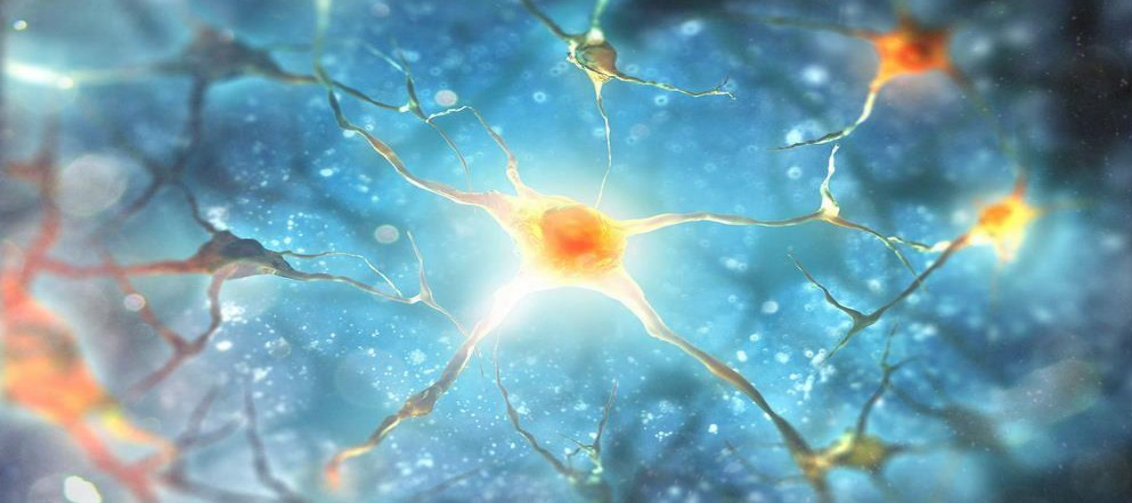
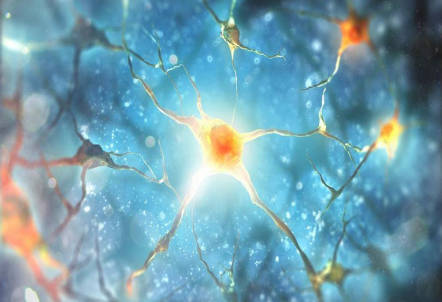




Aminokwasy jako neuroprzekaźniki w OUN

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



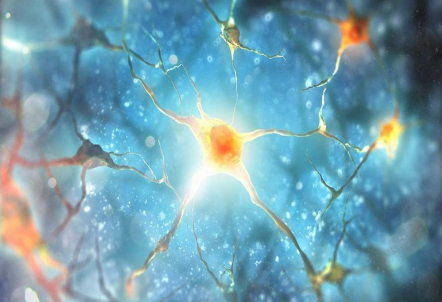
Neurotransmisja

ciąg procesów umożliwiających przekazanie sygnału z jednej komórki do drugiej.

U człowieka podstawową rolę w przekazywaniu pobudzenia pomiędzy komórkami nerwowymi odgrywają synapsy chemiczne.

Transmisja sygnału między synapsami chemicznymi obejmuje uwalnianie z komórki presynaptycznej cząsteczek (neuroprzekaźnika lub neuromodulatora), które wiążą się z receptorami na błonie postsynaptycznej komórki docelowej,

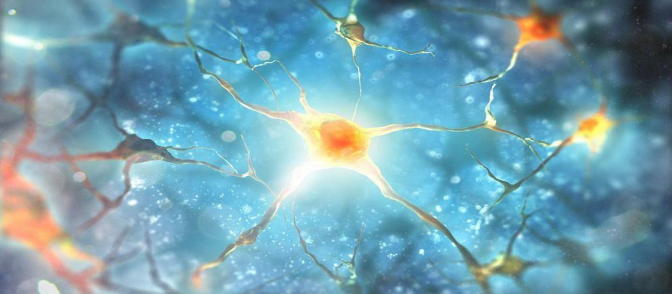
Neurotransmisja chemiczna nie ogranicza się do synaps ośrodkowego układu nerwowego, ale występuje także w tkankach obwodowych, w tym w połączeniach nerwowo-mięśniowych



Metody wykorzystywane w rozpoznawaniu zaburzeń neurotransmisji

1. HPLC z detektorem elektrochemicznym:

- wykorzystuje potencjał elektryczny w procesie utleniania-redukcji za pomocą odpowiednich elektrod;
- powstały prąd jest mierzony w funkcji czasu. Detekcja elektrochemiczna jest stosowana tam, gdzie wymagana jest wysoka czułość lub selektywność.
- detekcja elektrochemiczna może być stosowana tylko w przypadku cząsteczek elektrochemicznie aktywnych
- cząsteczki nieaktywne elektrochemicznie muszą zostać przekształcone w cząsteczki aktywne, na przykład poprzez reakcję enzymatyczną



Aminokwasy jako neuroprzekaźniki

- Glutaminian
 - Asparaginian
 - Glicyna
 - Tauryna
 - Kwas γ -amionstowy (GABA)
- neuroprzekaźniki
-
- Tyrozyna
 - tryptofan
- prekursory neuroprzekaźników



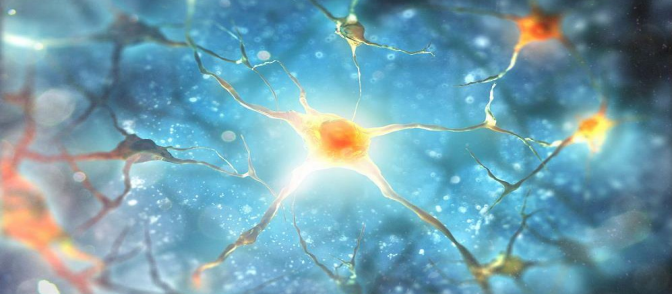
Wpływ metabolizmu metioniny

- Kwas foliowy – transport grup metylowych w cyklu metioninowym oraz w przemianach aminokwasów neuroprzekaźnikowych
- Fosforan pirydoksalu – katalizator enzymu CBS oraz przemian w procesach transmetylacji i syntezy związków neuroprotekcyjnych, DNA, czy neuroprzekaźników,
- Siarczyn – związek zdolny do wiązania fosforanu pirydoksalu
- Glutaminian – jeden z najważniejszych aminokwasów, strukturalnie podobny do S-sulfocysteiny, która jest zdolna do wiązania receptorów NMDA i jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za rozwój drgawek i uszkodzenie mózgu w deficycie kofaktora molibdenowego i SO.
- Tauryna – związek neuroprotekcyjny dla glutaminianu i GABA



Wiele IEM zakłóca wczesne lub późne kluczowe funkcje metabolizmu mózgu, takie jak:

- transport i wykorzystanie substratu energetycznego,
- wytwarzanie bogatych w energię fosforanów,
- metaboliczne sprzężenie między neuronami a astrocytami,
- szlak sygnalizacyjny neuroprzekaźnika,
- autoregulację mózgowego przepływu krwi,
- transport substratów przez barierę krew / mózg



Wpływ zaburzeń metabolizmu wybranych aminokwasów na OUN

W niektórych IEM nadmierne gromadzenie się związków może powodować bezpośrednią neurotoksyczność, a niektóre czynniki wyzwalające, takie jak gorączka lub katabolizm, mogą poprzedzać początek napadu i/lub encefalopatii padaczkowej.



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



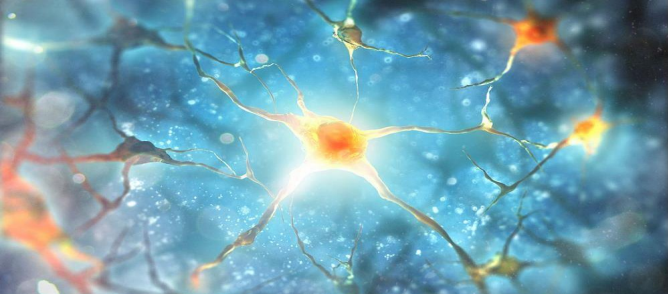
**Rzeczpospolita
Polska**



**Instytut
Matki i Dziecka**

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



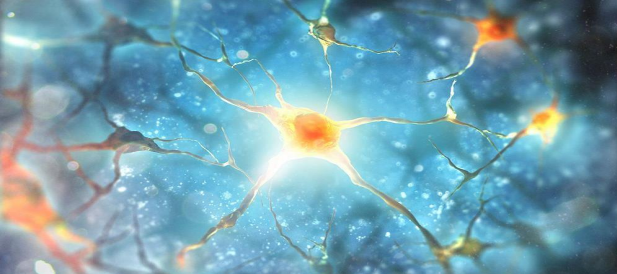


Zaburzenia neurotransmisji

Kumulacja lub brak wybranych związków dostarcza użytecznych biomarkerów do diagnostyki i różnicowania tych rzadkich chorób.

Do neurometabolicznych zaburzeń można zaliczyć drgawki lub encefalopatię padaczkową pojawiające się już w okresie noworodkowym.

Drgawki mogą być częścią większej, złożonej prezentacji neurologicznej, rzadko „cechą choroby”.



Wrodzone błędy metabolizmu aminokwasów u pacjentów z drgawkami w okresie noworodkowym i niemowlęcym

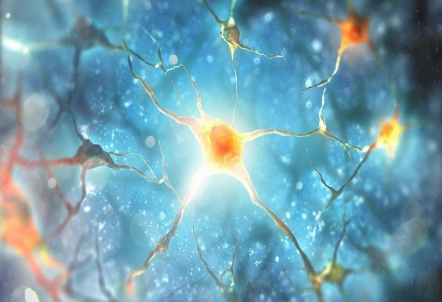
nieketotyczna hiperglicynemia (NKH)
kofaktor Molibdenowy (MOCOD) i izolowany deficyt oksydazy siarczynowej
defekty cyklu mocznikowego (UCD)
choroba syropu klonowego (MSUD)
acydurie organiczne (OA)
padaczka pirydoksyno-zależna (PDE)
drgawki pirydoksalo-5-fosforano-zależne (PNPO def)
deficyt transportera glukozy (Glut -1)
deficyt seryny
zaburzenia mitochondrialne
Deficyt syntetazy holokarboksylowej
Defekt kreatyny (GAMT)

Neurotransmitery (NTs)



Związki drobnocząsteczkowe:

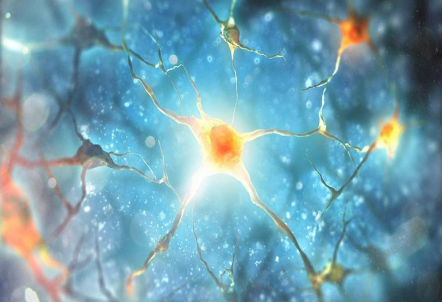
- acetylocholina
- kwas γ -aminomasłowy (GABA),
- glicyna
- glutaminian
- katecholaminy monoaminowe
- serotonina



Neurotransmitery

Wszystkie neuroprzekaźniki, z wyjątkiem histaminy, są wychwytywane przez wysoce specyficzne systemy transportowe. Transportery odgrywają znaczącą rolę w szybkiej inaktywacji uwolnionego neuroprzekaźnika, ograniczając jego czasowe i przestrzenne działanie.





Aminokwasy aromatyczne w syntezie dopaminy i serotoniny

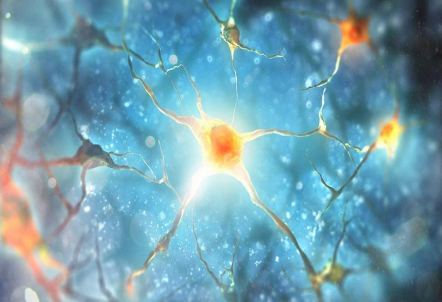
Pierwsza udana synteza dopaminy (3,4-dihydroksyfenetyloaminy lub 3-hydroksytryptaminy) - 1910 r

neurony dopaminergiczne zostały odkryte przez Bell (1989) w nerwach obwodowych

Dopamina pełni istotną funkcję w procesach neuroregulacyjnych

Istotną różnicą biochemiczną między neuronami noradrenergicznymi a neuronami dopaminergicznymi jest obecność enzymu beta-hydroksylazy dopaminowej.

W neuronach dopaminergicznych beta-hydroksylaza dopaminowa katalizuje syntezę noradrenaliny z dopaminy



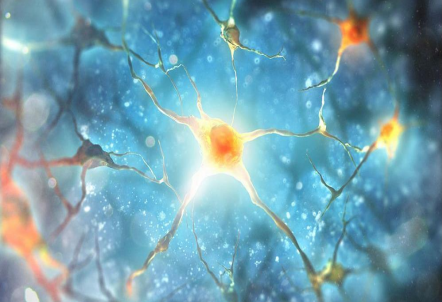
Zaburzenia metabolizmu dopaminy

- dopamina jest niezbędnym neuroprzekaźnikiem w wielu funkcjach mózgu.
- „dysfunkcja” w transmisji dopaminergicznej wpływa na szereg zaburzeń neurologicznych i psychiatrycznych:

a/ nadpobudliwość układu dopaminergicznego prowadzi do kumulacji neuroprzekaźnika w szczelinie synaptycznej i / lub nadwrażliwości receptorów dopaminergicznych.

b/Hipoaktywność układu dopaminergicznego jest związana z dysfunkcją ruchową, nieprawidłowym zachowaniem, zaburzeń emocjonalnych.

Zaburzenie równowagi układu dopaminergicznego prowadzi do wystąpienia zróżnicowanych objawów klinicznych



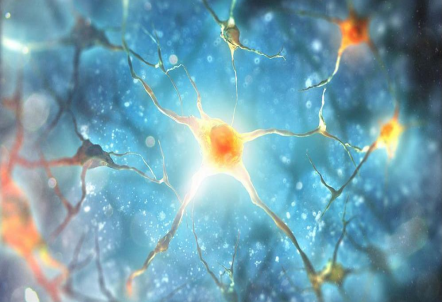
Serotonina

W 1947 r. odkryto serotoninę (lub 5-hidroksytryptaminę; 5-HT), można ją znaleźć w prawie każdym obszarze mózgu,

Stosunkowo dużo neuronów serotonergiczných jest w korze mózgowej, hipokampie, ciele migdałowatym i jądrach podstawy

Neurony stanowią jedyne źródło serotoniny w ośrodkowym układzie nerwowym. Prekursorem serotoniny jest niezbędny aminokwas tryptofan, a dostępność tryptofanu stanowi czynnik ograniczający szybkość syntezy serotoniny

Tryptofan przenika barierę krew-mózg za pomocą aktywnej grupy aminowej łączącej się białkiem transportującym przeznaczonym również dla leucyny, lizyny i metioniny. Aktywność tego transportera jest zależna od obecności glukozy i insuliny.

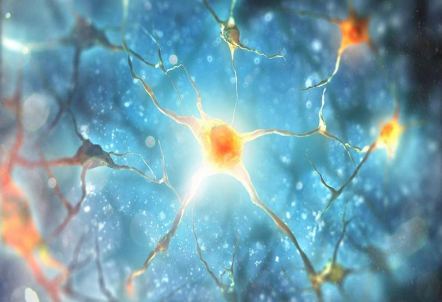


Glutaminian i asparaginian jako neuroprzekaźniki

Są najliczniejszymi neuroprzekaźnikami pobudzającymi w ośrodkowym układzie nerwowym.

pokrewne aminokwasy, tj: kwas homocysteinowy i N-acetyloaspartyloglutaminian, mogą również pełnić funkcję przekaźników

aminokwasy neurotransmitterowe pobudzające uczestniczą w metabolizmie pośrednim, a także w neuronalnej transmisji sygnału, dlatego często występuje problem z rozróżnieniem ich pomiędzy neuroprzekaźnikiem a funkcjami metabolicznymi.



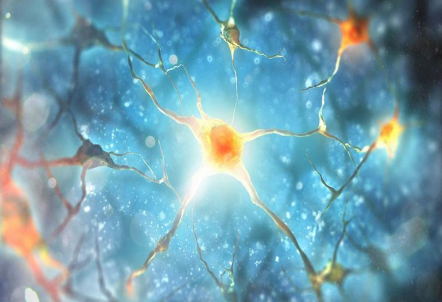
Glutaminian i asparaginian jako neuroprzekaźniki

Glutaminian i asparaginian w OUN powstają wyłącznie na drodze lokalnej syntezy, ponieważ żaden aminokwas nie może przekroczyć bariery krew-mózg.

Glutaminian powstaje w cyklu Krebsa w reakcji katalizowanej przez dehydrogenazę glutaminianową lub przez transaminację -ketoglutaranu.

Glutaminian gromadzi się w pęcherzykach synaptycznych.

służy jako dawca GABA, najsilniejszego hamującego neuroprzekaźnika aminokwasowego, poprzez dekarboksylację za pomocą dekarboksylazy kwasu glutaminowego



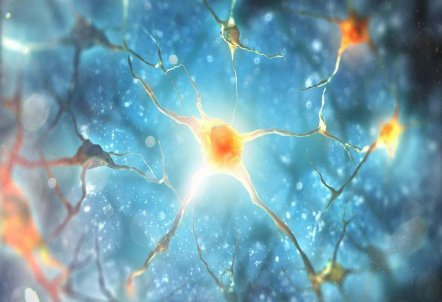
Kwas γ -aminomasłowy – (GABA)

jako mały aminokwas jest głównym neuroprzekaźnikiem hamującym w ośrodkowym układzie nerwowym

syntetyzowany jest w reakcji z dekarboksylazą glutaminianu (GAD) zależną od PLP, z kwasu glutaminowego

komórki GABAergiczne w dużych ilościach występują w istocie czarnej i mózdzku. Interneurony GABAergiczne występują najczęściej we wzgórzu, hipokampie i korze mózgowej





Kwas γ -aminomasłowy – (GABA)

Związki neuroaktywne zmniejszając transmisję GABAergiczną, przyczyniają się do powstawania drgawek.

Dlaczego???

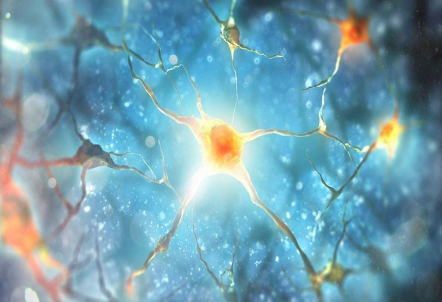
1. związki wpływają na biosyntezę GABA poprzez hamowanie aktywności dekarboksylazy kwasu glutaminowego;
2. Hamują łączenie GAD z PLP;
3. oddziałują bezpośrednio z receptorami GABA i hamują je.
4. zmieniają przepuszczalność błony cytoplazmatycznej dla jonów chlorkowych.
5. Hamują uwalnianie GABA z zakończeń nerwowych.

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 jako neuroprzekaźnik

- jest obecna w bardzo wysokich stężeniach w rdzeniu kręgowym i rdzeniu przedłużonym
- w ośrodkowym układzie nerwowym jest syntetyzowana z glukozy przez serynę w mitochondriach.
- może być pobierana do komórek za pomocą określonych układów transportujących (GLYT1 i GLYT2), które zawierają transportery zależne od sodu / chlorku

Nieketotyczna hiperglicynemia (NKH)

GCS (Glycine cleavage enzyme) – wieloenzymowy kompleks, który odpowiada za rozpad glicyny w mitochondrium;

Autosomalnie recesywnie dziedziczona hiperglicynemia nieketotyczna, inaczej nazywana encefalopatią glicynową;

Składa się z 4-ch podjednostek:

- dekarboksylazy glicynowej, (białko P),
- aminometylotransferazy, (białko T),
- nośnik białkowy wodoru (białko H),
- dehydrogenaza GCE lipoamidu (białko L)

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: $\text{Gly (PMR)} / \text{Gly (P)} < 0,04$

Patogeneza i leczenie pacjentów z padaczką zależną od witaminy B6.

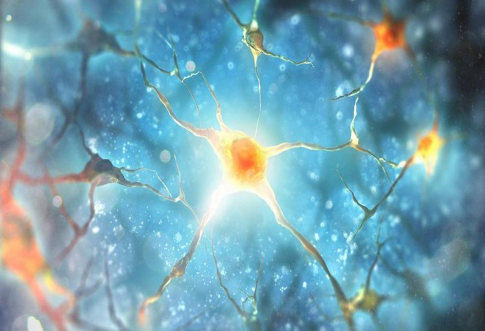
- Zmniejszenie stężenia GABA w mózgu jest główną przyczyną padaczki, ze względu na niewystarczającą aktywność enzymu dekarboksylazy glutaminianu zależnego od PLP.
- Niski poziom seryny, glicyny i 5-metylotetrahydrofolianu mogą również odpowiadać za wystąpienie padaczki/drgawek pirydoksyno- zależnych – niskie stężenie PLP ogranicza aktywność enzymów uczestniczących w syntezie tych związków.
- Ponadto niektórzy pacjenci z padaczką zależną od witaminy B6 klinicznie reagują na suplementację kwasu folinowego, prekursora 5-MTHF.

PLP – zależne wrodzone zaburzenia metabolizmu aminokwasów

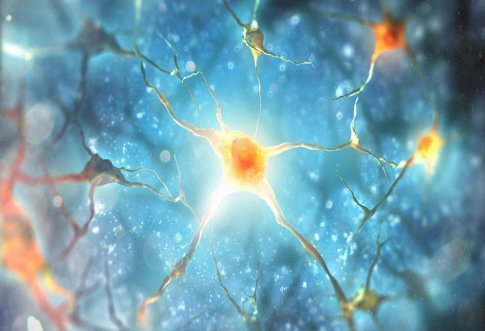
1. Hipofosfatazja – niedobór fosfatazy alkalicznej (TNSALP)
2. Hiperfosfatazja – niedobór fosfatydyloinozytolu glikanu (PIGV)
3. Hiperprolinemia typu II – deficyt dehydrogenazy 5-karboksyланu piroliny (P5C)

Fenotyp kliniczny:

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

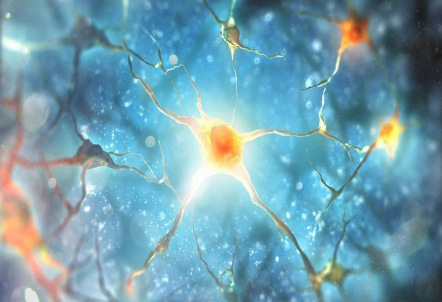


**Dowolne zaburzenie na szlaku syntezy, degradacji i transporcie
neuroprzekaźnika prowadzi do zachwiania równowagi w układach
neurotransmitterowych
i odpowiada za zaburzenia neurotransmisji**



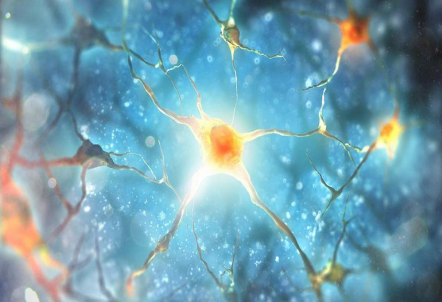
Zaburzenia neurotransmisji

- ✓ Objawy kliniczne występujące u pacjentów z wrodzonymi zaburzeniami metabolizmu monoamin i pteryny często przekraczają zakresy cech obserwowanych w innych zespołach neurologicznych, co częściowo może powodować opóźnienie postawienie rozpoznania.
- ✓ Badania obrazowe mózgu są zwykle prawidłowe.
- ✓ Tetrahydrobiopteryna (BH4) jest nie tylko niezbędnym kofaktorem dla hydroksylazy tyrozynowej (TH) i hydroksylazy tryptofanu (TPH), ale także hydroksylazy fenyloalaniny, która przyczynia się do pojawienia się hiperfenyloalaninemii (HPA) w badaniach przesiewowych noworodków (NBS), co ułatwia drogę do postawienia ostatecznego rozpoznania.



Zaburzenia neurotransmisji

- ✓ Mechanizm różnicowy opiera się głównie na ocenie klinicznej, podstawowym badaniu krwi (osocze i sucha kropla krwi DBS), moczu, płynu mózgowo-rdzeniowego (CSF).
- ✓ Prawidłowe postępowanie z próbką w celu uniknięcia błędów przedanalitycznych jest kluczowe, podobnie jak ostateczna interpretacja wyników w odniesieniu do wartości referencyjnych skorygowanych względem wieku



Pierwotne i wtórne zaburzenia neurotransmisji

- Uważane za jedne z najważniejszych przyczyn ciężkich postępujących encefalopatii, często pojawiających się w okresie noworodkowym lub wczesnoniemowlęcym

CHOROBY ULTRZĄDKIE???

WYKRYWANIE NOWYCH
CHORÓB

NOWE
TECHNIKI/PROCEDURY

ZBYT PÓŹNE ROZPOZNANIE!!



DIAGNOSTYKA

ILOŚCIOWE
OZNACZANIE
AMINOKWASÓW

ILOŚCIOWE
OZNACZANIE
NEUROTRANSMITERÓW

OBJAWY KLINICZNE

METABOLIZM
BH4

METABOLIZM
AB

METABOLIZM
GABA

METABOLIZM
GLN

METABOLIZM
GLY

GLUKOZA

KWAS
FOLIOWY

PIRYDOKSYNA

KWAS
MLEKOWY



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



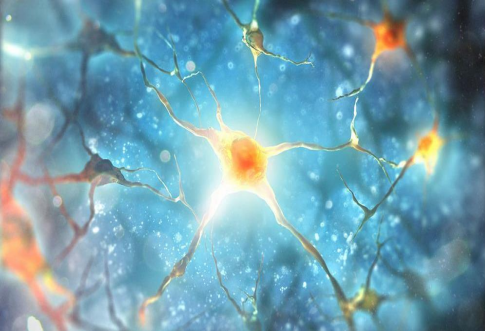
Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny





**KIEDY POWINNIŚMY WYKONAĆ BADANIA W PŁYNIE MÓZGOWO-
RDZENIOWYM???**

**JAKIE BADANIA POWIINY BYĆ WYKONANE W PŁYNIE MÓZGOWO-
RDZENIOWYM???**

KIEDY WYKONAĆ SEKWENCJONOWANIE NOWEJ GENERACJI???



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



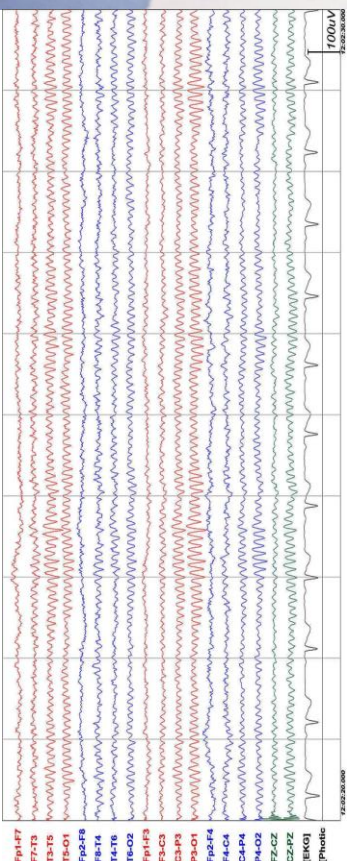
**Rzeczpospolita
Polska**



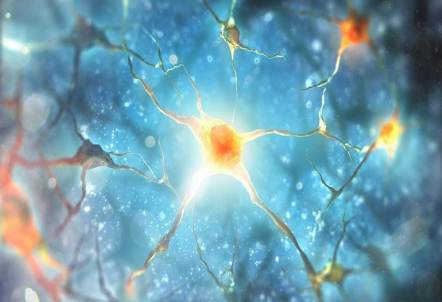
**Instytut
Matki i Dziecka**

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny





- **NIEPRAWIDŁOWY WYNIK BADANIA PRZESIEWOWEGO – wysokie stężenie glicyny, alaniny, fenyloalaniny lub podwyższony stosunek Phe/Tyr**
- **Objawy neurologiczne w okresie noworodkowym lub wczesnoniemowlęcym**
- **Prawidłowe podstawowe badania biochemiczne**
- **Prawidłowe/nieprawidłowe EEG/MRI**
- **Prawidłowe/nieprawidłowe stężenia kwasu mlekowego, glukozy, kwasu foliowego**



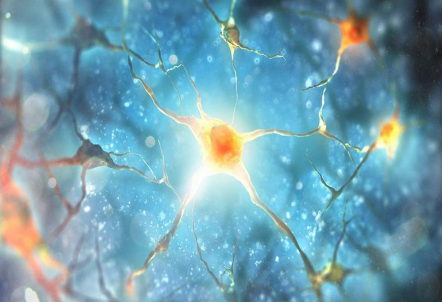
Pierwotne i wtórne zaburzenia neurotransmisji są związane z:

BIOSYNTeza
DEGRADACJA
UPAKOWANIE W PĘCHERZYKACH
PRZECHOWYWANIE
UWALNIANIE
WYCHWYT ZWROTNY
PODTYPY RECEPTORÓW
WEWNĄTRZKOMÓRKOWY SYGNAŁ
HOMEOSTAZA (FUNKCJA KOMÓRKI GLEJOWEJ)



Ograniczanie zmian stężeń poszczególnych NTs względem siebie ma ogromne znaczenie dla:

- zaburzeń behawioralnych,
- starzenia się,
- w chorobach neurodegeneracyjnych,
- epilepsji,
- zaburzeń nadpobudliwości psychoruchowej,
- choroby Huntington'a,
- depresji.



Zaburzenia neurotransmisji – **DIAGNOSTYKA**

Krew i mocz – I etap diagnostyczny

Analiza wielu parametrów w tym:

kwask mlekowy, kwas foliowy, B12, B6, prolaktyna, siarczyny, aminokwasy,
profil kwasów organicznych, profil puryn i pirymidyn

Płyn mózgowo-rdzeniowy – II etap diagnostyczny

Analiza parametrów tj: glukoza, białko, kwas mlekowy, kwas pirogronowy
immunoglobuliny oraz analiza neurotransmiterów:
GABA, metabolity kwaśne AB, 5-MTHF, pteryny