

Metabolizm aminokwasów: od badań podstawowych do diagnostyki medycznej

dr n.med. Katarzyna Kuśmierska

Zakład Badań Przesiewowych i Diagnostyki Metabolicznej

Instytut Matki i Dziecka



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny

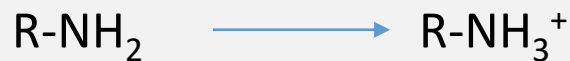


Aminokwasy:

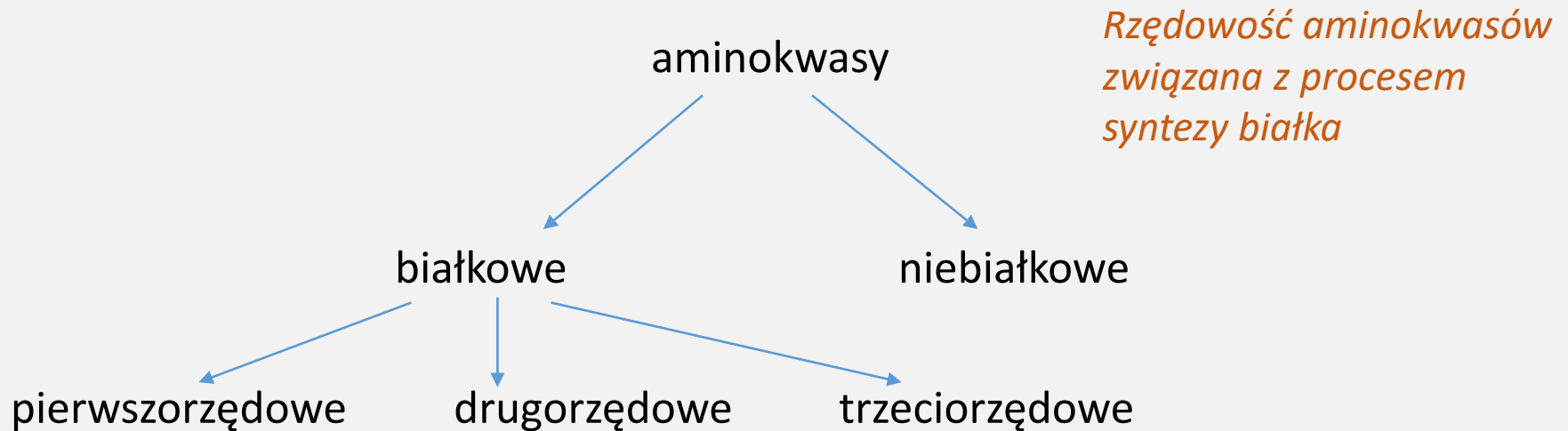
- są budulcem wszystkich białek,
- część z nich odgrywa istotną rolę jako neuroprzekaźniki lub ich prekursory, modulatory,
- są prekursorami hormonów, kofaktorów, puryn i pirymidyn,
- są w większości rozpuszczalne w wodzie, dzięki obecności grupy aminowej i karboksylowej, które w wodzie ulegają jonizacji,
- są filtrowane przez nerki i mogą być łatwo usuwane z moczem w przypadku braku skutecznego mechanizmu reabsorpcji w kanalikach nerkowych,
- istnieje kilka transporterów aminokwasów, których niedobór może przyczynić się do utraty jednego lub kilku aminokwasów z moczem i wystąpienia określonych objawów klinicznych.
- nadmiar aminokwasów jest rozkładany przez określone enzymy, prowadząc do wytwarzania energii i syntezy mocznika z grup azotowych podczas katabolizmu.

Aminokwasy białkowe: 19 α -aminokwasów + α -iminokwas

Charakterystyka kwasowo-zasadowa aminokwasów:



Formy zjonizowane aminokwasów zależą od pH roztworu



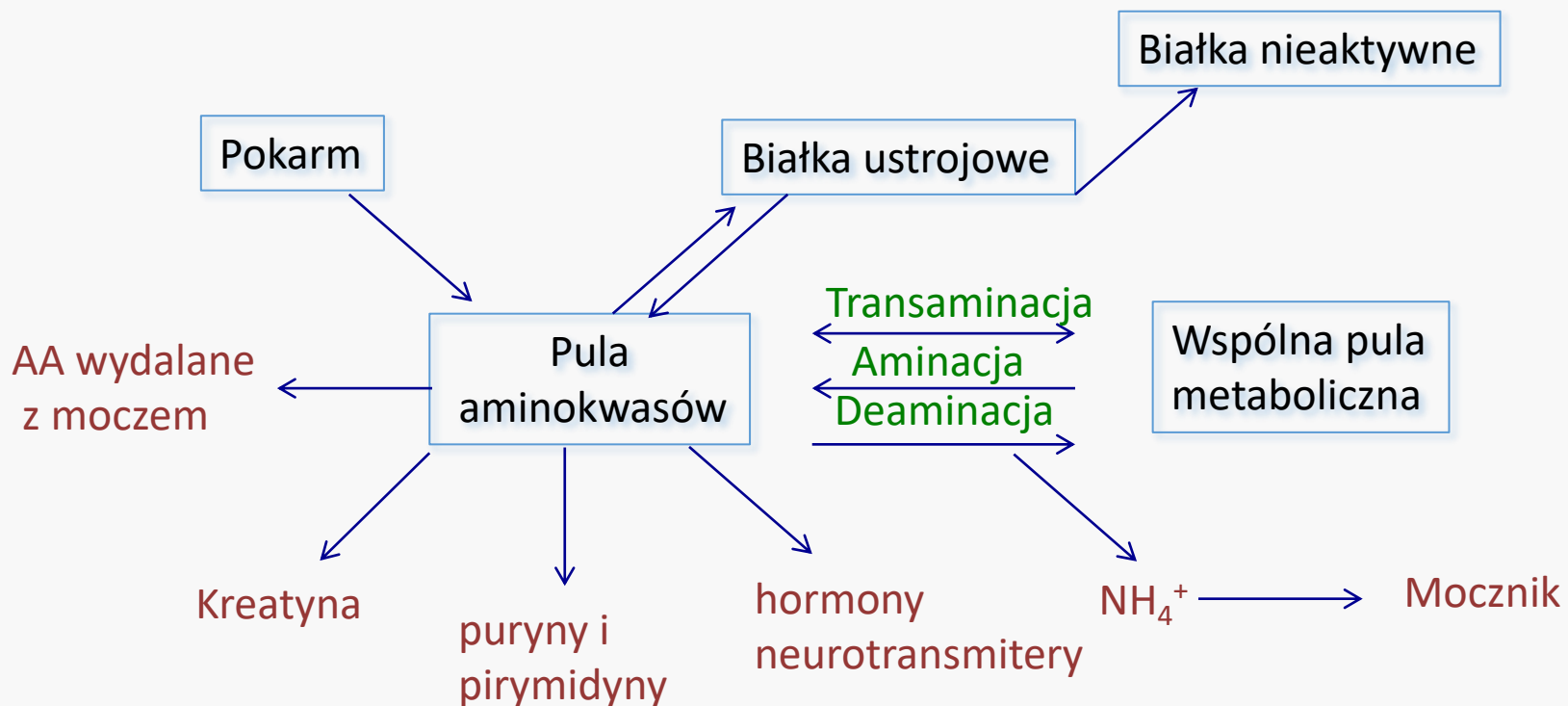
Źródłem 20 podstawowych aminokwasów są białka

- Tylko niewielka ilość białka oraz niektóre peptydy są wchłaniane z przewodu pokarmowego.
- Zdecydowana większość białek spożywczych jest trawiona a wchłaniane są tylko ich składniki, czyli aminokwasy.
- Własne białka są nieustannie hydrolizowane do aminokwasów i resyntetyzowane.
- Wymianie takiej podlega w ciągu doby średnio 80 – 100 g białek endogennych i jest ona najbardziej nasilona w błonie śluzowej jelita a najmniej w kolagenie.

Aminokwasy endogenne i aminokwasy egzogenne tworzą wspólną **pulę aminokwasów, która zaspokaja potrzeby organizmu**

W fazie wzrostu równowaga między aminokwasami a białkami przesunięta jest na korzyść białek, co oznacza, że procesy syntezy białek przeważają nad ich rozpadem

Metabolizm aminokwasów



Aminokwasy ulegają degradacji:

- 1) dla prawidłowego obrotu białka
- 2) przy ograniczonej podaży węglowodanów
- 3) w nadmiernej ilości spożywanego białka

Pierwszy etap katabolizmu aminokwasów obejmuje usunięcie grupy aminowej.

Powstały szkielet węglowy jest wykorzystywany w cyklu Krebsa lub w glukoneogenezie.

Podczas reakcji transaminacji (odpowiedzialnej za syntezę glutaminianu) donorowa grupa aminowa jest przekształcana w α -ketokwas.

Glutaminian przenosi grupy aminowe do cyklu mocznikowego lub szlaków biosyntezy innych aminokwasów.

Transaminazy uczestniczą w reakcjach odwracalnych w zależności od potrzeb organizmu.

Aminokwasy ulegają degradacji tworząc szkielety węglowe, które:

- są wykorzystywane w cyklu Krebsa do wytwarzania energii,
- zbiegają się w siedem związków zdolnych do wejścia bezpośrednio lub pośrednio w cykl Krebsa:
 - pirogronian,
 - acetylo-CoA,
 - acetoacetylo-CoA,
 - α -ketoglutaran,
 - bursztynylo-CoA,
 - fumaran,
 - szczawiooctan.

Aminokwasy ulegające degradacji do acetyloCoA lub acetoacetylCoA, nazywane są ketogennymi i są prekursorami ciał ketonowych (lizyna i leucyna).

Aminokwasy glukogenne po przekształceniu w pirogronian i szczawiooctan mogą syntetyzować glukozę w procesie glukoneogenezy.

Funkcje metaboliczne aminokwasów

Aminokwasy są prekursorami związków tj:

- hormony tarczycy
- katecholaminy
- histamina
- serotonina
- melatonina
- związki pośrednie cyklu mocznikowego
- metionina i cysteina są źródłem siarki wchodzącej w skład budowy białka, koenzymu A, tauryny i innych biologicznie ważnych związkach

Aminokwasy można podzielić na 6 grup:

Aminokwasy syntetyzowane z α -ketoglutaranu,

pochodzącego z cyklu kwasu cytrynowego (rodzina glutaminianu): glutaminian oraz wywodzące się z niego glutamina, prolina i arginina;

Aminokwasy syntetyzowane ze szczawiooctanu pochodzącego z cyklu kwasu cytrynowego

(rodzina asparaginianu): asparaginian oraz wywodzące się z niego: asparagina, metionina, treonina i lizyna oraz izoleucyna,

Aminokwasy syntetyzowane z 3-fosfoglicerynianu pochodzącego z glikolizy

(rodzina seryny): seryna oraz wywodzące się z niej cysteina i glicyna;

Aminokwasy syntetyzowane z pirogronianu pochodzącego z glikolizy

(rodzina pirogronianu): alanina, walina, leucyna

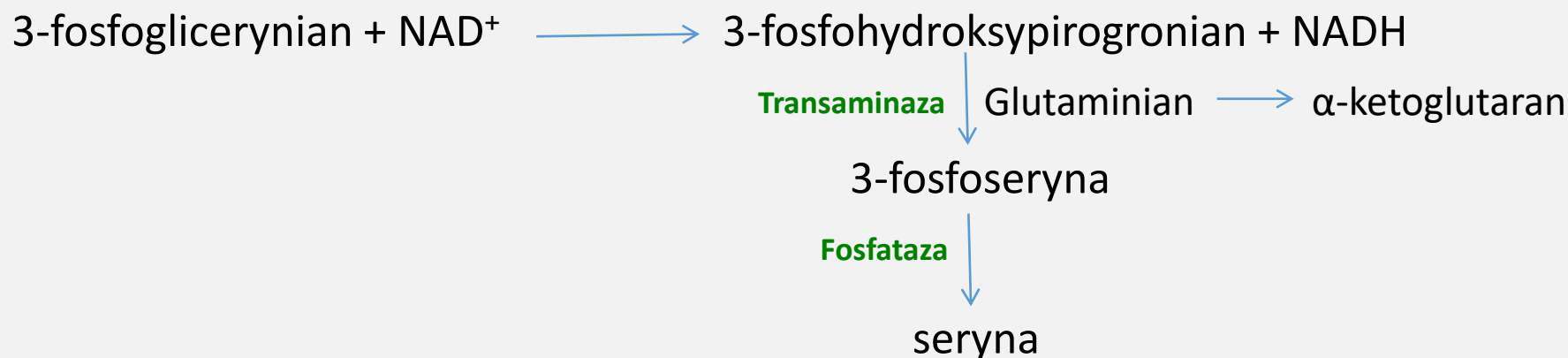
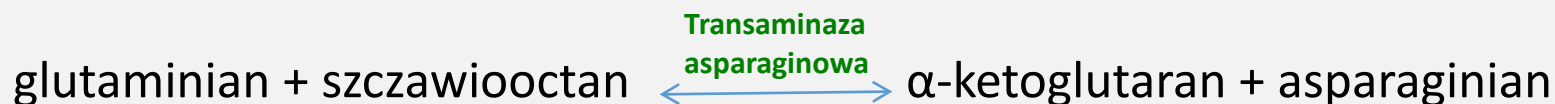
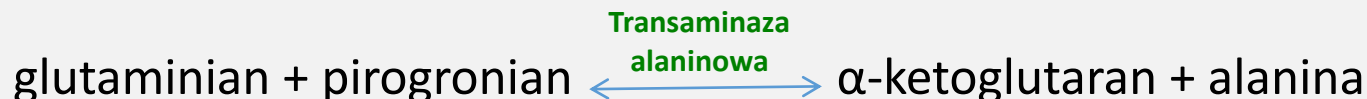
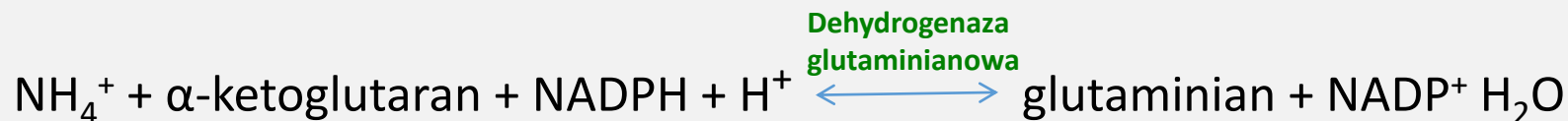
Aminokwasy można podzielić na 6 grup:

Aminokwasy syntetyzowane z fosfoenolopirogronianu pochodzącego z glikolizy i erytrozo-4-fosforanu, pochodzącego ze szlaku pentozofosforanowego

(rodzina aminokwasów aromatycznych): fenyloalanina, tyrozyna i tryptofan

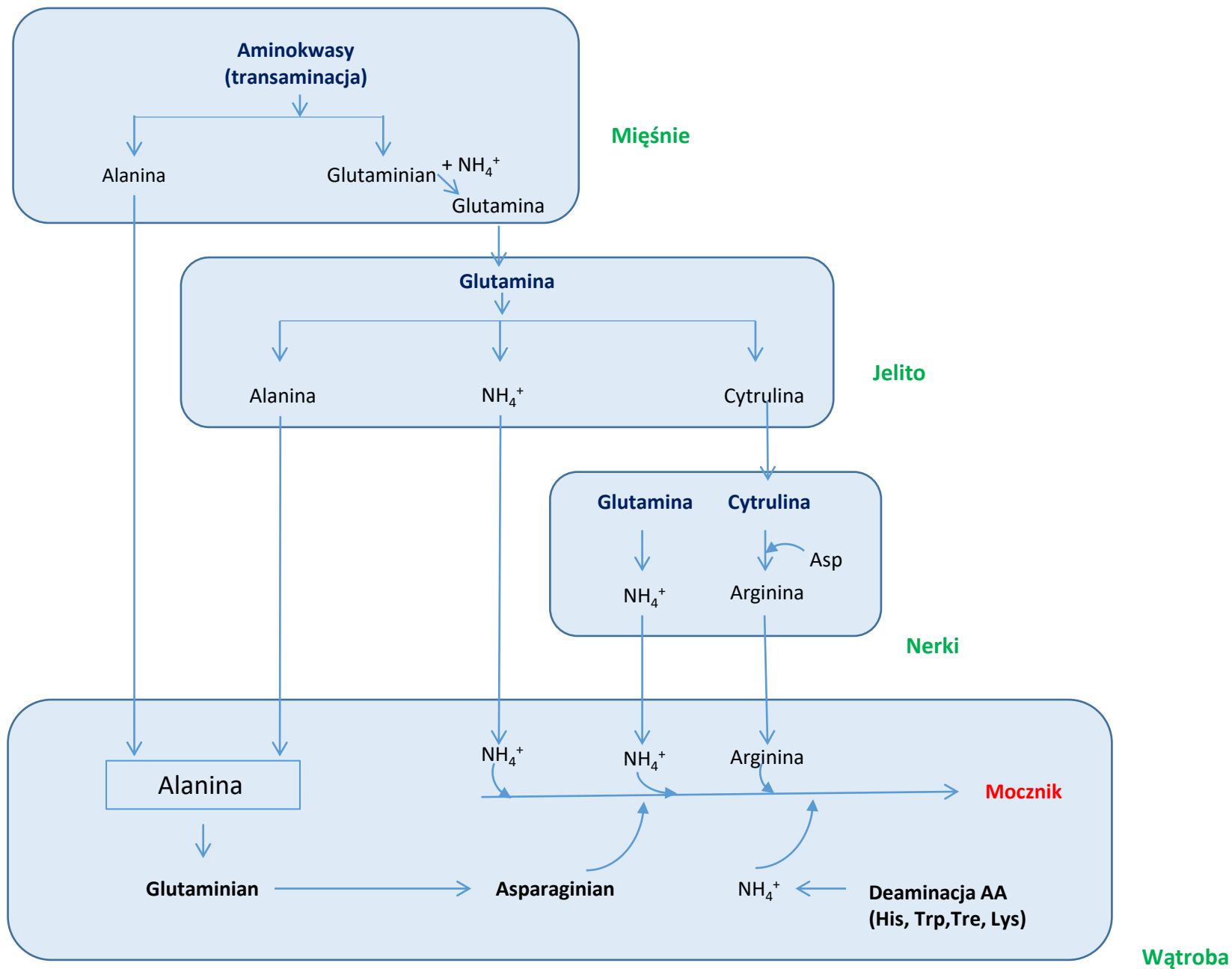
Aminokwasy syntetyzowane z rybozo-5-fosforanu ze szlaku pentozofosforanowego: histydyna

Reakcje syntezy aminokwasów endogennych



Cykl mocznikowy

- rozpad białka powoduje wzrost wolnego azotu w postaci amoniaku, który uszkadza ośrodkowy układ nerwowy,
- w prawidłowo przebiegającym cyklu mocznikowym amoniak przekształcany jest w mocznik i wydalany w moczu,
- reakcje biochemiczne cyklu mocznikowego wykorzystywane są do syntezy i degradacji argininy,
- cykl mocznikowy odpowiedzialny jest za prawidłową homeostazę pH.



Prawidłowe stężenie amoniaku w osoczu: u noworodka < 110 $\mu\text{mol/L}$ (190 $\mu\text{g/dl}$), u starszego dziecka i dorosłego < 80 $\mu\text{mol/L}$ (140 $\mu\text{g/dl}$)

Pierwszym głównym donorem grupy α -aminowej dla większości aminokwasów jest glutaminian

Glutaminian jest syntetyzowany z NH_4^+ i α -ketoglutaranu

Drugim ważnym donorem azotu jest glutamina, syntetyzowana z glutaminianu i jonów NH_4^+ w reakcji katalizowanej przez syntetazę glutaminianową

Wolne jony amonowe są wykorzystywane do syntezy: glutaminy w komórkach takich jak:

komórki mięśni szkieletowych

hepatocyty

komórki przewodu pokarmowego

limfocyty

astrocyty

oraz

karbamioilofosforanu w
hepatocytach

cytozol

mitochondrium

Amoniak w formie gazowej może być oznaczany na skórze i w wydychanym powietrzu

Główne enzymy uczestniczące w metabolizmie wolnych jonów amonowych to:

- **syntetaza glutaminowa:** cytozolowy enzym, który katalizuje syntezę glutaminy z glutaminianu i wolnych jonów NH_4^+ w ATP-zależnej reakcji.
- **glutaminaza** enzym mitochondrialny katalizujący reakcję hydrolizy glutaminy do glutaminianu i wolnych jonów NH_4^+
- **asparaginaza** enzym katalizujący przemianę asparaginy do asparaginianu i wolnych jonów NH_4^+
- **dehydrogenaza glutaminianu** enzym mitochondrialny katalizujący reakcje odwracalnej deaminacji oksydacyjnej glutaminianu do α -ketoglutaranu i wolnych jonów amonowych
- **Aminotransferazy,** enzymy uczestniczące w przenoszeniu grup aminowych pomiędzy aminokwasami a ketokwasem bez syntetyzowania lub zużywania wolnych jonów amonowych

Enzymy cyklu mocznikowego

- **Syntaza N-acetyloglutaminianowa**, enzym katalizujący syntezę N-acetyloglutaminianu z kwasu glutaminowego i acetylo-CoA wewnątrz mitochondrium
- **Syntetaza 1-karbamoilofosforanowa**, enzym aktywowany przez N-acetyloglutaminian, katalizujący reakcje kondensacji NH_4^+ i HCO_3^- do karbamoilofosforanu
- **Transkarbamyłaza ornitynowa** (OTC), enzym katalizujący syntezę cytruliny z karbamoilofosforanu i ornityny
- **Syntetaza 1-argininobursztynianowa** (ASS1), enzym katalizujący w cytozolu syntezę argininobursztynianu z cytruliny i kwasu asparaginowego
- **Liaza argininobursztynianowa** (ASL), enzym katalizujący rozpad argininobursztynianu do argininy i kwasu fumarowego
- **Arginaza-1**, enzym uczestniczący w hydrolizie argininy do ornityny i mocznika

Wszystkie wady enzymów cyklu mocznikowego mogą prowadzić do podwyższonego stężenia NH_4^+ **HIPERAMONEMII**

Zwiększone stężenie NH_4^+ prowadzi do niekontrolowanego wzrostu stężenia glutaminy.

Wzrost stężenia NH_4^+ stymuluje syntezę kwasu orotowego

Wzrost kwasu orotowego jest dobrym wskaźnikiem niedoboru argininy

Obniżone stężenie argininy zmniejsza wydajność detoksykacji amoniaku oraz redukcje tlenu azotu

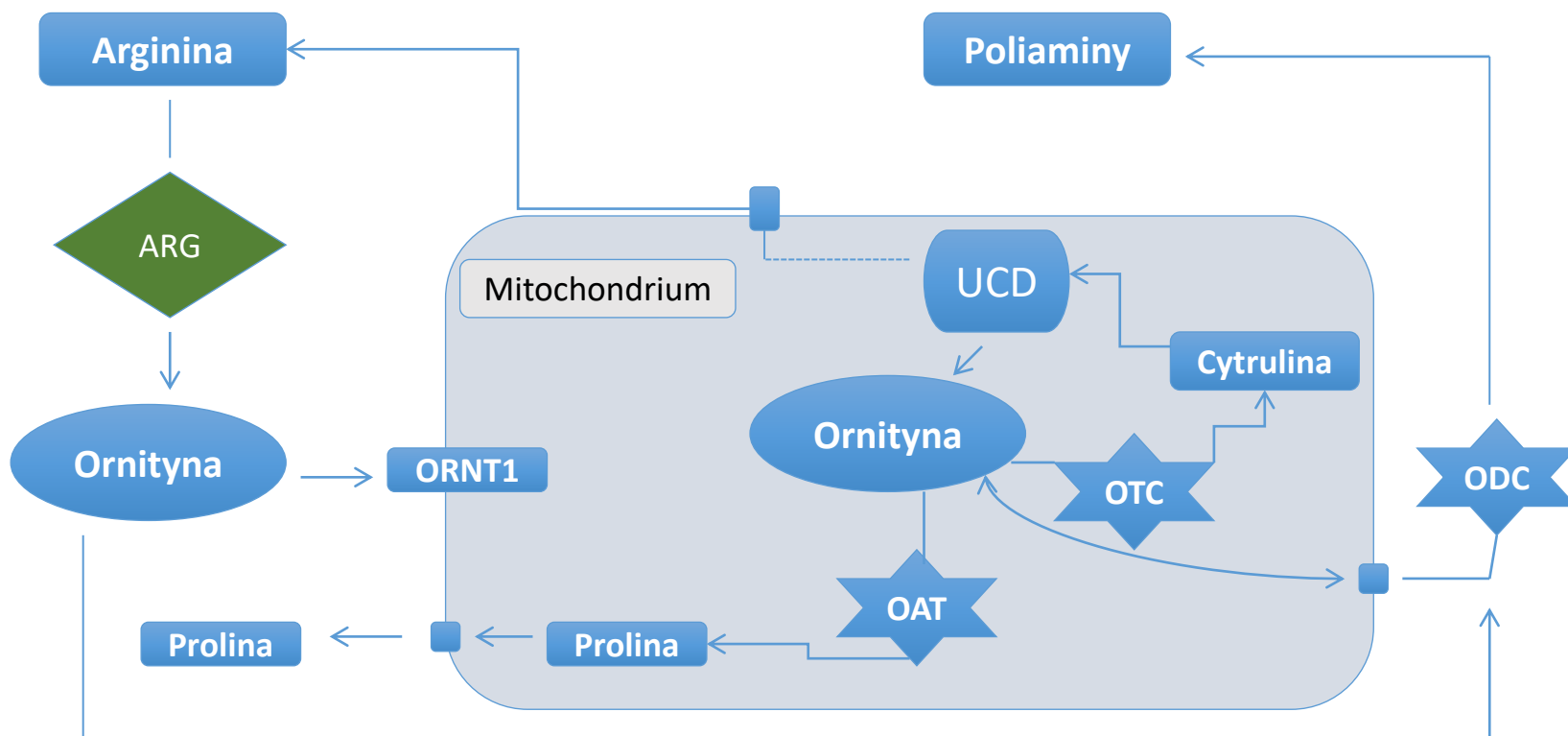
Produkcja kwasu orotowego jest redukowana przez podanie argininy, która stymuluje aktywność cyklu mocznikowego

Patogeneza hiperamonemii w cyklu moczniowym

- zaburzenie detoksykacji amoniaku do mocznika
- spotęgowany katabolizm kwasu glutaminowego, głównie w mięśniach szkieletowych
mniej w mózgu
- większość uwolnionej glutaminy do obiegu jest katabolizowana ponownie do amoniaku w erytrocytach i nerkach.

Ornityna i jej rola w chorobach metabolicznych

- Ornityna jest kluczowym składnikiem cyklu mocznikowego – jest produkowana przez arginazę z argininy. W cytoplazmie syntetyzowana ornityna jest transportowana do mitochondrium przez ORNT1
- Ornityna odgrywa istotną rolę w funkcjonowaniu wątroby i pracy układu immunologicznego
- Jest substratem dla transkarbamyazy ornitynowej (OTC), aminotransferazy ornitynowej (OAT) i dekarboksylazy ornitynowej (ODC), które syntetyzują odpowiednio cytrulinę, prolinę i poliaminy



Cykl mocznikowy

- jeden z wielu przykładów wskazujących na to, że aminokwasy pełnią w naszym organizmie rolę nie tylko budulcową,
- przy braku chociaż jednego aminokwasu, przebieg całego cyklu ulega zahamowaniu.
- pośrednio, jako kofaktor do produkcji ornityny z glutaminianu o przebiegu cyklu mocznikowego decyduje witamina B₆. Tempo przebiegu cyklu mocznikowego jest dodatnio skorelowane z początkowym stężeniem amoniaku.
- nieprawidłowy przebieg cyklu mocznikowego prowadzi do wzrostu stężenia amoniaku we krwi, co odpowiada za zaburzenia równowagi kwasowo – zasadowej w organizmie, może przyczyniać się do wystąpienia encefalopatii, zaburzeń neurologicznych.

Cykl mocznikowy

Zaburzenia cyklu mocznikowego wynikają najczęściej z:

- niewydolności wątroby (np. marskość wątroby, encefalopatia wątrobowa)
- przeciążenia wątroby w przypadku zatrucia
- zaburzeń ze strony enzymów uczestniczących w tym cyklu
- silnego niedoboru witaminy B₆ (kofaktora do syntezy ornityny) lub zaburzenia metabolizmu glutaminy
- niedoboru manganu



Hiperamonemia – inne zaburzenia metaboliczne

- Kwasice organiczne
- Zaburzenia beta-oksydacji kwasów tłuszczowych
- Zaburzenia metabolizmu węglowodanów
- Leki (kwas walproinowy)

Podstawowe badania:

- Ilościowa analiza aminokwasów w osoczu
 - Profil kwasów organicznych w moczu
 - Profil acylokarnityn
- Ilościowe oznaczenie kwasu orotowego w moczu
- Biopsja wątroby może być wykonana dla enzymatycznego potwierdzenia deficytu CPS lub OTC

Lizynuryczna nietolerancja białka

Defekt w transporcie aminokwasów 2-zasadowych: lizyny, ornityny i argininy spowodowany przez mutację w genie SLC7A7 kodującym aminokwasowy transbłonowy transporter LAT-1

Deficyt Argininy i Ornityny powoduje zaburzenie cyklu mocznikowego i hiperamonemię

hiperaminoacydurię

oraz

niskie stężenie lizyny, argininy i ornityny w osoczu

Aminokwasy a karnityna (maślan beta-hydroksy-trimetyloamonu)

Karnityna powstaje z dwóch aminokwasów: metioniny i lizyny.

Karnitynowe estry KT są przenoszone do przestrzeni macierzy przez translokazę.

Następnie estry ulegają hydrolizie, a karnityna odtworzeniu



Aminokwasy a kreatyna

Kreatyna:

- jest uznawana za nieistotny składnik odżywczy, który można uzyskać ze związków pozyskiwanych z diety;
- jest syntetyzowana w wątrobie, nerkach i trzustce z aminokwasów tj. arginina, glicyna i metionina,
- arginina - aminokwas „poł-niezbędny” czy niezbędny? - stężenie zależy od wieku i rozwoju; wcześniaki nie są w stanie wystarczająco syntetyzować argininy z powodu niedoboru enzymów syntezy argininy w jelicie, co może ostatecznie wpłynąć na stężenie kreatyny.
- glicyna - aminokwas niezbędny w diecie człowieka, pełni funkcje neuroprzekaźnika, uczestniczy w transporcie grup metylowych.

Aminokwasy w syntezie kreatyny

W mięśniach szkieletowych kreatyna jest fosforylowana do fosfokreatyny.



Ważny magazyn energii dla syntezy ATP; ATP powstały w procesach glikolizy i fosforylacji oksydacyjnej reaguje z kreatyną tworząc odpowiednio ADP i duże ilości fosfokreatyny. W trakcie wysiłku fizycznego reakcja ta ulega odwróceniu, zapewniając dostawę ATP.

Koenzymy a aminokwasy

Fosforan pirydoksalu

tworzy intermediaty o charakterze zasady Schiffa, pozwalające na wymianę grupy α -aminowej na ketonową, katalizowaną przez aminotransferazy

Witamina B₁₂

dostarcza wolnych rodników do zmiany szkieletów węglowych

Tetrahydrobiopteryna (BH₄)

ulega utlenieniu do dihydrobiopteryny w reakcji z hydroksylazą fenyloalaniny, tyrozyny i tryptofanu

Metylenotetrahydrofolian (MTHF)

odpowiada za transport grup metylowych



Aminokwasy PLP-zależne

seryna $\xrightarrow{\text{DEHYDRATAZA SERYNOWA}}$ pirogronian + NH_4^+

seryna + THF $\xrightleftharpoons{\text{HYDROKSYMETYLOTRANSFERAZA}}$ glicyna + MTHF + H_2O

Seryna + homocysteina $\xrightarrow{\text{SYNTAZA CYSTATIONINOWA}}$ cystationina

cystationina $\xrightarrow{\text{LIAZA CYSTATIONINOWA}}$ α -ketomaślan + cysteina

treonina $\xrightarrow{\text{DEHYDRATAZA TREONINOWA}}$ α -ketomaślan + NH_4^+

Homocysteina, metionina, S-adenozylometionina i S-adenozylhomocysteina

Metionina jest:

potrzebna do syntezy białka
donorem grup metylowych
donorem grupy siarkowej
prekursorem dla cystationiny, cysteiny i tauryny

Homocysteina jest:

ściśle związana z metioniną
ważna w metabolizmie kwasu foliowego

Aminokwasy odpowiedzialne za syntezę wielu związków

- Puryny i pirymidyny
- Histamina (pochodna histydyny)
- Adrenalina, noradrenalina, tyroksyna (pochodne tyrozyny)
- Serotonina, melanina i NAD^+ (pochodne tryptofanu)
- Reszta nikotynoamidowa pochodzi od glutaminy
- Glutation powstaje w reakcji glutaminy z cysteiną
- Tlenek azotu (ważny przekaźnik) syntetyzowany jest z argininy w reakcji katalizowanej przez syntazę tlenku azotu (NOS)
- Porfiryny syntetyzowane są w reakcji glicyny z bursztynem CoA.

Aminokwasy definiowane są jako związki zawierające pierwszo lub drugorzędowe grupy aminowe i jedną lub dwie grupy karboksylowe.

- Podstawowy profil aminokwasów oznaczany w osoczu, moczu i płynie mózgowo-rdzeniowym metodą HPLC z detektorem fluorescencyjnym obejmuje 25 aminokwasów w tym aminokwasy drugo rządowe takie jak: prolina i hydroksyprolina.
- Za pomocą tandemowej spektrometrii mas można oznaczyć do 76 aminokwasów i ich pochodnych w suchej kropli krwi lub osoczu nakropionym na bibułę.
- Aminokwasy nie są związane z białkiem z wyjątkiem cysteiny, homocysteiny i tryptofanu



Techniki laboratoryjne w diagnostyce wrodzonych wad metabolizmu

- Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)
- Chromatografia gazowa (GC)
- Chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas (GC-MS)
- Wysokociśnieniowa chromatografia cieczowa (HPLC)
- Kolorymetria/ spektrofotometria absorbcyjna
- Tandemowa spektrometria mas (MS/MS)
- Techniki badań genetycznych
- Elektroforeza 2D, elektroforeza kapilarna

Warunki pobrania materiału

**Jednym z warunków uzyskania wiarygodnego wyniku,
a tym samym umożliwiającym postawienie właściwej diagnozy i rozpoczęcie leczenia,
jest
prawidłowo pobrany materiał biologiczny!**

Materiał wykorzystywany do badań podstawowych:

- sucha kropla krwi pobrana na bibułę
- surowica
- osocze - materiał pobierany na antykoagulant czyli środek przeciwkrzepliwy, dodawany w ściśle określonych proporcjach w stosunku do ilości krwi
- mocz (poranna porcja moczu lub dobowy zbiórka moczu)
- PMR – płyn mózgowo-rdzeniowy



Standardowe warunki pobrania materiału:

- na czczo (w przypadku dzieci w wieku 0-12 miesięcy, pobranie minimum po 4 godzinach, przed kolejnym karmieniem),
- w godzinach porannych,
- po spoczynku,
- bez stresu,
- przed podaniem porannej porcji leków.



Diagnostyka biochemiczna w kierunku wrodzonych wad metabolizmu

Biomarkery	Rozpoznanie
Aminokwasy (osocze, mocz i płyn mózgowo-rdzeniowy) Pierwotne i wtórne zaburzenia związane z witaminami z gr. B	• choroba Hartnup'a • zaburzenia cyklu mocznikowego • HHH – hiperornitynemia, hiperamonemia i hiperhomocytrulinemia • hiperglicynemia nieketotyczna • zaburzenia metabolizmu aminokwasów aromatycznych • deficyt seryny (PHGDH) • zaburzenia metabolizmu aminokwasów siarkowych • Zaburzenia metabolizmu aminokwasów rozgałęzionych
Kreatyna	• deficyt GAMT 1 • deficyt AGAT • zaburzenia transportu kreatyny
1.profil acylokarnityn, 2. profil kwasów organicznych,	Pierwotne i wtórne zaburzenia metabolizmu aminokwasów

Diagnostyka biochemiczna w kierunku wrodzonych wad metabolizmu

Biomarkery	Rozpoznanie
Homocysteina w osoczu	Hiperhomocysteinemia • deficyt beta-syntazy cystationinowej • deficyt MTHFR (metylotetrahydrofoliowej reduktazy) • acyduria metylomalonowa
Pierwotne zaburzenia związane z witaminami z gr. B (B1, B2, B6, B9 i B12)	
1. metabolity amin biogennych, 2. GABA, 3. 5-MTHF, 4. pteryny	• zaburzenia metabolizmu amin biogennych • Zaburzenia metabolizmu tetrahydrobiopteryny (BH₄) • Zaburzenia metabolizmu glutaminianu • Zaburzenia metabolizmu kwasu foliowego
w płynie mózgowo-rdzeniowym	
Pierwotne i wtórne zaburzenia związane z witaminą B6 i B9	

Diagnostyka biochemiczna w kierunku wrodzonych wad metabolizmu

Biomarkery	Ropoznanie
Kofaktory/witaminy	• deficyt biotynidazy • CFD (cerebral folate deficiency) syndrom • deficyt syntetazy holokarboksylowej • deficyt kofaktora molibdenowego • deficyt PLPO (oksydazy 5-fosforo-pirydoksaminy)



Diagnostyka wrodzonych wad metabolizmu obejmuje:

- **PROFIL AMINOKWASÓW**: analiza aminokwasów w osoczu, płynie m-rdzeniowym oraz moczu) za pomocą analizatora aminokwasów lub HPLC, rzadziej GC-MS, pojedyncze przypadki wykorzystania MS/MS;
- **PROFIL KWASÓW ORGANICZNYCH W MOCZU** metodą GC-MS/GC-MS-MS – metoda półilościowa;
- **METABOLITY KREATYNY** w moczu metodą MS/MS;
- **PROFIL PTERYN**: analiza biopteryny i neopteryny w moczu i płynie m-rdzeniowym;
- **PROFIL PURYN I PIRYMIDYN**: ilościowa analiza puryn i pirymidyn w moczu metodą LC-MS-MS lub HPLC z detektorem UV-VIS.



Diagnostyka wrodzonych wad metabolizmu obejmuje:

- **Analizę neurotransmiterów w płynie m-rdzeniowym:** ilościowa analiza metabolitów amin biogennych, kwasu γ -aminomasłowego (GABA);
- **Analizę różnicującą zaburzenia metabolizmu aminokwasów siarkowych:** ilościowe oznaczanie aminokwasów siarkowych oraz SAM i SAH
- **Analizę nienasyconych kwasów tłuszczowych:** ilościowe oznaczanie PUFA w osoczu
- **Analizę galaktozy i gal-1-P w suchej kropli krwi:** ilościowe oznaczanie gal i gal-1-P metodą GC-MS-MS lub LC-MS-MS
- **Analizę wybranych białek w płynie m-rdzeniowym:** metodą Western Blot i tandemową spektrometrią mas.
- **Analizę izoform transferryiny w surowicy metodą IEF:** procentowa ocena zawartości frakcji transferryiny w surowicy: asialo-, monosialo-, disjalo-, trisjalo-, tetrasialo-, pentasialo-, heksasialo-transferyna

Diagnostyka potwierdzająca:

- badania enzymatyczne i/lub badania molekularne;

PROFIL KWASÓW ORGANICZNYCH W MOCZU METODĄ GC-MS

- jedna z głównych metod wykorzystywanych w badaniach „przesiewowych” w kierunku wykrywania kwasów organicznych i zaburzeń beta-oksydacji kwasów tłuszczowych;
- obejmuje ilościowe oznaczanie kwasu orotowego i metylomalonowego
- **Wykrywa niedobór witaminy B12**
- wykrywa nieprawidłowe stężenie uracylu i ukierunkowuje dalszą diagnostykę różnicową w kierunku zaburzeń metabolizmu puryn i pirymidyn;
- **jest pierwszym badaniem mogącym wskazać na zaburzenia metabolizmu amin biogennych lub niedoborów pirydoksyny**
- Jest badaniem „wrażliwym: na stan kliniczny i dietę pacjenta.
- odpowiada na dysfunkcje wątroby, zaburzenia krzepnięcia, cholestazę



INTERPRETACJA PROFILU KWASÓW ORGANICZNYCH ZALEŻY OD:

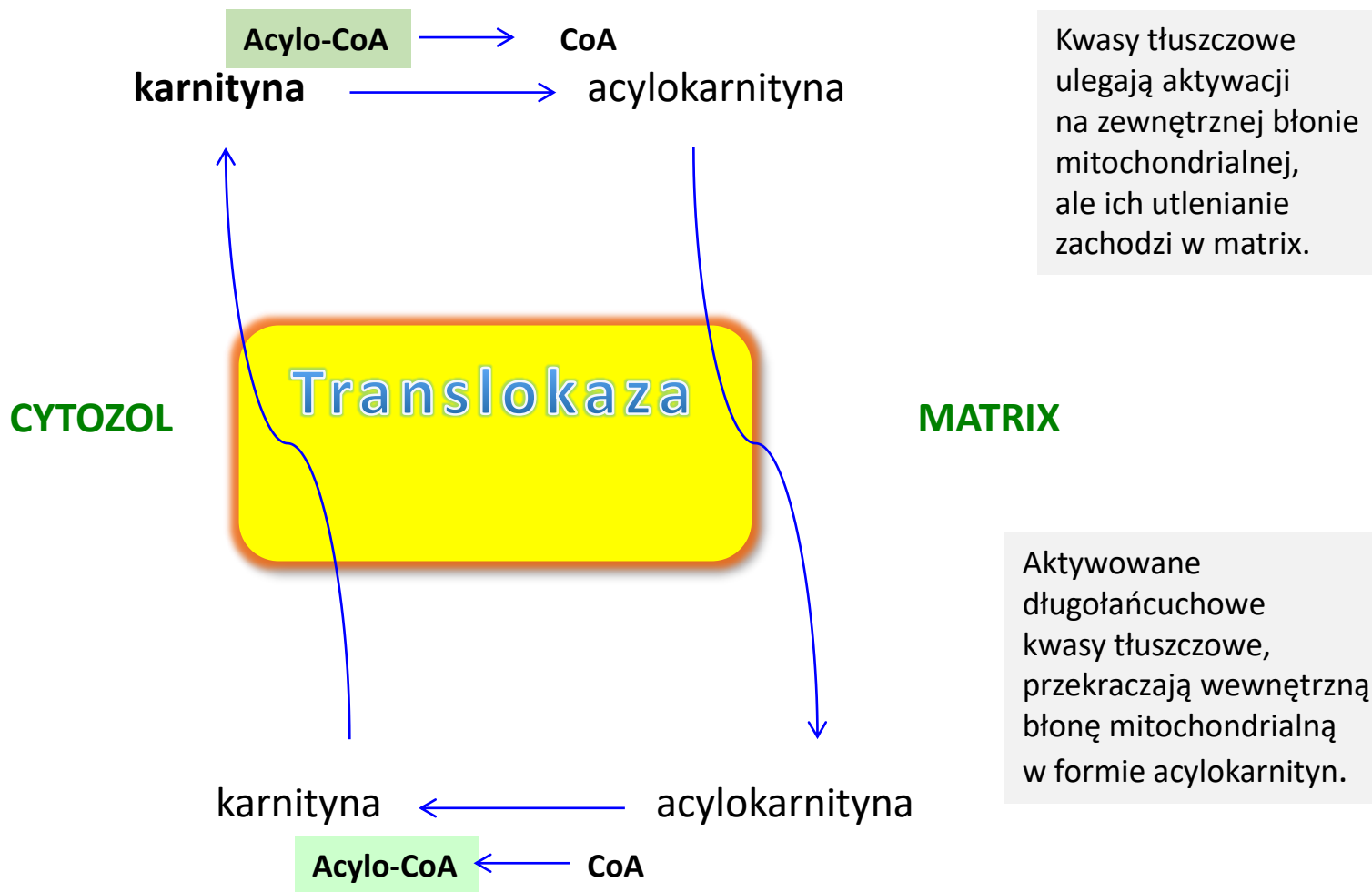
- wieku
- czasu zbierania i przechowywania jednorazowej porcji moczu
- stanu klinicznego chorego
- żywienia
- leków

KWAS MLEKOWY, PIROGRONOWY I ACETOOCETOWY

**służą do pozyskiwania energii
są skutecznym narzędziem
do wykrywania, diagnozowania i terapii w:**

- deficycie dehydrogenazy pirogronianowej/karboksylazy pirogronianowej
- defekcie enzymów cyklu Krebsa
- defekcie enzymów glukoneogenezy
- zaburzeniach glikozylacji wątrobowej
- zaburzeniach beta-oksydacji kwasów tłuszczowych
- zaburzeniach mitochondrialnego łańcucha oddechowego

B-oksydacja kwasów tłuszczowych – źródło energii



Diagnostyka: Profil acylokarnityn, profil kwasów organicznych i badania aktywności enzymów.

Pozyskiwanie ATP

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

STANDARDOWY PROFIL AMINOKWASÓW METODĄ HPLC

- Materiał:** osocze (krew pobrana na heparynę litową)
surowica
płyn mózgowo-rdzeniowy
mocz
- Profil:** 25 aminokwasów w tym 3 związane z białkiem: cysteina, homocysteina oraz tryptofan
- Profil:** 42 aminokwasów w tym dipeptydów za pomocą analizatora aminokwasów.

Interferencje zachodzące w profilu aminokwasów

Spożywanie dużych ilości mleka – wzrost większości aminokwasów, szczególnie metioniny i tyrozyny

Głodzenie – obniżenie wszystkich aminokwasów z wyjątkiem aminokwasów rozgałęzionych (Val, Ileu, Leu)

Wysiłek fizyczny – wzrost kwasu pirogronowego, wzrost alaniny, wzmożona synteza kreatyny z argininy

Kwasica mleczanowa – podwyższone stężenie proliny (hiperprolinemia wtórna) i alaniny

Związki cukrów z grupą fosforanową: fruktozo – 1 – P w nietolerancji fruktozy oraz galaktozo – 1 – P w galaktozemii są nefrotoksyczne, co powoduje aminoacydurię (Zespół Fanconiego)

Poszerzenie diagnostyki zaburzeń metabolizmu aminokwasów o diagnostykę zaburzeń remetylacji, demetylacji i transsulfuracji

- Analiza kwasu foliowego w surowicy
- Analiza aminokwasów siarkowych: cystationina, cysteina, cystamina, glutation
- Analiza SAM i SAH w osoczu
- Analiza profilu puryn i pirymidyn
- Analiza związków tiolowych

Zaburzenia metabolizmu aminokwasów	Aminokwasy
Homocystynuria	Hcy↑, Met↑, Cys↓, AdoMet↑, AdoHcy↑
Homocystinuria/MTHFR	Hcy↑, Met↓
Lizynuryczna nietolerancja białka (LPI)	Lys↑, Arg↑, Orn↑(mocz), Lys↓, Arg↓, Orn↓(osocze)
MSUD	Leu↑, Ile↑, Val↑, Alloile↑
Ornithine carbamoyltransferase deficiency (OTC)	Gln↑, Cit↓, Ala↑, Lys↑, Arg↓
hiperfenyloalaninemia	Phe↑, Tyr↓
def. dehydrogenazy 3-fosfoglicerynowej	Ser↓, Gly↓
prolinemia type 1	Pro↑(osocze), Pro↑, Hyp↑, Gly↑(mocz)
sacharopinuria	Lys↑, Sacch↑(osocze, mocz)
deficyt kofaktora Mo	Sulfocys↑, Tau↑(mocz)
tyrozynergia typ 1	Tyr N-↑, Met↑, Phe↑(osocze), all AA (mocz)
tyrozynergia typ 2	Tyr↑(osocze, mocz)

Zaburzenia metabolizmu aminokwasów	Aminokwasy
def. syntazy N-acetyloglutaminanowej	Glu↑, Cit↓, Arg↓, Lys↑
deficyt dehydrogenazy α -aminoadypinowego semialdehydu (AASA)	AASA↑, Pip↑
kwasicza argininobursztynianowa (ASA)	ASA↑, Cit↑, Gln ↑, Arg↓
def. transaminazy GABA	GABA↑(PMR)
def. syntazy karbamylofosforanowej	Gln↑, Cit↓, Ala↑, Lys↑
cytrulinemia typ 1	Cit↑, Gln↑, Ala↑, Arg↓
cytrulinemia typ 2 (deficyt cytryny)	Cit↑, Met↑, Thr↑, Tyr↑
Zespół Fanconiego	wszystkie AA↑
cystynuria	Cys↑, Lys↑, Arg↑, Orn↑
def. syntetazy glutaminianu	Gln↓
HHH-syndrom	Orn↑(osocze), Hcit↑(mocz)



Zróżnicowany fenotyp kliniczny wymaga szerokiej diagnostyki w kierunku wrodzonych wad metabolizmu

Metabolizm aminokwasów jest podstawowym procesem komórkowym, który odpowiada za prawidłowe funkcjonowanie organizmu.

Metabolizm aminokwasów ma wpływ na szlak syntezy ATP, metabolizm kwasów tłuszczowych i węglowodanów.

Diagnostyka medyczna w kierunku zaburzeń metabolizmu oparta jest głównie na analizie aminokwasów, ich pochodnych oraz peptydów i białek. Dalsza diagnostyka różnicowa obejmuje węglowodany, kwasy tłuszczowe oraz inne metabolity.





DZIĘKUJĘ ZA UWAGĘ

