiotyków
- Koenzym dla niektórych enzymów oksydo-redukcyjnych

Cykl γ -glutamylowy



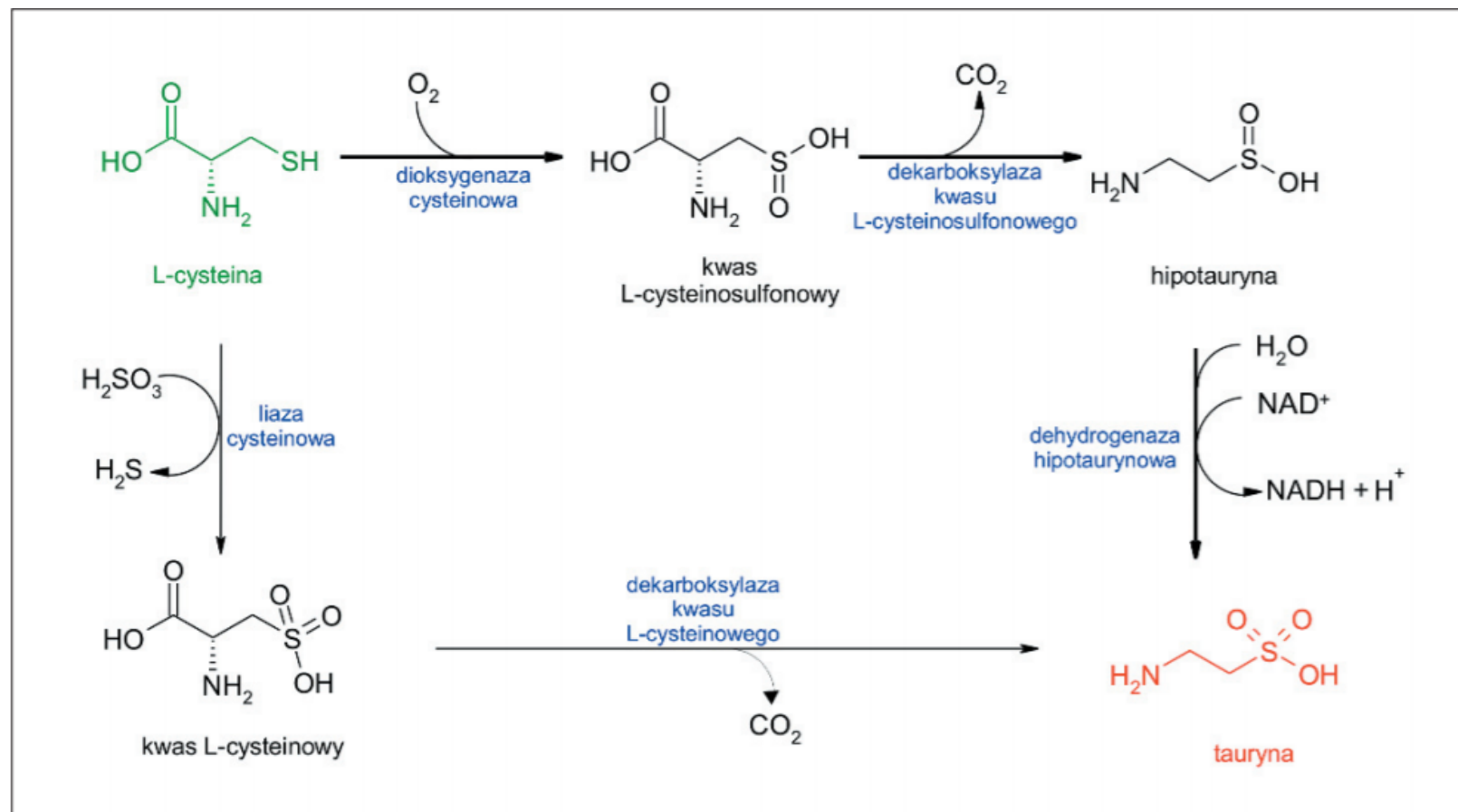
Tauryna (kwas 2-aminoetylosulfonowy)

- Aminokwas biogeny (niebiałkowy)
- W przeciwieństwie do aminokwasów białkowych nie ma kwasowej grupy karboksylowej, lecz grupę sulfonową.
- występuje powszechnie w tkankach zwierzęcych, największe stężenia osiągając w mięśniach szkieletowych, sercu, mózgu oraz siatkówce.
- Chociaż związek ten może być syntetyzowany w wyniku przemian innych aminokwasów siarkowych – cysteiny i metioniny, to endogenne wytwarzanie nie zaspokaja w pełni potrzeb organizmu człowieka i dlatego konieczne jest dostarczanie tauryny z pokarmem.
- Szczególnie bogatym źródłem tauryny są produkty zwierzęce, a zwłaszcza ryby i owoce morza.

Rola i funkcje tauryny

- Tauryna znana jest jako czynnik troficzny w czasie rozwoju ośrodkowego układu nerwowego (OUN) oraz jako neuroprzekaźnik i neuromodulator. Chroni przed neurotoksycznością wywołaną glutaminianem.
- Tauryna zmniejsza obciążenie serca dzięki zmniejszaniu oporów naczyń obwodowych przez:
 - obniżanie stężenia soli w organizmie oraz działanie diuretyczne,
 - modulowanie skurczu obwodowych naczyń krwionośnych,
 - działanie antagonistyczne względem angiotensyny II
- Obniżenia pobudliwości włókien mięśniowych
- Tauryna bierze udział w regulacji gospodarki wodno-elektrolitowej organizmu.
- moduluje przebieg reakcji zapalnej.
- Odpowiada za ochronę przed stresem oksydacyjnym
- Jest ważnym czynnikiem troficznym w siatkówce, układzie nerwowym i nerkach.
- Odgrywa rolę w regulacji metabolizmu glukozy (badania na szczurach wykazały, że tauryna powoduje zwiększenie intensywności glikolizy oraz wzmożone pobieranie i zużywanie glukozy przez komórki wątroby i serca)
- Stabilizuje błony komórkowe oraz reguluje fosforylację białek. Wiele działań tauryny dokonuje się na poziomie błony komórkowej, gdzie jak się uważa, tauryna modyfikuje fosfolipidy, a tym samym – funkcje błony.
- Uczestniczy w tworzeniu kwasów żółciowych

Przemiany tlenowe cysteiny

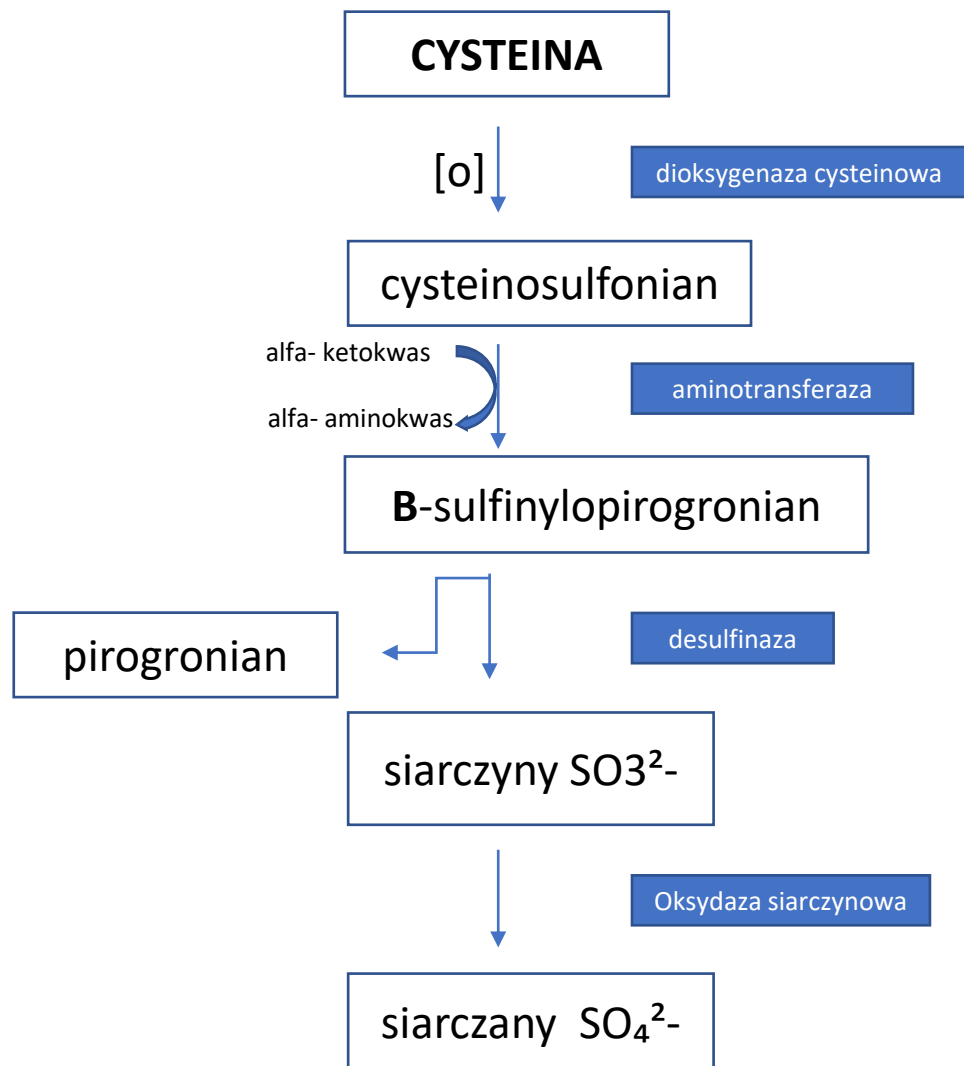


Postepy Hig Med Dosw (online), 2008; tom 62: 75-86

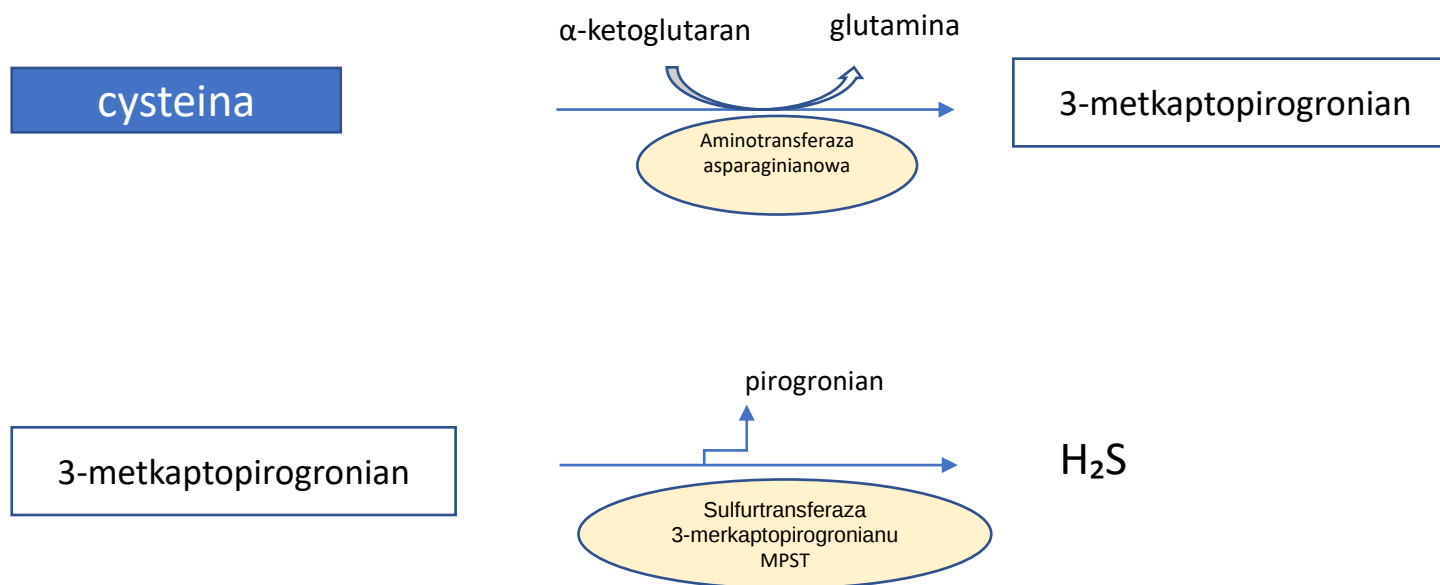
Przemiany cysteiny

- Szlak tlenowy, zwany też zależnym od kwasu cysteinosulfinowego, polega na przemianach tlenowych, w wyniku których powstają takie metabolity, jak siarczany oraz tauryna.
- Szlak beztlenowy - niezależny od kwasu cysteinosulfinowego, to przemiany beztlenowe stanowiące źródło niezwykle metabolicznie reaktywnej zredukowanej siarki, zwanej siarką sulfanową. Związki zawierające reaktywną siarkę sulfanową są endogennymi metabolitami powstającymi w komórkach ssaków w procesie desulfuracji cysteiny.

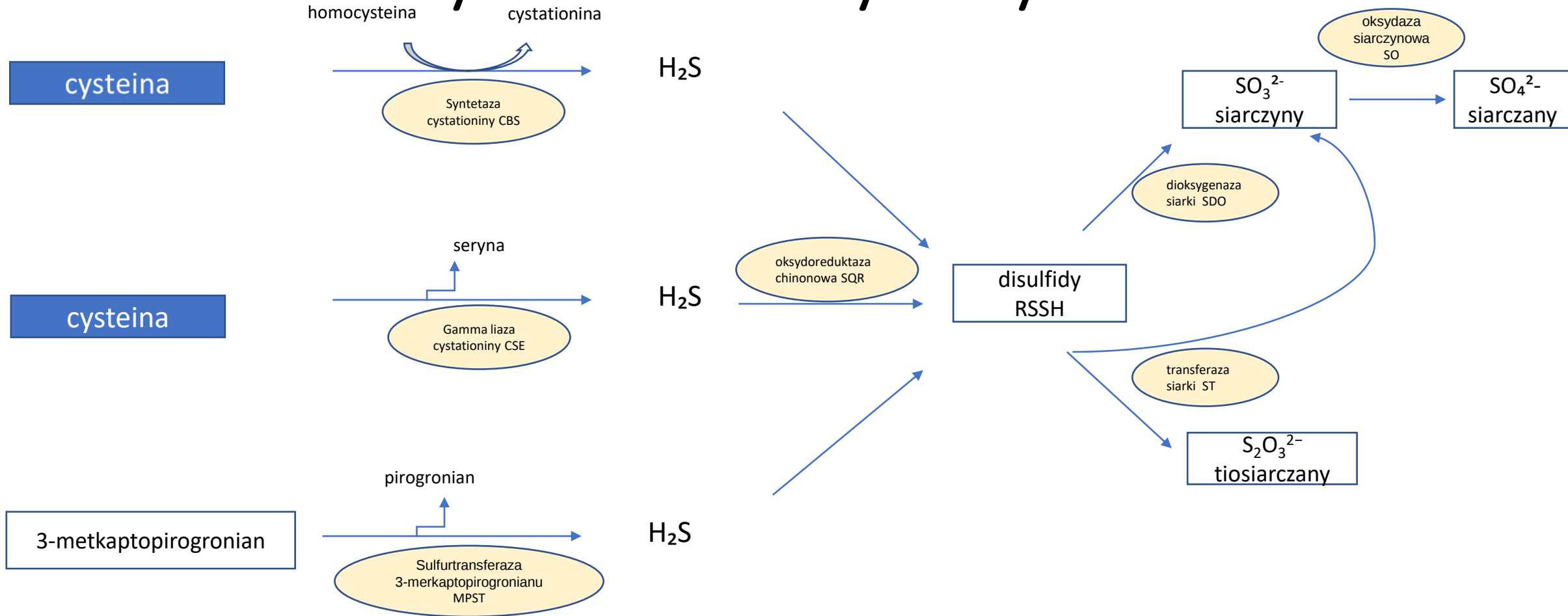
Przemiany tlenowe cysteiny



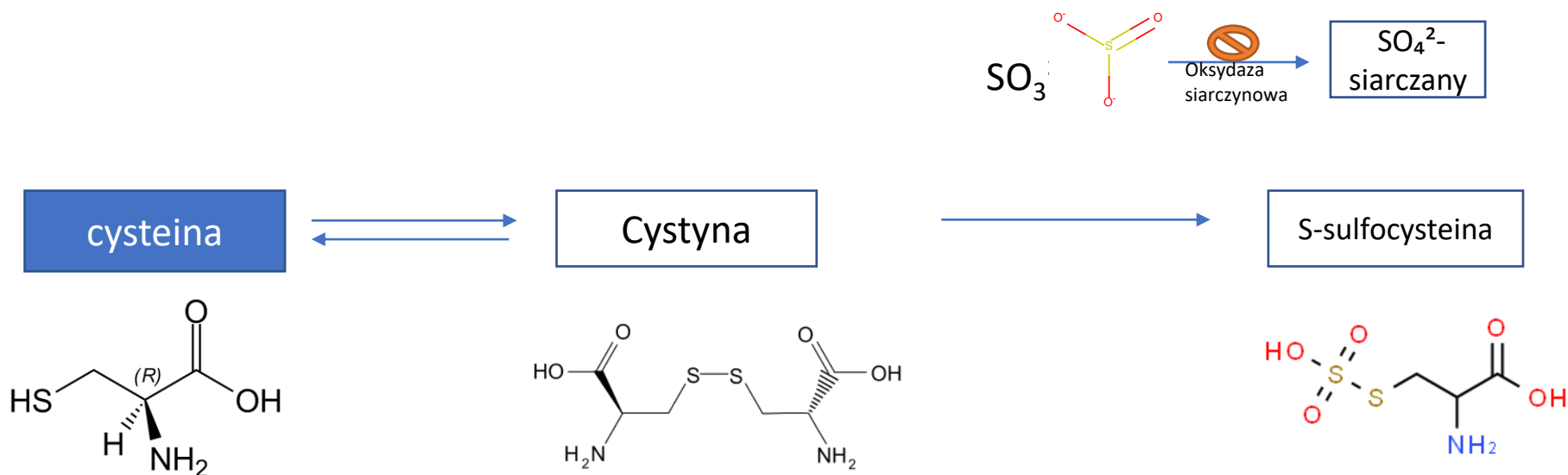
Przemiany beztlenowe cysteiny



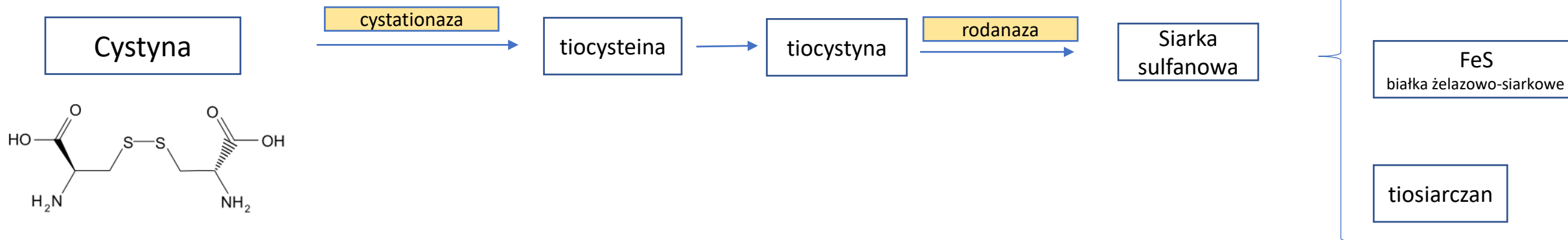
Przemiany beztlenowe cysteiny



Przemiany beztlenowe cysteiny



Przemiany beztlenowe cysteiny



Przemiany beztlenowe cysteiny

- Cysteina ulega spontanicznemu utlenieniu do disiarczku cystyny.
- Cystyna stanowi substrat dla cystationazy (CST), pod wpływem której ulega przekształceniu do zawierającego siarkę sulfanową tiocysteiny (Cy-S-SH).
- Nietrwała tiocysteina ulega przekształceniu w stabilną tiocystynę (Cy-S-S-S-Cy), będący substratem dla rodanazy.
- Rodanaza przenosi reaktywną siarkę z anionowych donorów (tiosiarczan, wodoronadsiarczki (R-S-SH), wielosiarczki (R-S-(S)_n-S-R), politioniany) na tiofilowe akceptory (cyjanek - tiocyjanianu, siarczan (IV)-tiosiarczanu), a także na białka żelazowo-siarkowe.
- Siarka sulfanowa może być transportowana w postaci nadsiarczków przez albuminy osocza
- Przemiany tlenowe i beztlenowe cysteiny wiążą się z sobą poprzez powstawanie i biodegradację tiosiarczanu

Siarka sulfanowa

- Labilny, niezwykle reaktywny atom siarki, występujący na 0 lub -1 stopniu utlenienia, związany kowalencyjnie z innym atomem siarki. Siarka o takich właściwościach łatwo opuszcza strukturę związku, przechodząc na różne akceptory, jak np.: siarczany (IV) (SO_3^{2-}), sulfiniany ($\text{R-SO}_2\text{-H}$) czy cyjanek (CN^-).
- Siarka sulfanowa odgrywa istotną rolę w procesie detoksykacji cyjanków oraz w powstawaniu białek żelazowo-siarkowych, a także może pełnić funkcję regulatorową w komórkach.

Związki tiolowe w diagnostyce

- Oznaczanie siarczanów i sarczynów – testy paskowe
- Cystyna w moczu (badanie jakościowe i ilościowe) – metoda kolorymetryczna
- Oznaczenie stężenia aminokwasów siarkowych i związków tiolowych (metionina, homocysteina, cysteina, cysteamina, cystyna, tauryna) – HPLC, MS/MS
- Ocena cyklu γ -glutamylowego
 - Oznaczenie stężenia glutationu formy zredukowanej/utlenionej – testy kolorymetryczne, HPLC
 - Oznaczenie stężenia γ -glutamylcysteina, cysteinyloglicyny – HPLC
- Oznaczenie stężenia S-adenozylometioniny i S-adenozylhomocysteiny – MS/MS
- Oznaczenie stężenia S-sulfocysteiny – MS/MS
- Ocena aktywności enzymów (CBS)