

Nowe możliwości różnicowania zaburzeń metabolizmu aminokwasów siarkowych

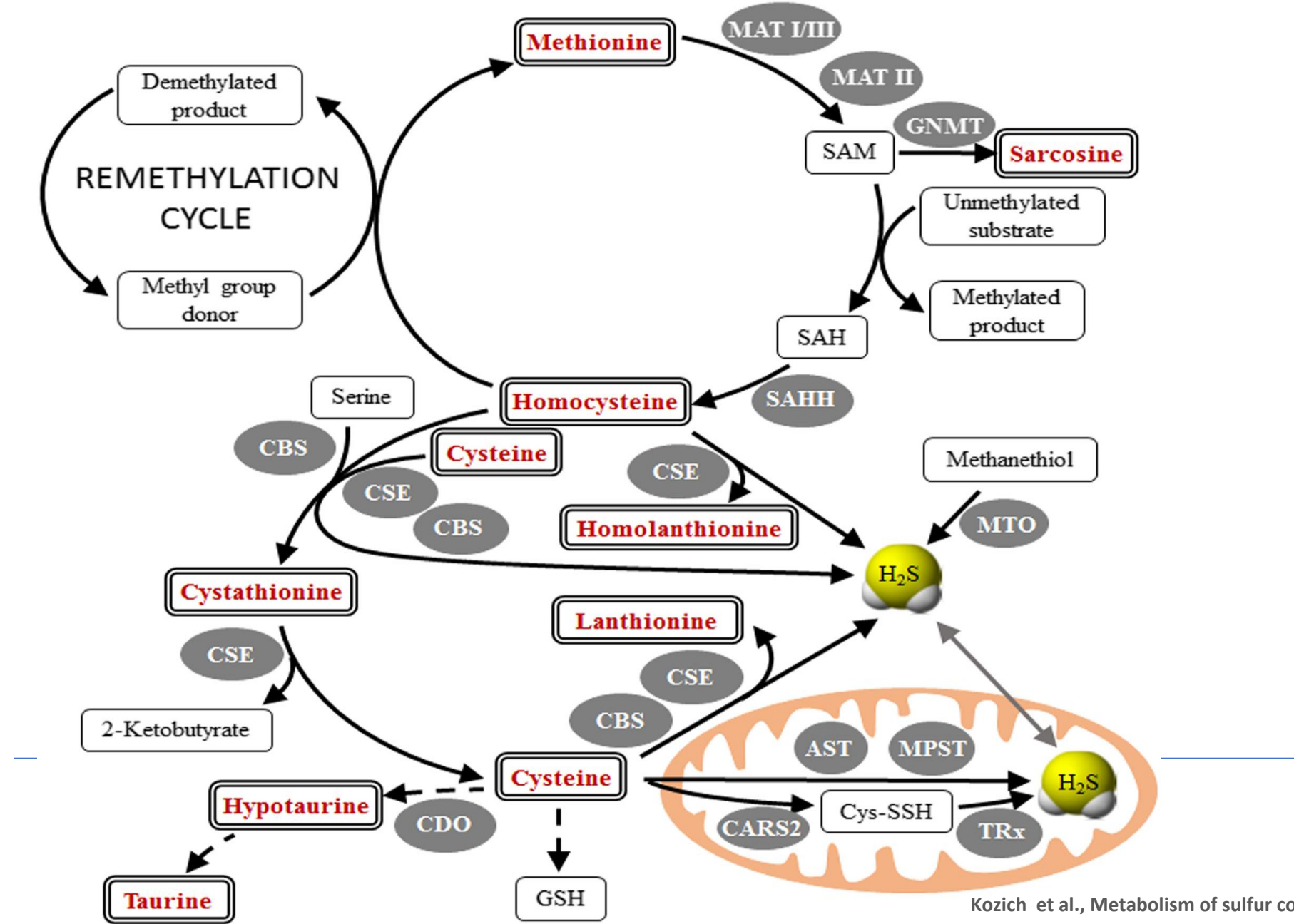
mgr Agnieszka Cychol

Zakład Badań Przesiewowych i Diagnostyki Metabolicznej

Instytut Matki i Dziecka

Rozszerzona diagnostyka zaburzeń metabolizmu aminokwasów siarkowych obejmuje:

- Transmetylację (metionina, sarkozyna, SAM, SAH, homocysteina)
- Transsulfurację (cystationina, lantonina, homolantonina, cysteina, cysteinyloglicyna, glutation, γ -glutamylocysteina, tauryna, hipotauryna)
- Oksydację H_2S (siarczyn, tiosiarczan, tiocyjanian)
- Oznaczenie donorów grup metylowych (dimetyloglicyna, betaina, cholina)
- Oznaczanie aktywności β -syntazy cystationiny (CBS)
- Oznaczenie witamin z grupy B (B_6 , B_{12} , kwas foliowy)



Kozich et al., Metabolism of sulfur compounds in homocystinurias



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska

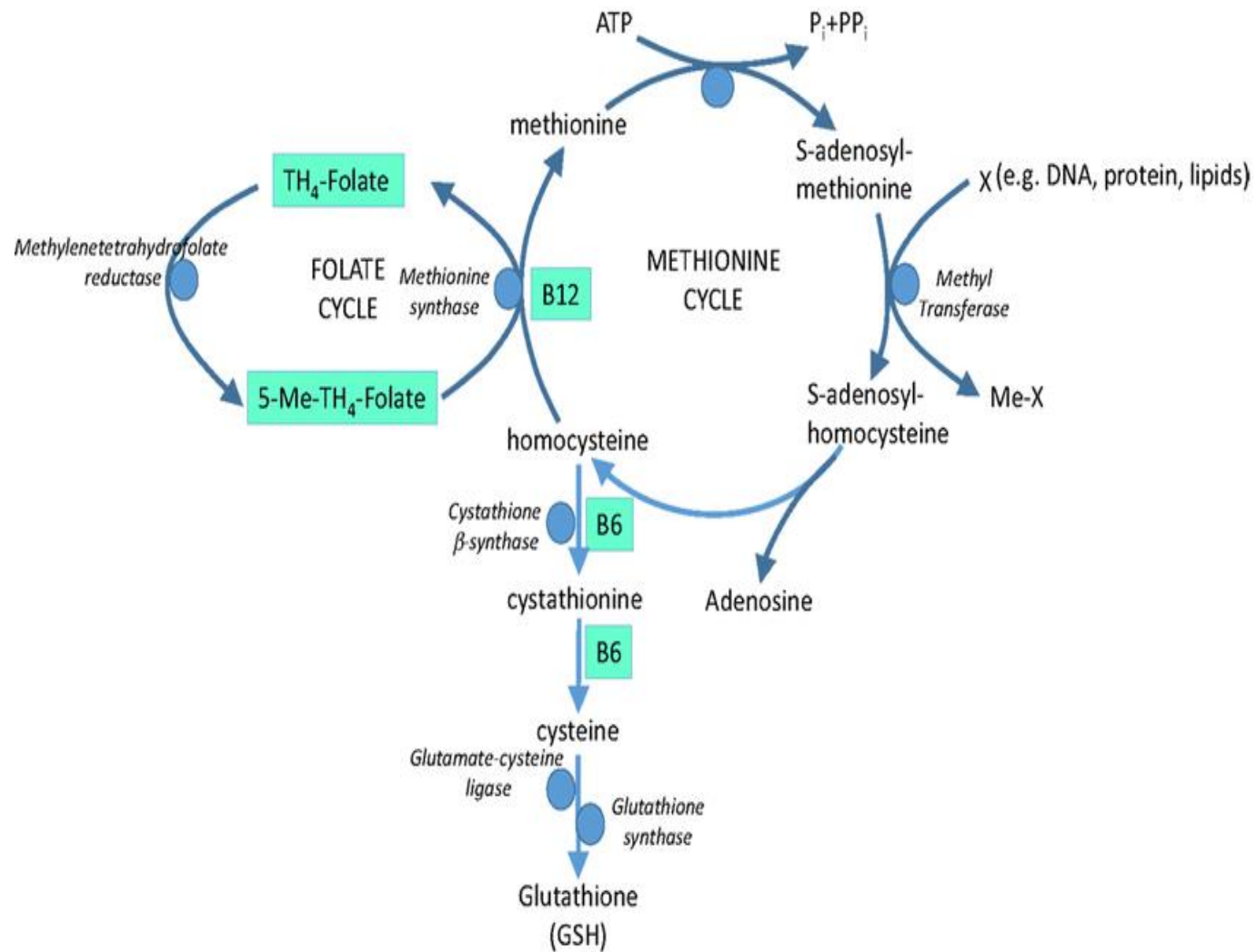


Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny

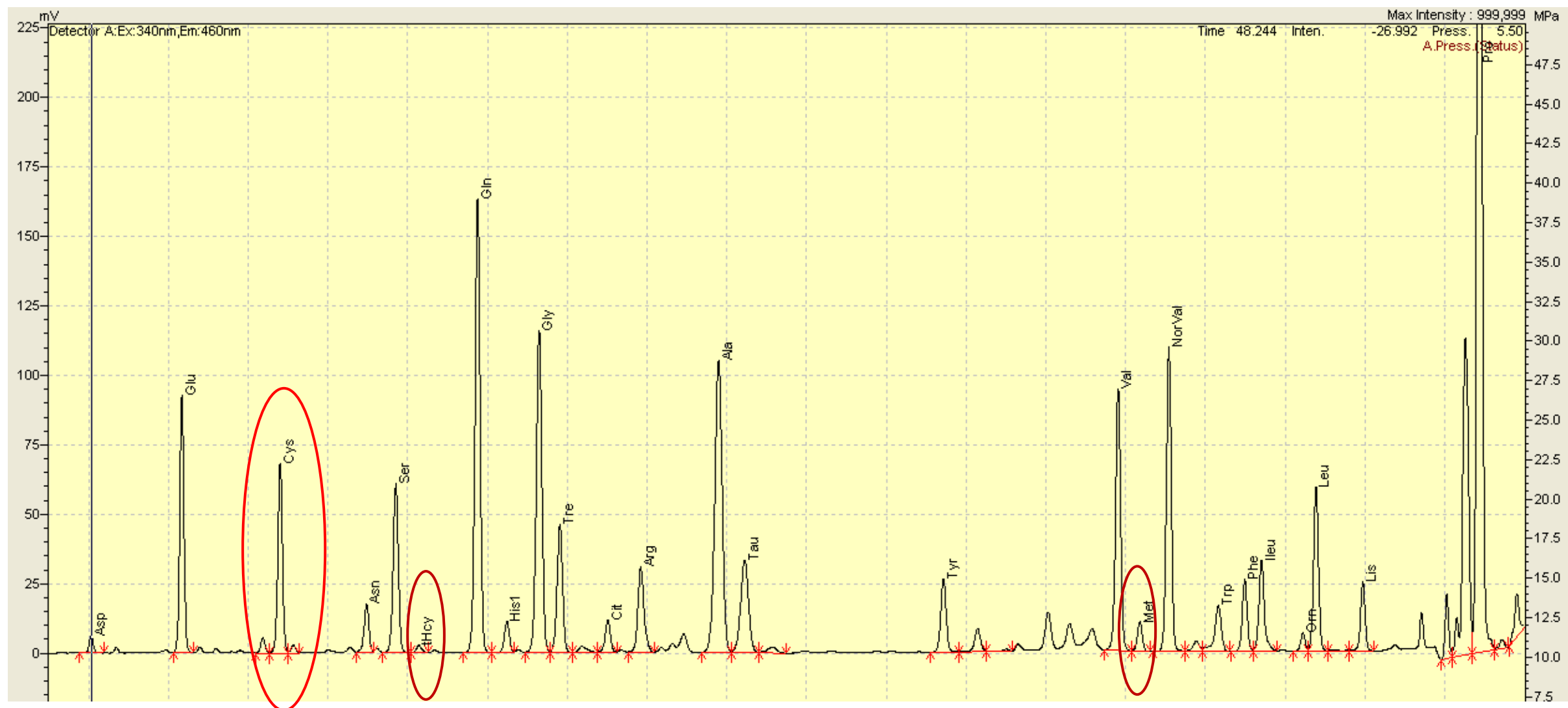


Metabolizm aminokwasów siarkowych zależny od witamin z grupy B

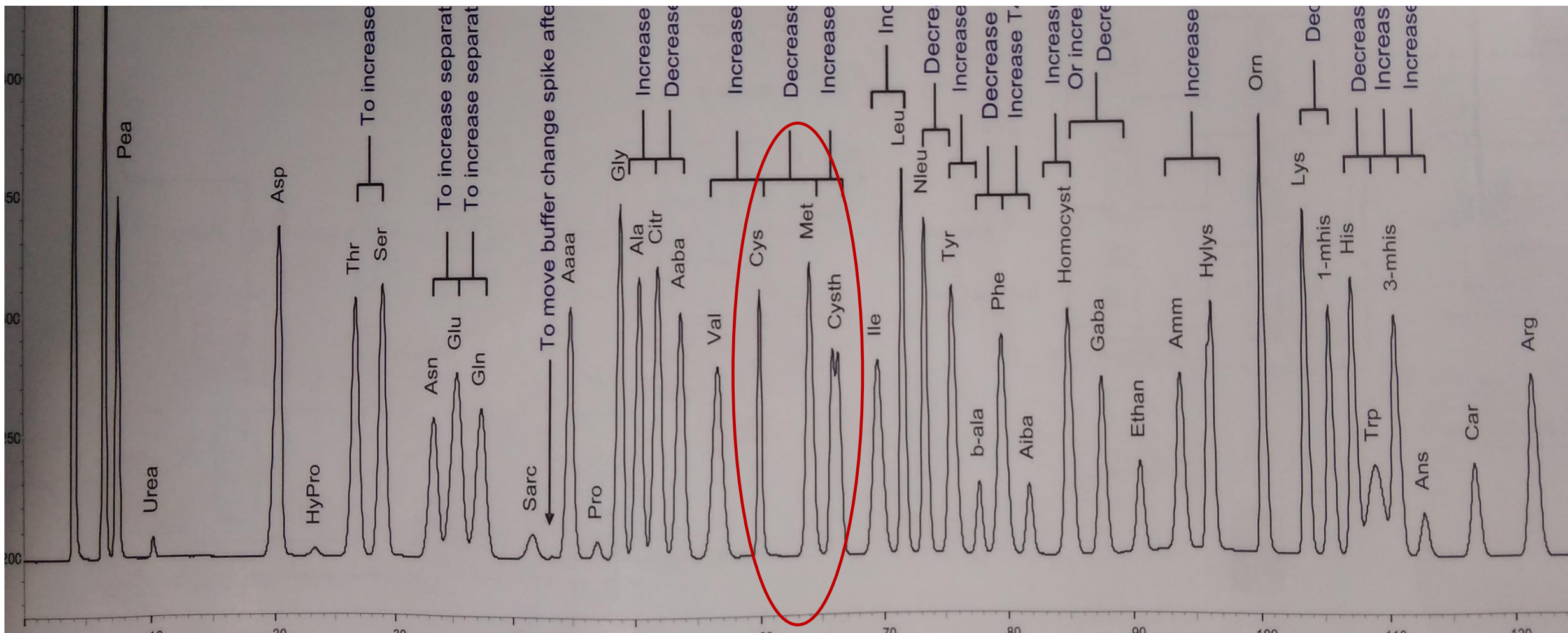


A.J. Webb, S. Xu , Antioxidants in Cardiovascular Therapy: Panacea or False Hope?

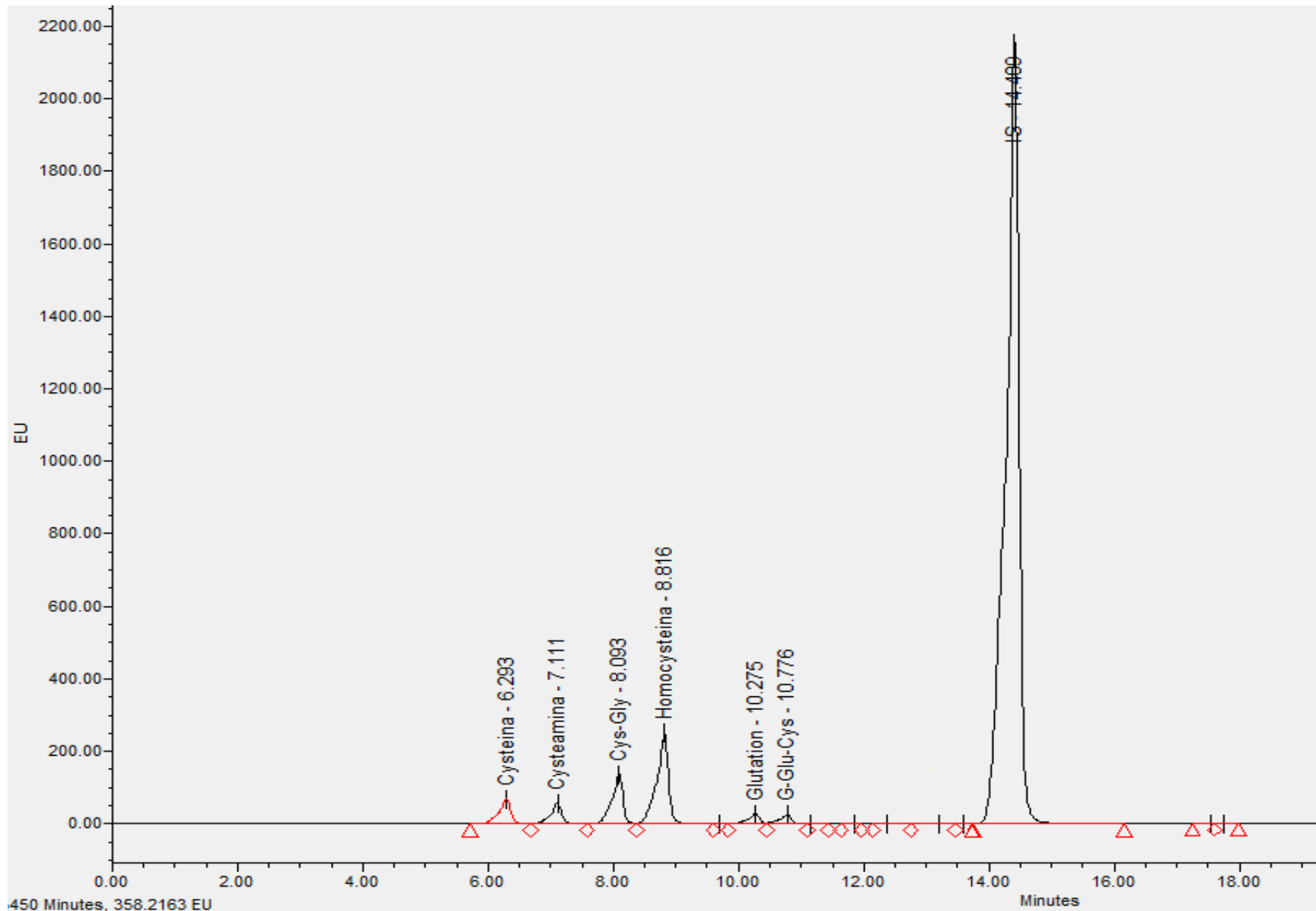
Podstawowy profil aminokwasów w osoczu



Profil aminokwasów otrzymany z analizatora aminokwasów



Profil związków tiolowych



Diagnostyka zaburzeń metabolizmu SAA



Wcześniej

Oznaczenie stężenia:

- Metioniny w osoczu
- Homocysteiny całkowitej



Dziś

Oznaczenie:

- Stężenia Met i tHcy w podstawowym profilu AA
- Cys, Met oraz Cysth w osoczu
- Profilu związków tiolowych
- Stężenie SAM i SAH w osoczu

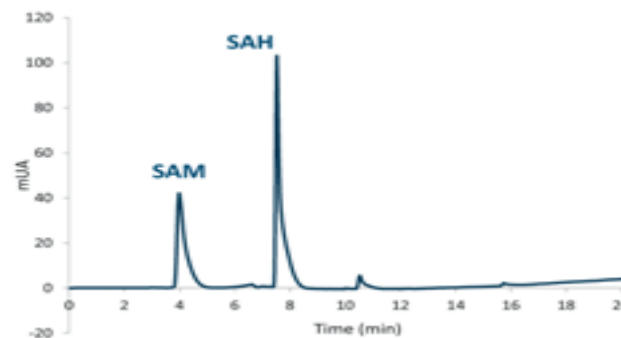
Aparatura wykorzystywana do oznaczeń



HPLC z detektorem RF
(oznaczenie profilów AA oraz SAA)



LC-MS/MS
(oznaczenie SAM i SAH)



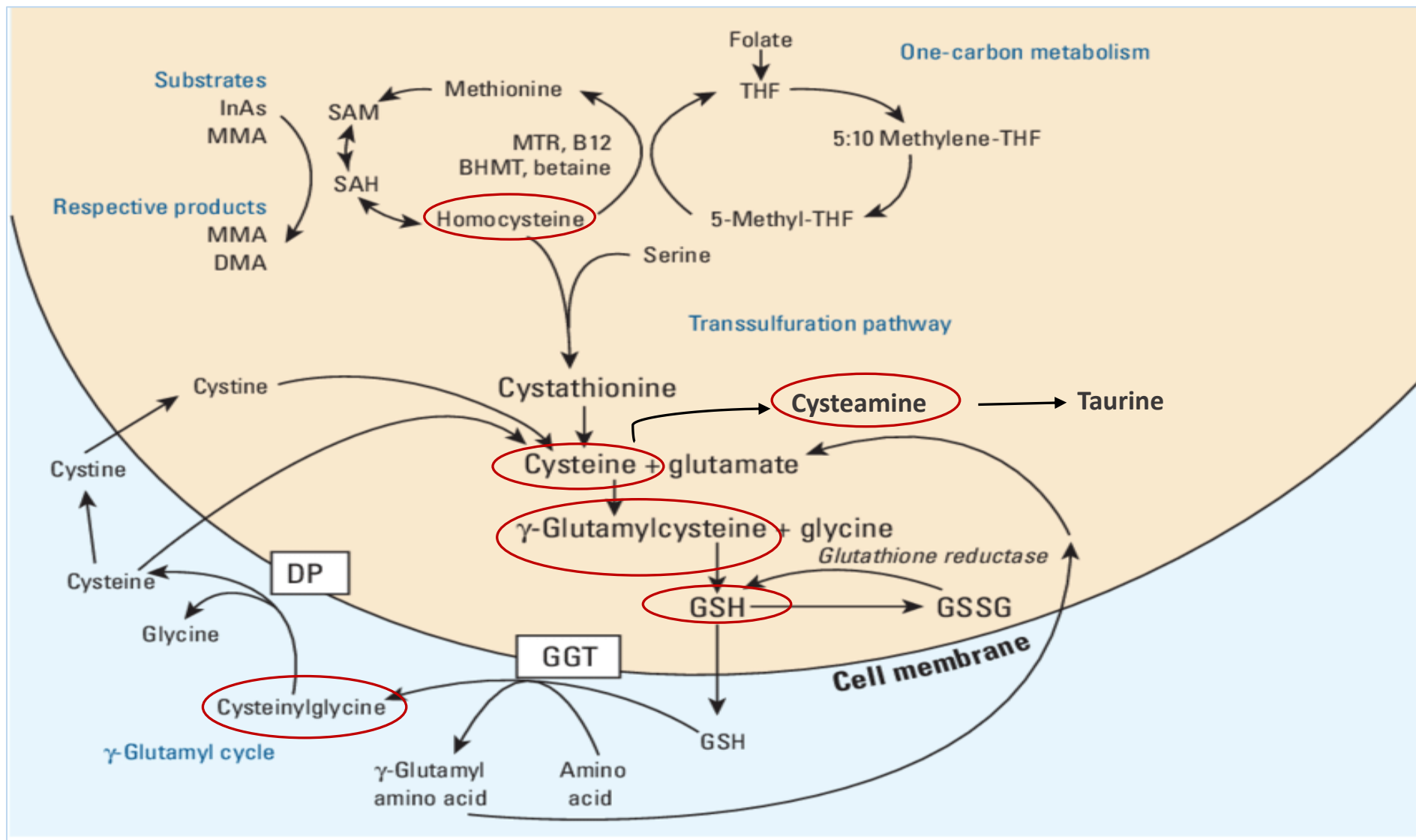
Analizator aminokwasów
(Rozszerzenie
podstawowego profilu AA)



Oznaczenie profilu związków tiolowych w osoczu

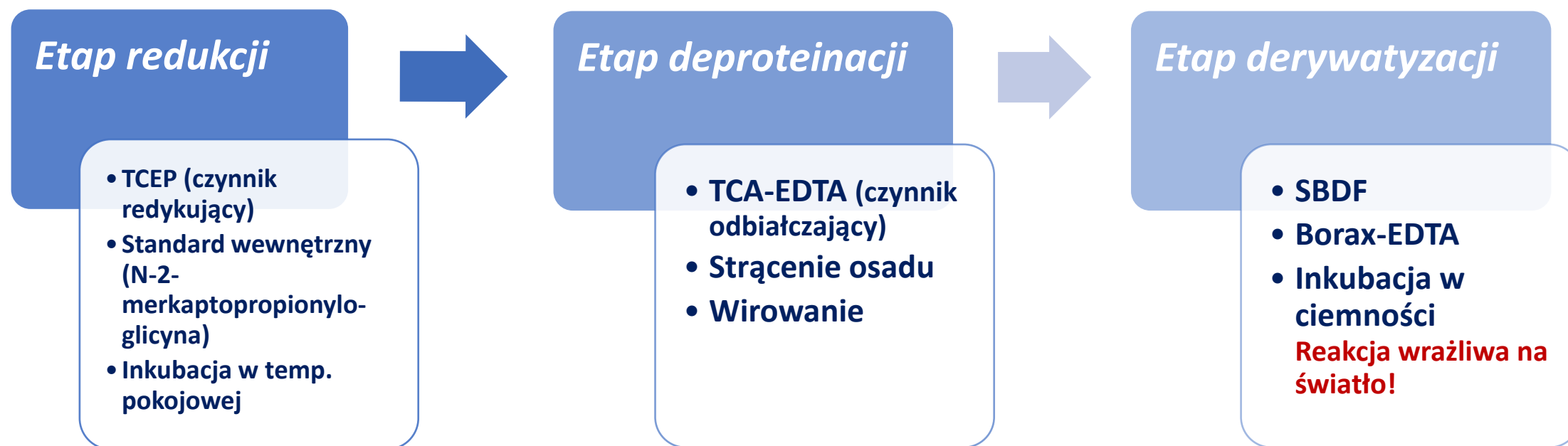
- Aktualnie oznaczany przez nas profil obejmuje:
 - Homocysteinę
 - Cysteinę
 - Cysteaminę
 - Glutation
 - γ -glutamilo-cysteinę
 - Cysteinilo-glicynę

- Możliwość rozbudowania profilu o pozostałe związki tiolowe związane z etapem transsulfuracji



Modyfikacja własna: Niedzwiedzki et al. „Chronic Arsenic Exposure and Blood Glutathione and Glutathione Disulfide Concentrations in Bangladeshi Adults”

Przygotowanie próbek do oznaczenia profilu SAA



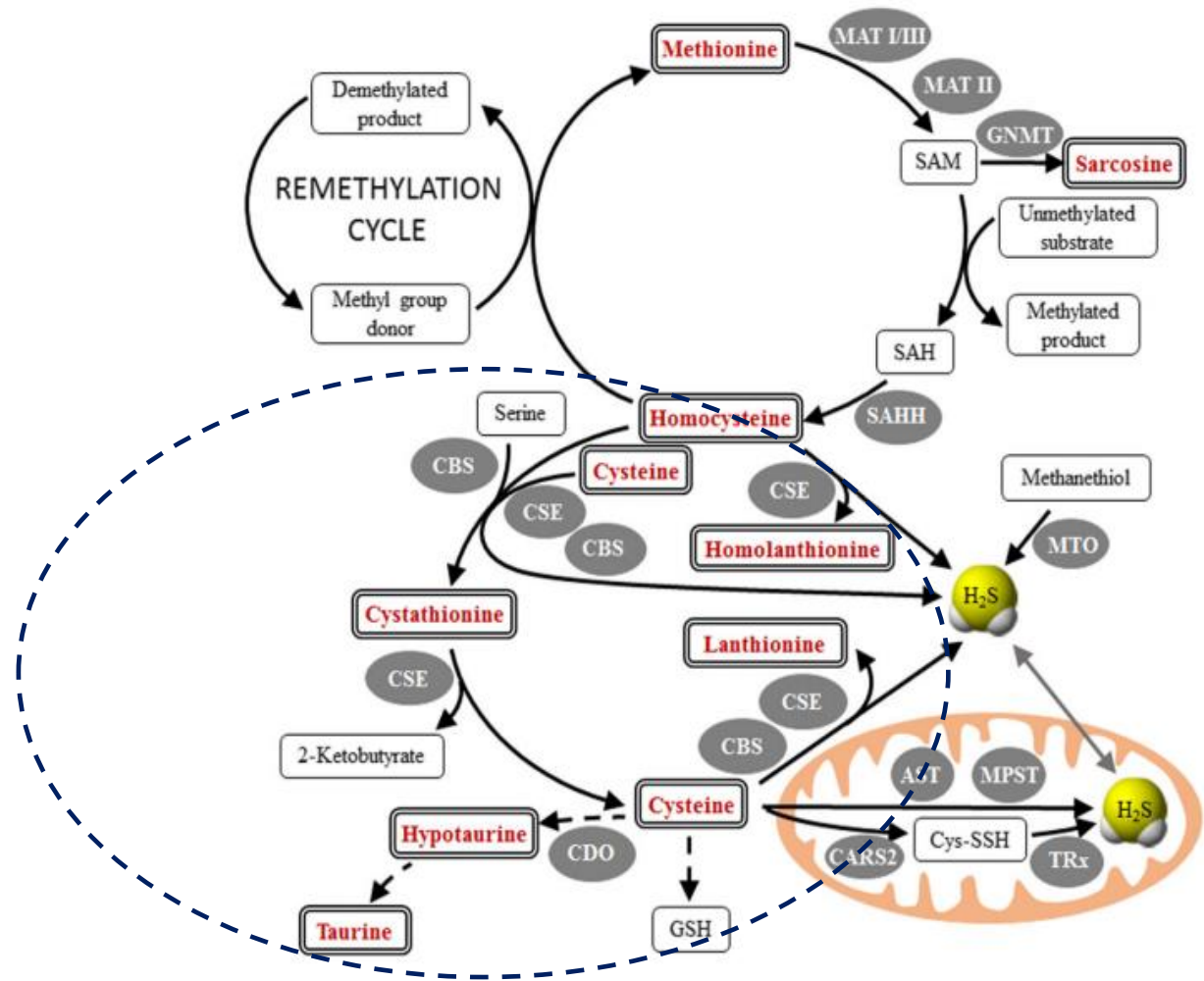
Warunki przechowywania i transportu materiału

Związki siarkowe są wrażliwe na zmianę temperatury, rozmrażanie oraz ekspozycję na światło, dlatego **procedura zabezpieczenia, przechowywania oraz transportu osocza odgrywa istotną rolę.**

Tuż po pobraniu krwi i odwirowaniu, osocze należy przenieść do czystej probówki i natychmiast zamrozić w temperaturze -70°C , a w transporcie nie dopuścić do jego rozmrożenia.

Oznaczenie związków tiolowych w osoczu

- Diagnostyka w kierunku zaburzeń reakcji transsulfuracji, syntezy i rozpadu glutationu
- Badanie zależności pomiędzy stężeniami związków siarkowych w danych zaburzeniach metabolizmu SAA



Kozich V, Metabolism of sulfur compounds in homocystinurias

Wpływ stężenia Hcy na inne związki tiolowe

	Met	Cys	Cysteamina	Cys-Gly	Hcy	GSH	G-Glu-Cys
Panjent A	25.8	263.443	0.029	17.192	37.184	5.231	2.733
	25.8	286.936	0.023	20.667	37.785	7.641	3.892
	53.2	293.694	0.052	21.392	45.511	7.882	3.060
Pacjent B	15.9	524.466	0.066	41.578	17.403	6.962	2.516
	15.4	362.588	nd	29.639	9.990	5.445	3.174
	28.0	710.590	nd	48.758	14.424	29.423	8.416
Pacjent C	27.2	608.211	0.051	72.260	11.232	24.160	6.366
	18.4	848.751	0.060	76.752	14.066	20.093	8.125

Wpływ stężenia homocysteiny na cysteinę

	Met	Cys	Cysteamina	Cys-Gly	Hcy	GSH	G-Glu-Cys
A	53.2	293.694	0.052	21.392	45.511	7.882	3.060
B	28.0	710.590	nd	48.758	14.424	29.423	8.416
C	18.4	848.751	0.060	76.752	14.066	20.093	8.125
D	14.0	452.009	0.035	29.768	26.679	6.499	3.041
E	1177.0	472.640	0.048	39.806	39.072	10.487	4.688

Wpływ wysokiego stężenia cysteiny na pozostałe związki tiolowe

	Cys	Cysteamina	Cys-Gly	Hcy	GSH	G-Glu-Cys
A	723.689	0.043	63.921	10.394	21.102	5.597
B	771.946	0.053	47.896	9.167	25.632	5.479
C	710.590	nd	48.758	14.424	29.423	8.416
D	848.751	0.060	76.752	14.066	20.093	8.125
E	915.656	0.110	47.883	12.107	16.794	6.160
F	518.299	0.031	31.378	9.573	26.950	4.616
G	444.819	0.056	31.394	10.498	12.562	4.284

Brak wpływu stężeń metioniny i homocysteiny na inne związki tiolowe w deficycie MAT I/III

	Met	Cys	Cysteamina	Cys-Gly	Hcy	GSH	G-Glu-Cys
Deficyt MAT I/III	1177.0	472.640	0.048	39.806	39.072	10.487	4.688
	916.6	421.143	0.046	33.078	27.026	10.972	4.139
	783.3	430.749	0.041	30.947	19.599	11.943	4.414
	793.3	323.584	0.021	25.679	13.356	11.956	4.350
	770.8	379.422	0.052	22.062	29.931	8.629	3.196
	161.6	475,901	0	33,227	16,61	2,2	4,245
Deficyt MAT I/III	208.3	423.133	0.036	24.371	11.252	8.091	3.169
	222.8	410.753	0.056	22.658	18.102	3.025	2.334

Niższe stężenia cysteiny nie wpływają na GSH w deficycie CBS

	Met	Cys	Cysteamina	Cys-Gly	Hcy	GSH	G-Glu-Cys
Deficyt CBS	1573.0	202.097	0.118	22.241	190.273	9.295	0.609
	277.3	244.911	0.022	20.034	144.598	5.649	2.364
	529.0	296.372	0.036	22.265	139.439	4.640	2.213
	1087.0	193,928	0,2	22,533	235,061	24,719	2,459
	1582.0	161.938	0.060	16.169	152.541	8.070	0.552
	1588.0	241.036	0.169	25.062	257.883	7.253	1.246
	1573.0	255.159	0.221	25.559	259.111	8.212	1.707
Deficyt CBS	189.0	167.858	0.112	13.768	205.478	7.450	1.807
	81.4	215.282	0.102	14.532	139.258	6.000	1.901

Wpływ deficytu MoCo na stężenia związków tiolowych

	Met	Cys	Cysteamina	Cys-Gly	Hcy	Glth	G-Glu-Cys
A		771.946	0.053	47.896	9.167	25.632	5.479
B		518.299	0.031	31.378	9.573	26.950	4.616
C	15.4	362.588	nd	29.639	9.990	5.445	3.174
MoCo2	16.2	34.4		19.2	0.77	1.21	1.08