

Pirydoksyna w przemianach neurotransmiterów

dr n.med. Katarzyna Kuśmierska
Zakład Badań Przesiewowych i Diagnostyki Metabolicznej
Instytut Matki i Dziecka

Pirydoksyna

- Witamina rozpuszczalna w wodzie
- Uczestniczy w przemianach zarówno ważnych aminokwasów jak i neurotransmiterów
- Jest odpowiedzialna za występowanie drgawek i padaczki lekoopornej

B6 - zależne zaburzenia należą do grupy wrodzonych wad metabolizmu spowodowane:

- brakiem aktywności oksydazy fosforanu pirydoksaminy (def. PNPO)
- inaktywacją PLP w pirydoksyno-zależnej padaczce (PDE)
- hiperprolinemią typu II
- zmniejszoną syntezą lub dostępnością PLP
- wrodzoną hipofosfatazją

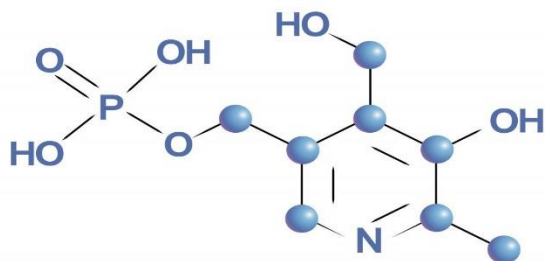
Pirydoksyna jako główny kofaktor przemian aminokwasów

- Aminokwasy - najważniejsze związki małowcząsteczkowe uczestniczące w metabolizmie komórki

- Grupa α -aminowa aminokwasu jest odłączana, a pozostały szkielet węglowy jest przekształcany do głównego intermediatu metabolicznego.

- Liczne koenzymy odgrywają kluczową rolę w rozkładzie aminokwasów:

- Fosforan pirydoksalu (PLP)
- Kobalamina (B12)
- Tiamina (B1)
- Kwas foliowy (B9)



Pyridoxal phosphate

- Aktywna forma pirydoksyny

Witaminery B6

Pod względem chemicznym witaminery B6 są pochodnymi 2-metylo-3-hydroksy-5-hydroksymetylopirydyny:

- podstawnikiem w pirydoksynie jest grupa hydroksymetylowa ($-\text{CH}_2\text{OH}$),
- podstawnikiem w pirydoksaminy jest grupa aminometylowa ($-\text{CH}_2\text{NH}_2$),
- podstawnikiem w pirydoksalu jest grupa aldehydowa ($-\text{CHO}$)

- PLP jest jedyną formą, która pełni rolę kofaktora enzymów, dzięki grupie aldehydowej.

- PLP przez reaktywną grupę aldehydową może być zaangażowany w inne, niepożądane reakcje z makrocząsteczkami w komórce (forma stresu aldehydowego lub karbonylowego) czy niepożądane reakcje reaktywnych form tlenu.

140 zależnych od PLP reakcji (70 w organizmie człowieka)

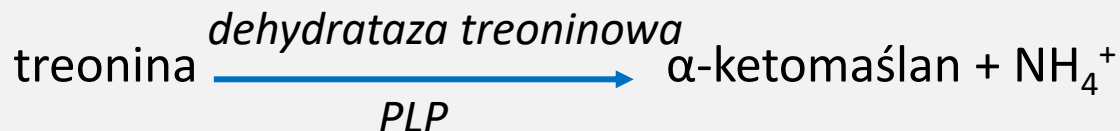
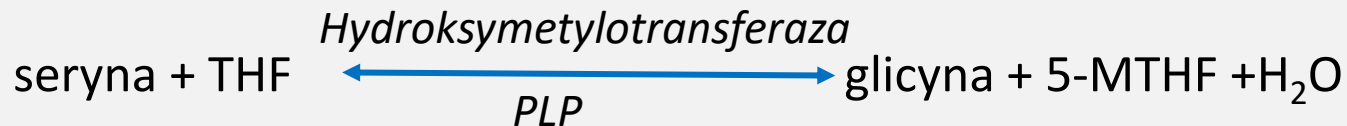
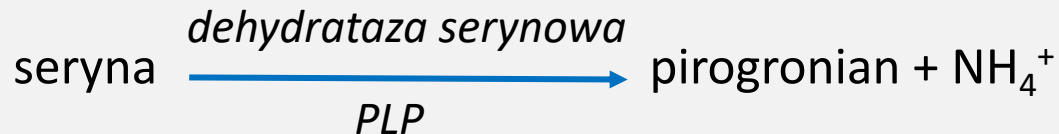
- komórka utrzymuje wewnątrzkomórkowe poziomy wolnego PLP w granicach 1 μM , aby uniknąć niepożądanych reakcji.
- Zaangażowanie PLP w szlaki metaboliczne jest często widoczne w stanach niedoboru PLP, które mogą być związane z nieprawidłowościami biochemicznymi, np. podwyższona treonina w osoczu i glicyna lub niski poziom kwasu γ -aminomasłowy w CSF.

Reakcje obejmują różnorodne szlaki metaboliczne, w tym:

- metabolizm aminokwasów i neuroprzekaźników,
- metabolizm kwasu foliowego,
- syntezę białek i poliamin, węglowodanów i lipidów

Szlaki metaboliczne aminokwasów:

Glicyna i treonina – podstawowe markery niedoboru PLP w profilu aminokwasów



Synteza tryptofanu

Enzym – syntaza tryptofanowa może dysocjować na dwie podjednostki α i β_2
Podjednostki katalizują częściowe reakcje, które prowadzą do syntezy tryptofanu:

indolo-3-fosfoglicerol $\xrightarrow{\text{podjednostka } \alpha}$ indol + aldehyd-3-P-glicerynowy

indol + seryna $\xrightarrow{\text{podjednostka } \beta_2}$ tryptofan + H_2O

Każde miejsce aktywne na podjednostce β_2 zawiera PLP

Aminokwasy siarkowe zależne od PLP

1/ **syntaza β -cystationiny**, PLP zależny enzym, katalizujący reakcję kondensacji seryny z homocysteiną dając cystationinę;

2/ **cystationaza**, PLP zależny enzym, katalizujący reakcje deaminacji – rozpad cystationiny na cysteinę i α -ketomaślan.

Homocysteina + seryna $\xrightarrow{\quad}$ cystationina $\xrightarrow{\quad}$ cysteina + α -ketomaślan

PLP w przemianach aminokwasów siarkowych

Niedobór fosforanu pirydoksalu/zaburzenie przyłączenia kofaktora do miejsca aktywnego enzymu wiąże się z obniżoną aktywności CBS i podwyższonym stężeniem homocysteiny a tym samym silniejszą aktywacją szlaku remetylacji i syntezy metioniny i SAM.

Zablokowanie nieodwracalnego szlaku transsulfuracji ogranicza syntezę cystationiny, cysteiny i glutationu i może nasilać stres oksydacyjny.

Niewystarczająca ilość PLP upośledza również inne istotne dla pracy OUN związki, jak neurotransmitery: aminy biogenne, glutaminian, GABA, glicyna.

Połączenie wszystkich szlaków zależnych od PLP prowadzi do zróżnicowanego fenotypu klinicznego.

PLP w przemianach biochemicznych amin biogennych

PLP jest kofaktorem dekarboksylazy aminokwasów aromatycznych (AADC) odpowiadającej za syntezę dopaminy i serotoniny.

Odpowiada za przemiany kwasu glutaminowego i syntezę GABA

Zaburzenie na dowolnym etapie szlaku dopaminergicznego, serotonergicznego i GABAergicznego prowadzi do niedoborów amin biogennych i GABA.

- Serotonina oddziałuje na ośrodkowy układ nerwowy, wpływa na apetyt, sen lub funkcje poznawcze, a także jest dobrze znana ze swojej zdolności do poprawy ogólnego nastroju.
- Dopamina wpływa na współczulny układ nerwowy tam, gdzie się znajduje, bierze udział w regulacji ciśnienia krwi i tętna,
- GABA jest głównym czynnikiem hamującym, który szeroko kontroluje nadaktywność neuronów

Deficyt AADC

Deficyt AADC – dziedziczony autosomalnie recesywnie, mutacja w genie *DDC*.

Wzrost stężenia L-dopa powoduje wzrosty metylacji L-dopy do 3-OMD.

Wzrost zapotrzebowania na grupy metylowe potrzebne do syntezy 3-OMD powoduje redukcje stężenia S-adenozylometioniny w CNS a czasami również redukcje stężenia 5-MTHF w PMR. Ma to silne powiązanie z metabolizmem homocysteiny i procesów metylacji.



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Deficyt dekarboksylazy L-aminokwasów aromatycznych

PŁYN MÓZGOWO-RDZENIOWY	
3-Orto-metyl-dopa	↑↑
5-hydroksytryptofan	↑
5-HIAA	↓
HVA	↓
L-dopa	N-↑
3-metoksy-4-hydroksyfenyloglikol	N-↓
5-MTHF	N-↓
PLP	N
KREW, MOCZ	
Aktywność AADC	↓
VLA, VPA, AVA	N-↑
3-Orto-metyl-dopa	N-↑
L-dopa, 5-HT	N-↑
Prolaktyna(krew)	N-↑
Serotonina (krew), noradrenalina (krew)	N-↓
Dopamina (mocz), dihydroksyfenylomlekowy kwas (mocz)	N-↑

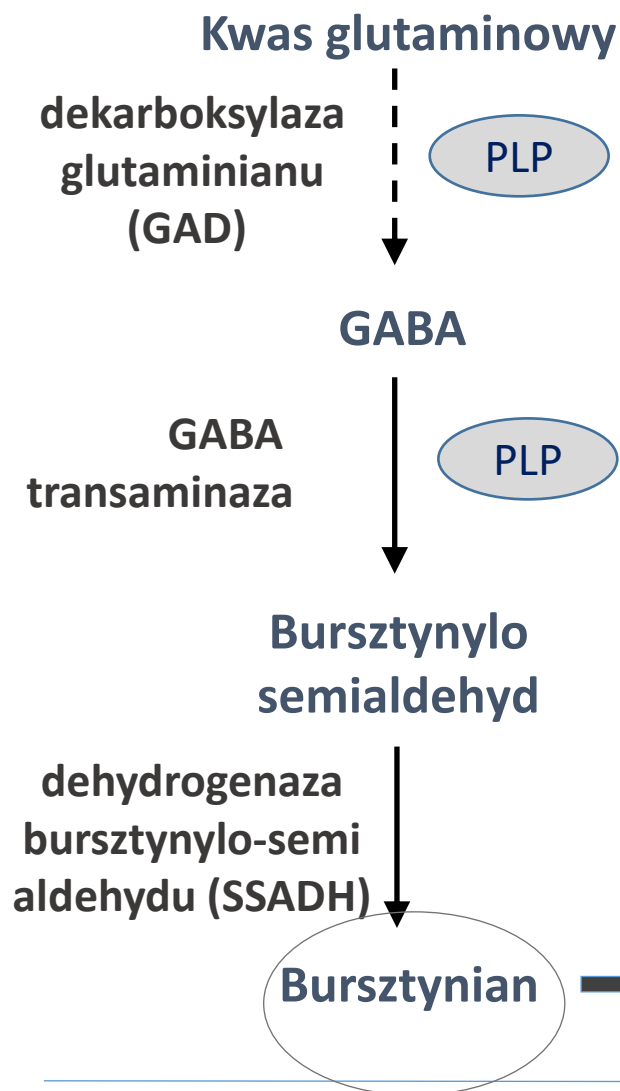


PLP w metabolizmie glutaminianu

Glutaminian:

- Jest wzbudzającym neurotransmiterem w ośrodkowym układzie nerwowym i odpowiada za uczenie, pamięć oraz wyższe funkcje poznawcze
- Jest potrzebny do syntezy kwasu gamma-aminomasłowego (GABA) i glutationu
- Jest prekursorem N-acetyloglutaminianu, który jest wykorzystywany do detoksykacji amoniaku w cyklu mocznikowym
- Stężenie glutaminianu rośnie w erytrocytach w zaburzeniach cyklu mocznikowego

Metabolizm kwasu glutaminowego



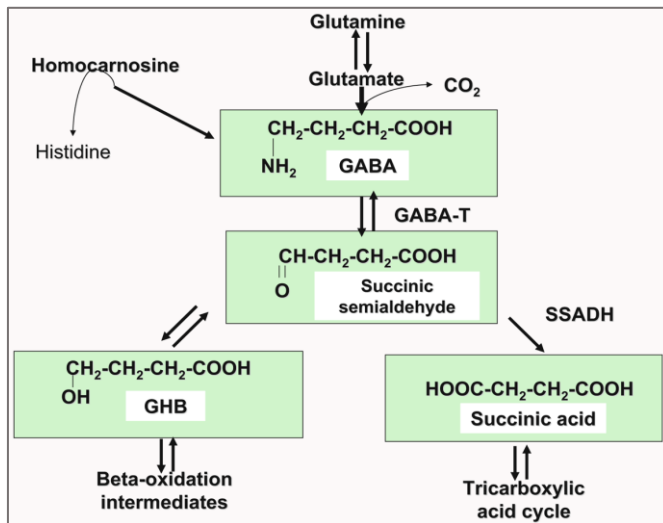
Nieprawidłowy metabolizm kwasu glutaminowego:

- niedobór witaminy B6/PLP
- deficyt transaminazy GABA
- deficyt SSADH

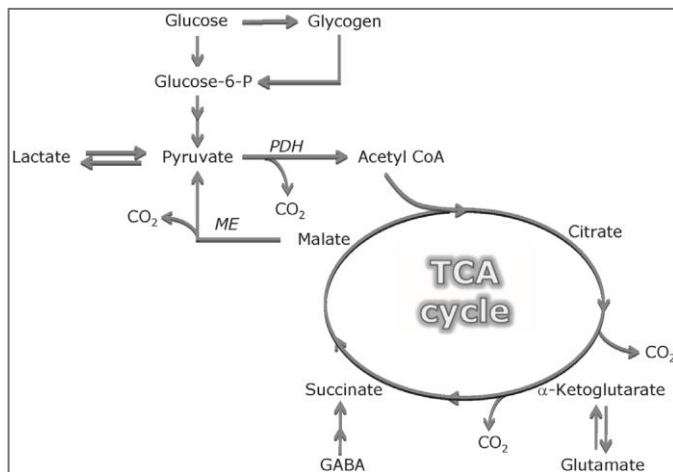
Obejmuje transaminację α -ketoglutaranu do glutaminianu, który następnie ulega dekarboksylacji do GABA

α -ketoglutaranu potrzebny do przyjmowania grup aminowych musi być obecny we wszystkich procesach transaminacji GABA do SSAD

Fosforan pirydoksalu w przemianach kwasu glutaminowego



Synteza kwasu γ -aminomasłowego



Reakcje glikolizy i obrotu glikogenu oraz procesy zwane „recyklingiem pirogronianu”. Te ostatnie reakcje wymagają, dehydrogenazy pirogronianowej (PDH) i cyklu kwasu trikarboksylowego (TCA) w celu metabolizowania szkieletu glutaminianu i GABA do CO₂.

Energy Substrates to Support Glutamatergic and GABAergic Synaptic Function: Role of Glycogen, Glucose and Lactate, Neurotoxicity Research, 2007, VOL. 12(4). pp. 263-268

Metabolizm seryny i glicyny – ściśle powiązany z PLP i kwasem foliowym

- Seryna dostarcza jeden atom węgla w postaci grupy formylowej do syntezy puryn i grupy metylowej do syntezy pirymidyn,
- Uczestniczy w reakcjach metylacji poprzez hydroksymetylotransferazę serynową katalizującą reakcje syntezy glicyny z seryny w obecności kwasu foliowego, który ulega redukcji do 5,10-MTHF wykorzystywanego w syntezie metioniny z homocysteiny,
- Podobnie jak glicyna, D- seryna jest ligandem dla receptorów NMDA, które są kluczowymi receptorami neurotransmitterowymi w mózgu,
- Receptory NMDA wymagają do swojej aktywacji dwóch agonistów: glutaminianu i glicyny,
- Stężenie seryny w PMR w pierwszych miesiącach życia jest największe, nawet do 65 $\mu\text{mol/l}$.

Seryna:

- Seryna w mózgu pochodzi z dwóch źródeł: wchłaniania i biosyntezy.
- Biosynteza seryny jest ubocznym szlakiem glikolizy.
- Pierwszym etapem jest utlenianie 3-fosfoglicerynianu (3-PG) do 3-fosfohydroksypirogronianu przez dehydrogenazę 3-fosfoglicerynianową (PHGDH)
- Konwersja 3-fosfohydroksypirogronianu do 3-fosfoseryny jest katalizowana przez aminotransferazę fosfoseryny, enzym zależny od PLP.
- Zaburzenia na szlaku biosyntezy seryny są przyczyną ciężkich objawów klinicznych związanych z zaburzeniami neurologicznymi:
 - wrodzoną mikrocefalią,
 - ciężką epilepsją i nieprawidłowy rozwój
- W CSF obserwuje się bardzo niskie stężenie seryny i glicyny.

PLP w metabolizmie glicyny

- Produkcja glicyny zależy od dostępności seryny i enzymu SHMT (hydroksymetylotransferaza seryny) zależnego od PLP.
- SHMT katalizuje przeniesienie grupy metylowej seryny do tetrahydrofolianu (THF), umożliwiając powstanie 5,10-metylenotetrahydrofolianu (5,10-metyloenetTHF) i glicyny.
- 5,10-metyleno-THF jest przekształcany przez enzym reduktazę metylenotetrahydrofolianową (MTHFR) do 5-MTHF, głównej krążącej formy folianu, która może służyć jako donor grup metylowych w tworzeniu S-adenozylometioniny (SAM).
- połączenie mniejszej ilości seryny z PLP może prowadzić do niższej aktywności SHMT, wyjaśniając spadek wewnątrzkomórkowego stężenia 5-MTHF w komórkach z niedoborem witaminy B6.

Glicyna jako neuroprzekaźnik

Glicyna jest małym aminokwasem, który odgrywa istotną rolę w:

- metabolizmie komórki jako podstawowy związek wykorzystywany w wielu procesach biochemicznych zachodzących w komórce
- ośrodkowym układzie nerwowym jako neurotransmitter hamujący i aktywujący.

Glicyna działa jako neuroprzekaźnik hamujący dla receptorów glicynowych lub jako koagonista potrzebny do aktywacji receptorów NR1-NR3 NMDA, których rola i funkcja pozostają nadal niejasne; do pobudzenia przez receptor NMDA potrzebny jest glutaminian i glicyna

Glicyna ulega procesom: przekształcaniu, degradacji i utlenianiu

- Glicyna ulega przekształceniu w serynę w reakcji z hydroksymetylotransferazą serynową w obecności THF i PLP;
- Degradacja glicyny ma miejsce w wątrobie za pomocą mitochondrialnego kompleksu rozpadu glicyny, który rozkłada glicynę do CO_2 i NH_4^+ tworząc 5,10-metyleno-THF w obecności PLP jako kofaktora;
- Glicyna jest utleniana przez oksydazę D-aminokwasów do glioksalanu, który następnie ulega utlenieniu w obecności NAD^+ do szczawianu.

Nieketotyczna hiperglicynemia (NKH)

W 2016 r, Alfadhel opublikował pierwszy przypadek pacjenta z hiperglicynemią nieketotyczną spowodowaną mutacją w genie SLC6A9, który koduje transporter glicyny I (OMIM 617301)

W tym samym roku Kurolap opisał kolejnych 5 pacjentów z tą samą mutacją w genie SLC6A9.

Te zaburzenie występuje pod kilkoma nazwami:

- encefalopatia glicynowa z prawidłowym stężeniem glicyny w surowicy/osoczu
- encefalopatia transportera glicyny I
- klasyczna hiperglicynemia nieketotyczna: $\text{Gly (PMR)} / \text{Gly (P)} < 0,04$

Hiperglicynemia a acyduria propionowa i metylomalonowa

Kwasica propionowa z grupy kwasów organicznych, spowodowana deficytem karboksylazy propionylo-koenzymu A,

charakteryzującą się mogącym zagrażać życiu epizodami dekompensacji metabolicznej, zaburzeniami neurologicznymi i powikłaniem w postaci kardiomiopatii.

Rzadka choroba występująca z częstością 1:100 000 urodzeń

Kwasica propionowa jest spowodowana mutacjami w genach PCCA (13q32) lub PCCB (3q21-q22) kodującymi alfa i beta podjednostki karboksylazy propionylo-koenzymu A.



Wrodzone zaburzenia związane z PLP

1. Hipofosfatazja – niedobór fosfatazy alkalicznej (TNSALP)
2. Hiperfosfatazja – niedobór fosfatydyloinozytolu glikanu (PIGV)
3. Hiperprolinemia typu II – deficyt dehydrogenazy 5-karboksyланu piroliny (P5C)

Fenotyp kliniczny:

- drgawki i padaczka lekooporna
- hiperkalcemia (TNSALP – def.)
- niepełnosprawność intelektualna (P5C)
- dysmorfia (PIGV)

Hiperprolinemia II

W hiperprolinemii typu II mutacje w genie ALDH4A1 prowadzą do niedobór dehydrogenazy 5-karboksyланu piroliny (P5C), która katalizuje drugi etap katabolizmu proliny.

- P5C może reagować z PLP i go dezaktywować,
- prolina jest znacznie podwyższona w osoczu (często $> 1000 \mu\text{M}$),
- P5C można wykryć w moczu na podstawie reakcji barwnej z orto-aminobenzaldehydem.
- Analiza profilu kwasów organicznych w moczu może wykazać obecność pirolo-2-karboksyglicyny,

- **Enzymatyczne reakcje**
- Szlak kynureniny (synteza kwasu ksantureninowego)
- Szlak ornitynowy (synteza poliamin)
- Synteza glicyny i 5,10-metylenetetrahydrofolianu z tetrahydrofolianu i seryny
- Synteza cysteiny z homocysteiny

Zdolność antyoksydacyjna witaminy B6:

- silne właściwości przeciwutleniające witaminy B6, która jest wysoce skuteczna w wygaszaniu reaktywnych formy tlenu o podobnym potencjale jakie są opisane dla karotenów i tokoferoli
- Witamina B6 w układzie sercowo-naczyniowym

Podsumowanie

- Biosynteza witaminy B6 i jej funkcja jako kofaktor zostały dobrze poznane,
- Witamina B6 może być wykorzystywana jako suplement diety, ale może być również stosowana jako środek farmakologiczny do leczenia.
- Podobnie, PLP może być stosowany jako środek leczniczy.
- Jednak dokładne mechanizmy tego, w jaki sposób wit. B6 jest korzystna, są często wciąż nieuchwytne i solidne zdefiniowanie ich jest prawdopodobnie jednym z trudniejszych zadań w najbliższej przyszłości.