

Produkty rozpadu tryptofanu na szlaku kynureninowym

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

Tryptofan

Prekursor serotoniny i produktów rozpadu tryptofanu

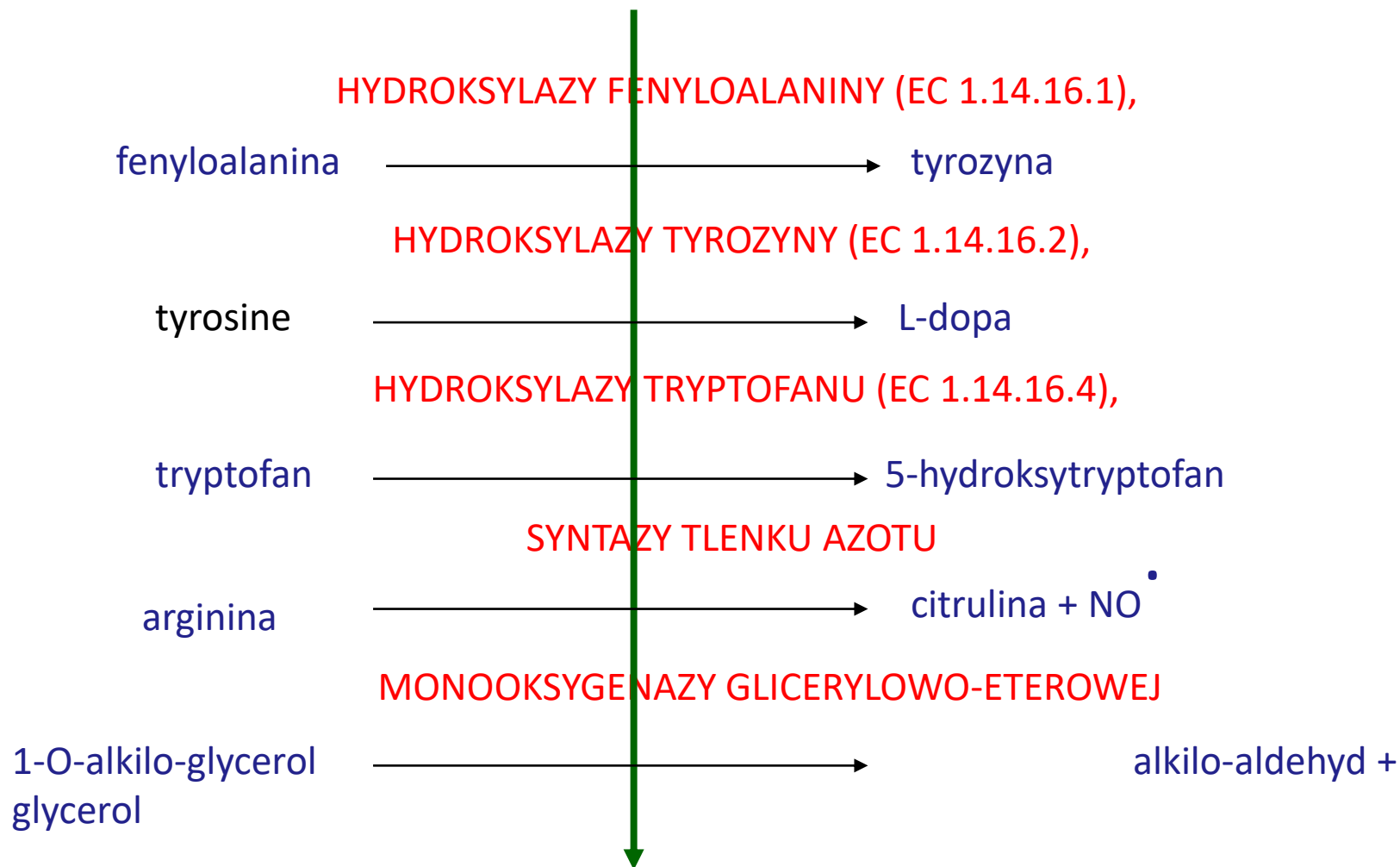
Odpowiada za syntezę serotoniny – głównego neuroprzekaźnika z grupy Amin Biogennych

Jego metabolizm na szlaku serotonergicznym zależy od:

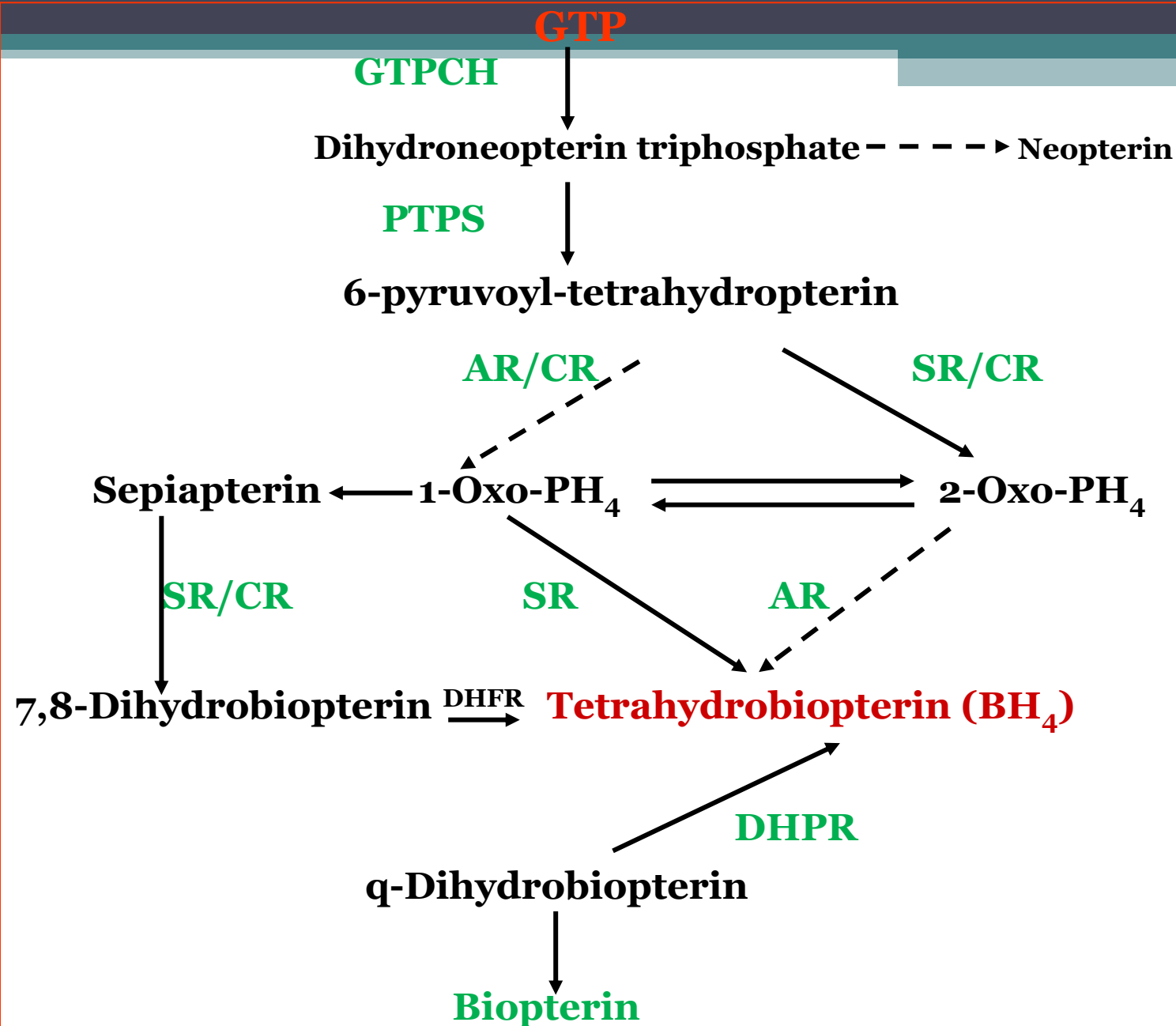
- **tetrahydrobiopteryny (BH4)**, ulega utlenieniu do dihydrobiopteryny w reakcji z hydroksylazą fenyloalnin, tyrozyny i tryptofanu
- **fosforanu pirydoksalu (PLP)** – aktywna forma pirydoksyny, tworzy intermediaty o charakterze zasady Schiffa, pozwalające na wymianę grupy α -aminowej na ketonową, katalizowaną przez aminotransferazy

TETRAHYDROBIOPTERYNA (BH₄)

JEST KOFAKTOREM:



QUINONOID DIHIDROBIOPTERYNY (Q-BH₂)



Tryptofan i szlak kynureninowy

- Co raz częściej uznawane za ważne źródło neuroaktywnych metabolitów mające istotne znaczenie dla różnicowania stanu patologicznego od stanu prawidłowego.
- metabolizm tryptofanu zależy od odpowiedniej dostępności zarówno witamin jak i minerałów.
- Może być wykorzystywany do syntezy:
 - białek,
 - dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NAD) na szlaku KP
- Jest wykorzystywany do biosyntezy serotoniny i melatoniny na szlaku serotonergicznym.
- Niskie stężenie tryptofanu spowalnia szlak serotonergiczny w mózgu, wpływając na szlak GABA-ergiczny i przyczyniając się do zwiększonej podatności na drgawki
- Melatonina wykazuje właściwości antyoksydacyjne

Metabolizm tryptofanu

- Degradacja Trp na szlaku kynureniny jest kilkuetapowa. Za jej aktywację odpowiadają dwa enzymy:
 - pozawątrobowa 2,3-dioksygenaza indoloaminy (IDO)
 - wątrobowa 2,3-dioksygenaza tryptofanowa (TDO),
 - Stosunek kynureniny do tryptofanu (Kyn / Trp) odzwierciedla aktywność IDO i TDO i jest szeroko stosowany do monitorowania metabolizmu tryptofanu,
 - Bezwzględny poziom Trp w surowicy zależy od diety dlatego nie jest wiarygodnym parametrem.
 - Zwykle wątrobowy enzym TDO odpowiada za regulację homeostazy Trp
- **IDO** jest enzymem występującym w hormonalny i ośrodkowym układzie nerwowym, płucach, jelicie i komórkach odpornościowych.

Metabolizm tryptofanu

- Pierwszy etap szlaku kynureniny, obejmuje utlenianie Trp przez IDO lub TDO do N-formylokinureniny, która jest przekształcana w Kyn.
- Stężenie Kyn w surowicy i PMR jest niskie
- Kyn metabolizowana jest przez różne enzymy szlaku kynureninowego.
- Aminotransferazy kynureninowe (KAT I i KAT II) ułatwiają syntezę kwasu kynureninowego (Kyna) przez nieodwracalną transaminację Kyn.
- W mózgu Kyna syntetyzowany jest przez astrocyty i występuje w stężeniach umol, natomiast w PMR stężenie Kyna jest znacznie niższe (nmol).
- Kyn może być prekursorem dla:
 - 3-hydroksykynureniny (3HKyn) syntetyzowanej w reakcji z hydroksylazą kynureniny
 - kwasu antranilowego (AA) powstałego w reakcji z kynureninazą.
- Hydroksylaza kynureninowa jest wyrażana przez kilka typów komórek, w tym komórki mikrogleju.

Metabolizm tryptofanu

- Szlak kynureninowy jest źródłem kilku związków o zróżnicowanych właściwościach biologicznych, wywołujących czasami przeciwne skutki, dlatego ich stężenie jest silnie regulowane in vivo.
- Zakłócenie równowagi między poszczególnymi metabolitami może prowadzić do negatywnych skutków i wystąpienia ciężkich objawów klinicznych.
- Wiedza na temat metabolizmu tryptofanu wnosi wiele informacji w zakresie strategii terapeutycznych, leczeniu infekcji, przewlekłych stanów zapalnych, nowotworów, problemów z reprodukcją.

Witamina C jako kofaktor reakcji utleniania tryptofanu

- **Enzym 2,3-dioksygenaza indoloaminy**, który zależny od ASC (witaminy C) jest pierwszym enzymem kontrolującym procesy w metabolizmie tryptofanu i jest zaangażowany w patogenezę wielu chorób.

Podwójna rola witaminy C:

- jest antyoksydantem
- odpowiedzialny jest za regulację przemian tryptofanu do związków neuroaktywnych,
- jest kluczowym czynnikiem w komunikacji między układem nerwowym i odpornościowym.

Diagnostyka

- Duże zróżnicowanie analizowanych związków utrudnia dobór odpowiedniej metody.
- Wybór dokładnej i niezawodnej metody oznaczania ilościowego poszczególnych metabolitów, zwłaszcza w przypadku złożonych próbek, takich jak osocze, płyn m-rdzeniowy czy mocz, stanowi duże wyzwanie dla biochemików.
- Chromatografia cieczowa była pierwszą metodą wykorzystywaną do oznaczania produktów rozpadu tryptofanu. Wymagała jednak wykorzystania dwóch detektorów UV-VIS i fluorescencyjny, co dodatkowo utrudniało analizę.
- rozwój nowych technologii, takich jak wysokorozdzielczy spektrometr mas daje szanse na analizę wszystkich tych metabolitów z dużą czułością i selektywnością.

Diagnostyka produktów rozpadu tryptofan

Ilościowa analiza produktów rozpadu tryptofanu w moczu:

- kwasu kynureninowego,
- Kwasu antranilinowego,
- kynureniny,
- kwasu 3-OH-antranilinowego,
- 3-OH-kynureniny,
- kwasu ksantureninowego.



Parametry diagnostyczne

- Stosunek L-KYN do L-tryptofanu w osoczu (surowicy) jest ogólnie przyjętym klinicznym markerem aktywności IDO
- KYN/Trp jest silnie skorelowany z poziomem neopteryny, który dobrze odzwierciedla stan zapalny.
- zarówno IDO jak i TDO regulują szybkość przemiany tryptofanu do KYN

Diagnostyka produktów rozpadu tryptofan

W diagnostyce ocena wzajemnych stosunków poszczególnych produktów rozpadu tryptofanu:

- Stosunki pomiędzy poszczególnymi produktami rozpadu tryptofanu mają istotne znaczenie w różnicowaniu padaczek;
- Niektóre korelacje stanowią odzwierciedlenie aktywności enzymów uczestniczących w rozpadzie tryptofanu;
- KYN/TRP – index aktywności 2,3 –dioksygenazy indoloaminowej (IDO) – enzymu odpowiedzialnego za szybkość rozpadu tryptofanu
- 3-OHAA/3-OHKYN – index aktywności kynureninazy, enzymu wrażliwego na podaż PLP
- Pacjenci z drgawkami w pierwszych dobach życia mają istotnie podwyższone stężenie kynureiny w moczu i podwyższone stężenie Trp w moczu;
- Pacjenci nie odpowiadający na leczenie mają istotnie podwyższone stężenie 3-OH-kynureiny w moczu;
- Wzrost stężenia KYN, TRP i KA redukuje aktywność kynureninazy .

Produkty rozpadu tryptofanu na szlaku kynureniny mają bezpośredni wpływ na aktywację immunologiczną?

- W chorobach autoimmunologicznych u pacjentów zaobserwowano wyższe stężenie Kyn w surowicy oraz podwyższony stosunek Kyn /Trp.
- Zwiększona aktywacja szlaku kynureninowego indukowana przez enzym IDO została również zaobserwowana w chorobach takich jak:
 - w toczeń rumieniowaty układowy,
 - zapalenie mózgu,
 - reumatoidalne zapalenie stawów,
 - stwardnienie rozsiane.

Szlak metaboliczny kynureniny

Pacjenci z drgawkami w pierwszych dobach życia mają istotnie podwyższone stężenie

kynureniny i tryptofanu w moczu.

Podobnie, ale znacznie mniejsze stężenie mają pacjenci dobrze reagujący na leczenie

Pacjenci nie odpowiadający na leczenie mają istotnie podwyższone stężenie 3-OH-kynureniny w moczu

Wzrost stężenia KYN, TRP i KA redukuje aktywność kynureninazy



Hipoteza?

- Wyczerpanie Trp, czyli zmniejszenie wolnego dostępu Trp z lokalnego mikrośrodowiska tkankowego jest jednym z przyjętych wyjaśnień dotyczących roli Trp i IDO w regulacji układu odpornościowego.
- Z drugiej strony wykorzystanie Trp wskazuje na produkcję dalszych metabolitów Trp na szlaku metabolizmu kynureniny w celu osiągnięcia regulacji odpornościowej przez kumulację immunosupresyjnych kynurenin, a nie zwykły spadek dostępności Trp.

Hipoteza?

- objawy psychiatryczne / neurologiczne mogą korelować z metabolitami Trp syntetyzowanymi na szlaku kynureniny w mózgu.
- Brak równowagi między neurodegeneratywnymi a neuroprotekcyjnymi metabolitami Trp może być przyczyną występowania zaburzeń neurologicznych:
 - depresji,
 - choroby Alzheimerera,
 - choroba Huntingtona,
 - choroba Parkinsona,
- uszkodzenie mózgu, zespół otępienia związany z AIDS,
- zapalenie opon mózgowych,
- przewlekła migrena.

Pacjenci z schizofrenią wykazują wzmożoną aktywność TDO

Dziękuję za uwagę