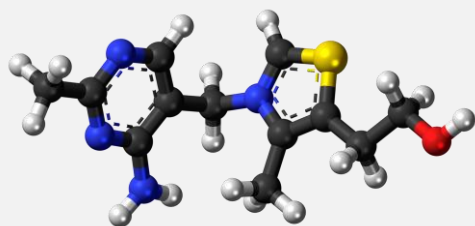
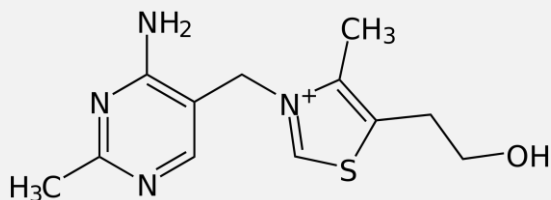


Tiamina jako główny kofaktor w przemianach metabolizmu aminokwasów rozgałęzionych

dr n.med. Katarzyna Kuśmierska

Zakład Badań Przesiewowych i Diagnostyki Metabolicznej

Instytut Matki i Dziecka



Witamina niezbędna do prawidłowych procesów metabolicznych komórki.

Wspomaga prawidłowe funkcje układu nerwowego, układu krążenia i mięśni:

Tiamina

- uczestniczy w oddychaniu komórkowym, odpowiada pośrednio za syntezę ATP
- odpowiada za syntezę nukleotydów oraz związków odpowiedzialnych za syntezę kwasów tłuszczowych
- posiada właściwości przeciwutleniające
- jest prekursorem FAD
- uczestniczy w przekazywaniu impulsów elektrycznych, ma pośredni wpływ na działanie neuroprzekaźników w ośrodkowym układzie nerwowym



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

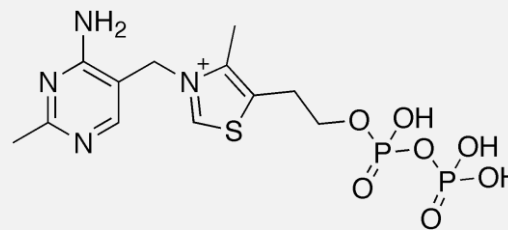
Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Tiamina

- rozpuszczalna w wodzie witamina z grupy B (B1)
- witamina działająca w mitochondriach jako kofaktor metabolizmu energetycznego oraz w cytoplazmie jako kofaktor szlaku biosyntezy pentozofosforanu;
- transport przez błonę wymaga obecności dwóch transporterów: THTR1 (kodowany przez SLC19A2) i THTR2 (kodowany przez SLC19A3);

- Jest przekształcana w aktywną formę, **PIROFOSFORAN TIAMINY (TPP)** przez kinazę kodowaną przez gen TPK1



- Do mitochondrium jest transportowana przez transporter TPP kodowany przez SLC25A19;

Pozyskiwanie cząsteczek ATP

- Spalanie węglowodanów
- Spalanie kwasów tłuszczowych
- Spalanie białek

- glikoliza w warunkach tlenowych
- oksydacja kwasów tłuszczowych
- wymaga hydrolizy do aminokwasów oraz ich degradacji do składników cyklu kwasu cytrynowego, a następnie powstanie acetylo-CoA oraz kolejno CO_2 i H_2O .

Pozyskiwanie ATP

- I etap
 - II etap
 - III etap
- brak pozyskiwania energii w reakcji rozpadu związków złożonych
 - niewielka ilość powstałej energii w postaci cząsteczek ATP
 - cykl kwasu cytrynowego i fosforylacja oksydacyjna - wspólny szlak końcowego utleniania cząsteczek pochodzących od różnych substratów energetycznych, największe pozyskanie energii

Nośniki grup i przenośniki elektronów:

• Częsteczka nośnika

Grupa przenoszona

- | | |
|--|------------------------|
| 1. ATP | fosforylowa |
| 2. NADH, NADPH | elektrony |
| 3. FADH ₂ , FMNH ₂ | elektrony |
| 4. Koenzym A | acylowa |
| 5. Lipoamid | acylowa |
| 6. Pirofosforan tiaminy | aldehydowa |
| 7. Biotyna | CO ₂ |
| 8. Tetrahydrofoian | fragmenty jednowęgłowe |
| 9. S-adenozylometionina | metylowa |
| 10. Urydynodifosforan glukozy | glukoza |
| 11. Trifosforany nukleozydów | nukleotydy |

Aktywna forma tiaminy, TPP

- jest grupą prostetyczną trzech ważnych enzymów:
 - dehydrogenazy pirogronianowej
 - dehydrogenazy α -ketoglutaranowej,
 - transketolazy

Wspólną cechą reakcji enzymatycznych zachodzących z udziałem TPP jest przenoszenie aktywowanych jednostek aldehydowych.

Niedobór tiaminy:

Choroba beri-beri jest spowodowana niską aktywnością kompleksów enzymatycznych dehydrogenazy pirogronianowej i α -ketoglutaranowej, a niska aktywność transketolazy w erytrocytach jest dobrym narzędziem diagnostycznym, podobnie jak podwyższone stężenia pirogronianu i α -ketoglutaranu we krwi i w moczu.

Pirofosforan tiaminy (TPP) jako kofaktor

Aktywna metabolicznie forma (TPP) jest kofaktorem kilku zależnych od tiamin enzymów zaangażowanych w metabolizm węglowodanów i kwasów tłuszczowych:

- transketolaza cytozolowa (TKT),
- peroksosomalna liaza 2-hydroksyacylo-CoA 1,
- trzy enzymy mitochondrialne: dehydrogenaza pirogronianowa, dehydrogenaza α -ketoglutaranu i kompleksy dehydrogenazy α -ketokwasów o rozgałęzionym łańcuchu.

Biologiczne znaczenie TTP (trifosforan tiaminy) w procesach metabolicznych nie jest do końca poznane.

TTP (który stanowi ok. 10% całkowitej puli tiaminy w mózgu) jest zaangażowany w przewodnictwo nerwowe działając jako modulator przepuszczalności kanałów sodowych ??

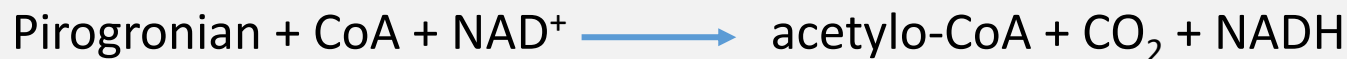


Kompleks dehydrogenazy pirogronianowej

- zespół trzech rodzajów enzymów:

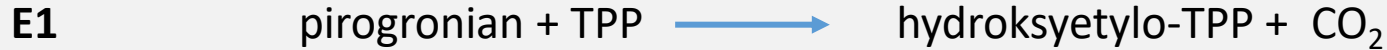
Enzym	Symbol	Liczba łańcuchów	Grupa prostetyczna	Katalizowana reakcja
Składnik o aktywności dehydrogenazy pirogronianowej	E1	24	TPP	Oksydacyjna dekarboksylacja pirogronianu
Acetylotransferaza dihydroliponianowa	E2	24	lipoamid	Przeniesienie grupy acetylowej na CoA
Dehydrogenaza dihydroliponianowa	E3	12	FAD	Regeneracja utlenionej formy lipoamidu

Sumaryczny przebieg procesu:



Kompleks dehydrogenazy pirogronianowej

dehydrogenaza pirogronianowa



grupa hydroksyetylowa ulega utlenieniu do grupy acetylowej i przeniesiona na lipoamid



acetylotransferaza dihydriliponianowa

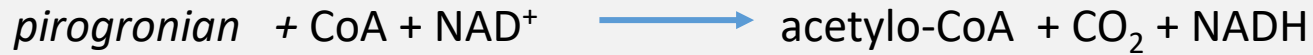
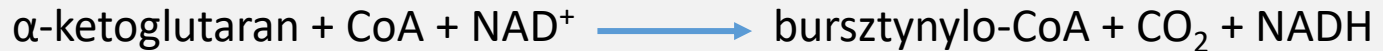


dehydrogenaza kwasu liponowego



Kompleks dehydrogenazy α -ketoglutaranowej

Oksydacyjna dekarboksylacja



Kompleks dehydrogenazy α -ketoglutaranowej składa się z trzech rodzajów enzymów:

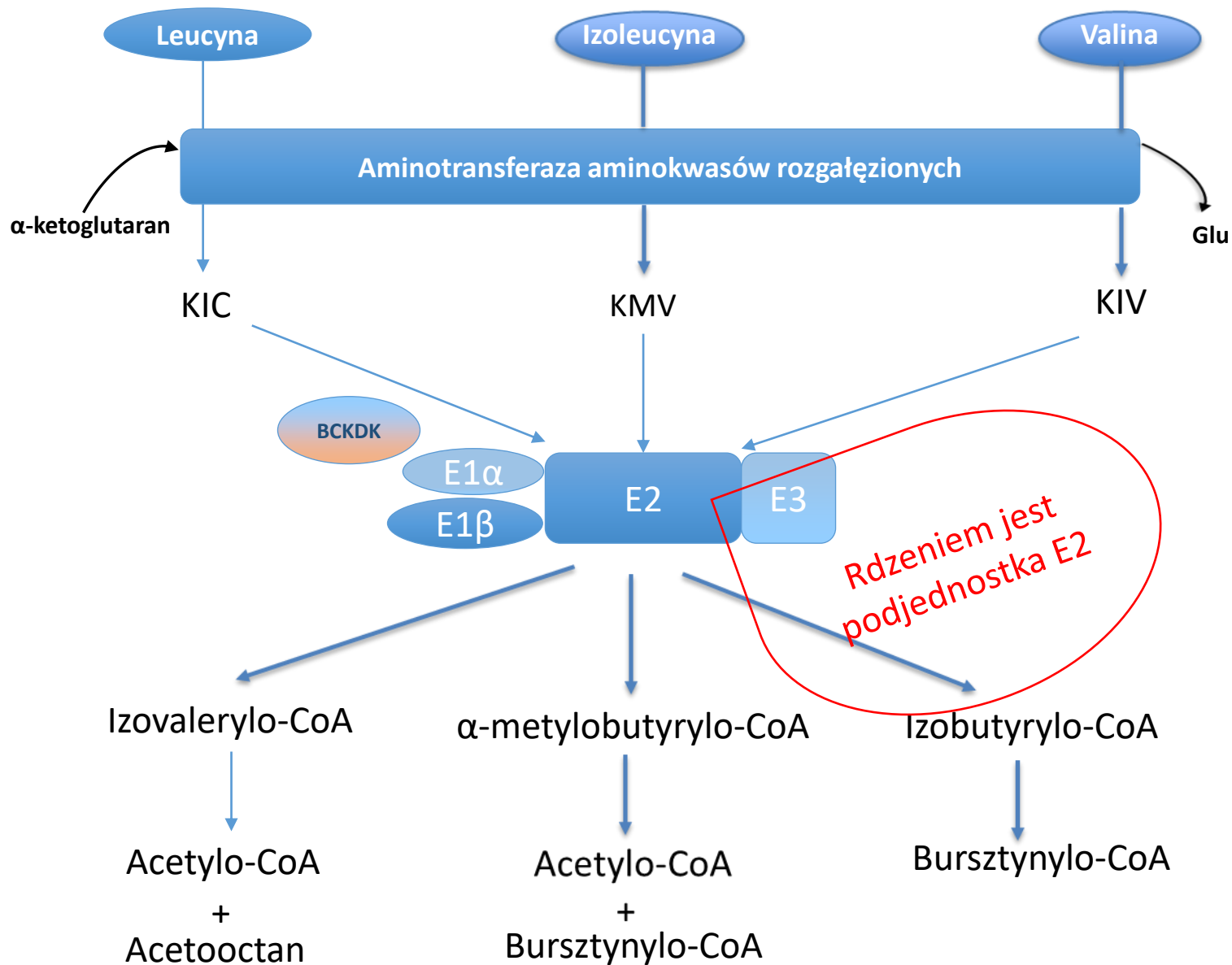
- dehydrogenazy α -ketoglutaranowej (E1')
- bursztynylotransferazy (E2')
- dehydrogenazy amidu kwasu liponowego (E3')

Rdzeniem tego kompleksu jest podjednostka (E2')

„Kompleksy dehydrogenazy pirogronianowej i dehydrogenazy α -ketoglutaranowej tworzą homologiczne zespoły wieloenzymatyczne”

Kompleks dehydrogenazy rozgałęzionych α -ketokwasów

- jest kompleksem enzymów podobnie jak homologiczne dehydrogenazy pirogronianowa i α -ketogluutaranowa.
- składnik E3 tych enzymów, który regeneruje utlenioną formę lipoamidu jest identyczny.
- Substratami dla enzymu są cząsteczki rozgałęzionych α -ketokwasów, powstałych z aminokwasów rozgałęzionych: waliny, izoleucyny i leucyny.
- W degradacji leucyny do acetylo-CoA i acetoctanu uczestniczy 7 koenzymów:
 - PLP podczas transaminacji
 - TPP
 - lipoamid
 - FAD
 - NAD⁺ } Dekarboksylacja oksydacyjna
 - FAD w reakcji odwodorowania
 - biotyna w reakcji karboksylacji



Kompleks dehydrogenazy rozgałęzionych α -ketokwasów

- TPP zależny enzym BCKDH, zlokalizowany na wewnętrznej błonie mitochondrialnej, katalizuje jeden z etapów przemian aminokwasów rozgałęzionych (BCAA): leucyny, izoleucyny i waliny,
- aminokwasy rozgałęzione są potrzebne do syntezy białek,
- homozygotyczna mutacja w podjednostce BCKDH E1 α powoduje tzw. chorobą syropu klonowego (MSUD), ze względu na wyraźny zapach syropu klonowego w moczu dzięki obecności w moczu alfa-keto-kwasom,
- Ciężka postać MSUD prowadzi do niepełnosprawności umysłowej,
- łagodna postać MSUD, zwana MSUD- tiamino wrażliwy, jest obecnie jedynym rozpoznanym wariantem, który można z powodzeniem leczyć suplementacją tiaminą.
- Fenotyp kliniczny zależy od: stopnia obniżenia aktywności enzymu, wieku wystąpienia pierwszych objawów, odpowiedź na leczenie witaminą B1

Kompleks dehydrogenazy rozgałęzionych α -ketokwasów

Kompleks dehydrogenazy rozgałęzionych α -ketokwasów składa się z pięciu składników

E1 – dekarboksylaza α -ketokwasów o rozgałęzionych łańcuchach zależnych od pirofosforanu tiaminy (TPP)

E2- transcytlaza dihydrolipoilowej (zawierającej lipoamid)

E3 – dehydrogenaza dihydrolipoamidowej (zawierającej FAD)

Kinaza białkowa

Fosfataza białkowa

Choroba syropu klonowego może być wynikiem upośledzenia różnych składników kompleksu dekarboksylazy α -ketokwasów

Składnik kompleksu dekarboksylazy α -ketokwasów		MSUD
E1 α	Dekarboksylaza α -ketokwasów	Typ 1A
E1 β	Dekarboksylaza α -ketokwasów	Typ 1B
E2	Transacylaza dihydrolipoilowa	Typ II
E3	Dehydrogenaza dihydrolipoamidowa	Typ III

Kompleks dehydrogenazy pirogronianowej (PDH).

- katalizuje zależną od TPP dekarboksylację pirogronianu, generując acetylo-CoA, który następnie wchodzi w cykl Krebsa.
- regulacja aktywności PDH jest kluczowym przełącznikiem metabolicznym decydującym o doborze procesów pozyskiwania energii, czyli pomiędzy utlenianiem kwasów tłuszczowych a procesem glikolizy.

Brak możliwości regulacji procesów pozyskiwania energii prowadzi do tzw. „**nieelastyczności metabolicznej**”:

- hamowanie kompleksu PDH spowodowane przez niedobór tiaminy blokuje proces utleniania glukozy do pirogronianu, co prowadzi do wzrostu kwasu mlekowego i spadku syntezy ATP
- w ciężkich przypadkach deficyt metaboliczny objawia się ciężką kwasicą mleczanową w pierwszych dniach życia,
- w łagodniejszych przypadkach mogą występować objawy neurologiczne prowadzące do nieprawidłowości strukturalnych w ośrodkowym układzie nerwowym, drgawek, opóźnienia psychoruchowego.

Kompleks dehydrogenazy α -ketoglutaranianu (α KGDH).

- TPP zależny enzym katalizuje tworzenie sukcylo-CoA z α -ketoglutaran w cyklu Krebsa i zredukowanego dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NADH).
- Niskie stężenie TPP wyraźnie zmniejsza aktywność α KGDH, zmniejszając tym samym produkcję ATP i powodując gromadzenie się glutaminianu, utrudniając metabolizm oksydacyjny prowadzący do neurodegeneracji OUN

.

Kompleks dehydrogenazy rozgałęzionych α -ketokwasów

- Polega na blokowaniu dekarboksylacji oksydacyjnej α -ketokwasów powstałych z aminokwasów rozgałęzionych, przez brak lub obniżoną aktywność dehydrogenazy rozgałęzionych α -ketokwasów.
- Prowadzi to do istnego zwiększenia stężenia aminokwasów rozgałęzionych w osoczu, moczu
- Diagnostyka opiera się badaniach przesiewowych noworodków, dzięki czemu jest wcześniej wykrywana i umożliwia wczesne wprowadzenie diety
- Potwierdzeniem choroby MSUD jest oznaczenie profilu aminokwasów w osoczu metodą HPLC z detektorem fluorescencyjnym oraz badaniem molekularnym.
- Profil aminokwasów w osoczu umożliwia różnicowanie zaburzeń metabolizmu aminokwasów rozgałęzionych:
 - Wzrost stężenia waliny, leucyny, izoleucyny oraz obecność alloizoleucyny – wskazuje na MSUD
 - Wzrost stężenia waliny, leucyny i izoleucyny bez obecności alloizoleucyny, oraz podwyższony poziom kwasu mlekowego – wskazuje na deficyt podjednostki E3

Transporter tiaminy?

Mutacja w genie **SLC19A3** powoduje zaburzenie zwojów podstawy mózgu reagujące na leczenie biotyną i tiaminą.

Najczęściej występuje w okresie przedszkolnym i wczesnoszkolnym.

Zróżnicowany fenotyp kliniczny: drgawki, dystonia, dysfagia prowadząca do śpiączki

Pacjenci nie wykazują deficytu biotynidazy i holokarboksylazy.