

Aminokwasy rozgałęzione w procesach biochemicznych komórki i ich rola w diagnostyce metabolicznej

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

METABOLIZM- współzależny system reakcji biochemicznych zachodzących w komórce

Odpowiada na pytania:

- jak komórka pozyskuje energię i siłę redukcyjną ze środowiska zewnętrznego?
- w jaki sposób komórki syntetyzują podstawowe elementy makrocząsteczek?



Główny nośnikiem energii swobodnej jest ATP

ATP – nukleotyd składający się z adeniny, rybozy i trójfosforanu

Jego aktywną formą jest kompleks ATP z jonami Mg^{2+} lub Mn^{2+}

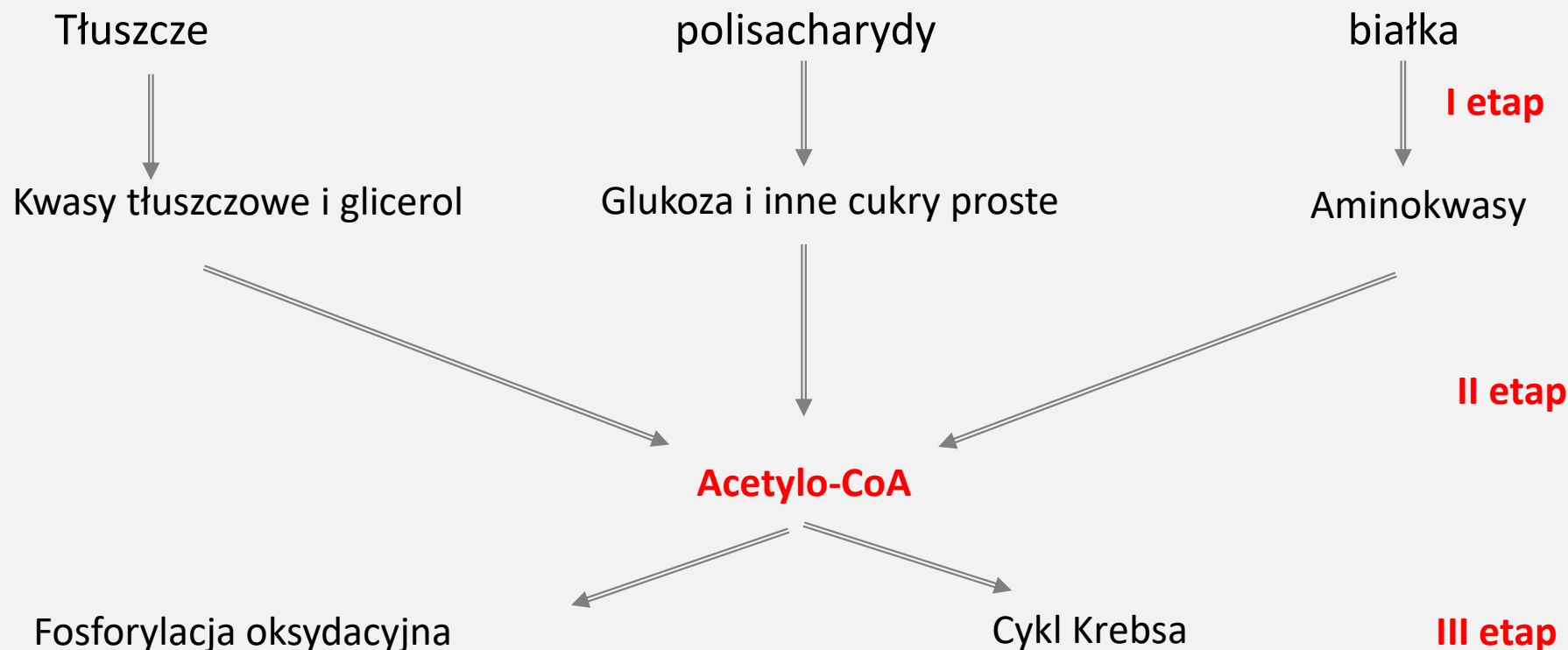
ATP – cząsteczka bogata w energię dzięki obecności jednostki trójfosforanowej zawierającej dwa wiązania fosforanowe

Energia uwalniana jest w trakcie hydrolizy ATP do ADP i ortofosforanu (P_i) lub do AMP i pirofosforanu (PP_i)



Pozyskiwanie ATP

Hans Krebs – opisał 3 etapy wytwarzania energii przez utlenianie pożywienia:



Pozyskiwanie cząsteczek ATP

- I etap
 - brak pozyskiwania energii w reakcji rozpadu związków złożonych
- II etap
 - niewielka ilość powstałej energii w postaci cząsteczek ATP
- III etap
 - cykl kwasu cytrynowego i fosforylacja oksydacyjna - wspólny szlak końcowego utleniania cząsteczek pochodzących od różnych substratów energetycznych, największe pozyskanie energii

Pozyskiwanie cząsteczek ATP

- Spalanie węglowodanów
- Spalanie kwasów tłuszczowych
- Spalanie białek

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

Regulacja procesów metabolicznych:

- Ilość aktywnych enzymów
- Katalityczna aktywność enzymów
- Dostępność substratów

AMINOKWASY DZIELIMY NA:

- **Aromatyczne:** tyrozyna, fenyloalanina, tryptofan
- **ROZGAŁĘZIONE: WALINA, IZOLEUCYNA, LEUCYNA**
- **Siarkowe:** metionina, homocysteina, cystyna, cystationina,
- **Ketogenne:** lizyna, leucyna
- **Kwasowe:** glutaminian, asparaginian
- **Neurotransmitterowe:** glicyna, tauryna, glutaminian
- **Cyклу moczniowego:** glutaminian, arginina, citrulina, ornityna

Aminokwasy rozgałęzione

- **Leucyna, Isoleucyna i Walina** - aminokwasy niezbędne do syntezy białek oraz innych procesów metabolicznych zachodzących w komórce.
- są głównymi donorami azotu oraz odpowiadają za międzykomórkowy transport azotu.
- Leucyna – ważny aminokwas odżywczy, razem z lizyną jest aminokwasem ketogennym.
- Są dobrym markerem biochemicznym ilości spożywanego białka – szybko reagują na niedobór białka w diecie

Aminokwasy rozgałęzione

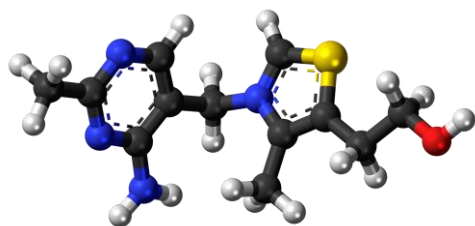
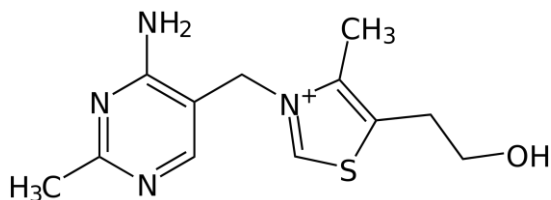
Katabolizm aminokwasów rozgałęzionych jest odpowiedzialny za szereg procesów biochemicznych zachodzących w komórce:

- odwracalna transaminacja Leu, Ile i Val do odpowiednich α -ketokwasów o rozgałęzionym łańcuchu (BCKA): α -ketoizokapronian, α -keto- β -metylowalerianian i α -ketoizowalerian (odpowiednio KIC, KMV i KIV) oraz do syntezy Glutaminianu.
- dekarboksylacja oksydacyjna BCKA do ich odpowiednich pochodnych acylowych CoA o rozgałęzionym łańcuchu.
- Dekarboksylacja oksydacyjna BCKA podlega silnej regulacji, ponieważ szkielet węglowy tych AA nieodwracalnie oddaje azot do Glutaminianu.

Aminokwasy rozgałęzione a OUN

- OUN wymaga równowagi AA i azotu a zwiększone stężenie może prowadzić do uszkodzenia OUN i wystąpienia objawów neurologicznych.
- Podwyższone stężenie azotu w postaci amoniaku lub brak równowagi pomiędzy poszczególnymi aminokwasowymi neuroprzekaźnikami w OUN, może powodować zaburzenia neurologiczne i nieodwracalne uszkodzenie mózgu.
- Trwałe pozbawienie AA jako głównego źródła azotu może pozbawić mózg niezbędnych AA do syntezy białka, glutaminianu, głównego pobudzającego neuroprzekaźnika, który służy jako prekursor hamującego neuroprzekaźnika - kwasu γ -aminomasłowego (GABA).

Tiamina – kofaktor w przemianach aminokwasów rozgałęzionych



Witamina niezbędna do prawidłowych procesów metabolicznych komórki.

Wspomaga prawidłowe funkcje układu nerwowego, układu krążenia i mięśni:

- uczestniczy w oddychaniu komórkowym, odpowiada pośrednio za syntezę ATP
- odpowiada za syntezę nukleotydów oraz związków odpowiedzialnych za syntezę kwasów tłuszczowych
- posiada właściwości przeciwutleniające
- jest prekursorem FAD
- uczestniczy w przekazywaniu impulsów elektrycznych, ma pośredni wpływ na działanie neuroprzekaźników w ośrodkowym układzie nerwowym



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

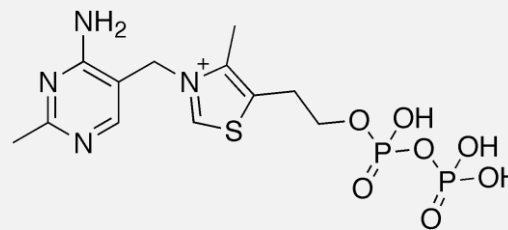
Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Tiamina

- rozpuszczalna w wodzie witamina z grupy B (B1)
- witamina działająca w mitochondriach jako kofaktor metabolizmu energetycznego oraz w cytoplazmie jako kofaktor szlaku biosyntezy pentozofosforanu;
- transport przez błonę wymaga obecności dwóch transporterów: THTR1 (kodowany przez SLC19A2) i THTR2 (kodowany przez SLC19A3);

- Jest przekształcana w aktywną formę, **PIROFOSFORAN TIAMINY (TPP)** przez kinazę kodowaną przez gen TPK1



- Do mitochondrium jest transportowana przez transporter TPP kodowany przez SLC25A19;

Kompleks dehydrogenazy aminokwasów rozgałęzionych BCKDH

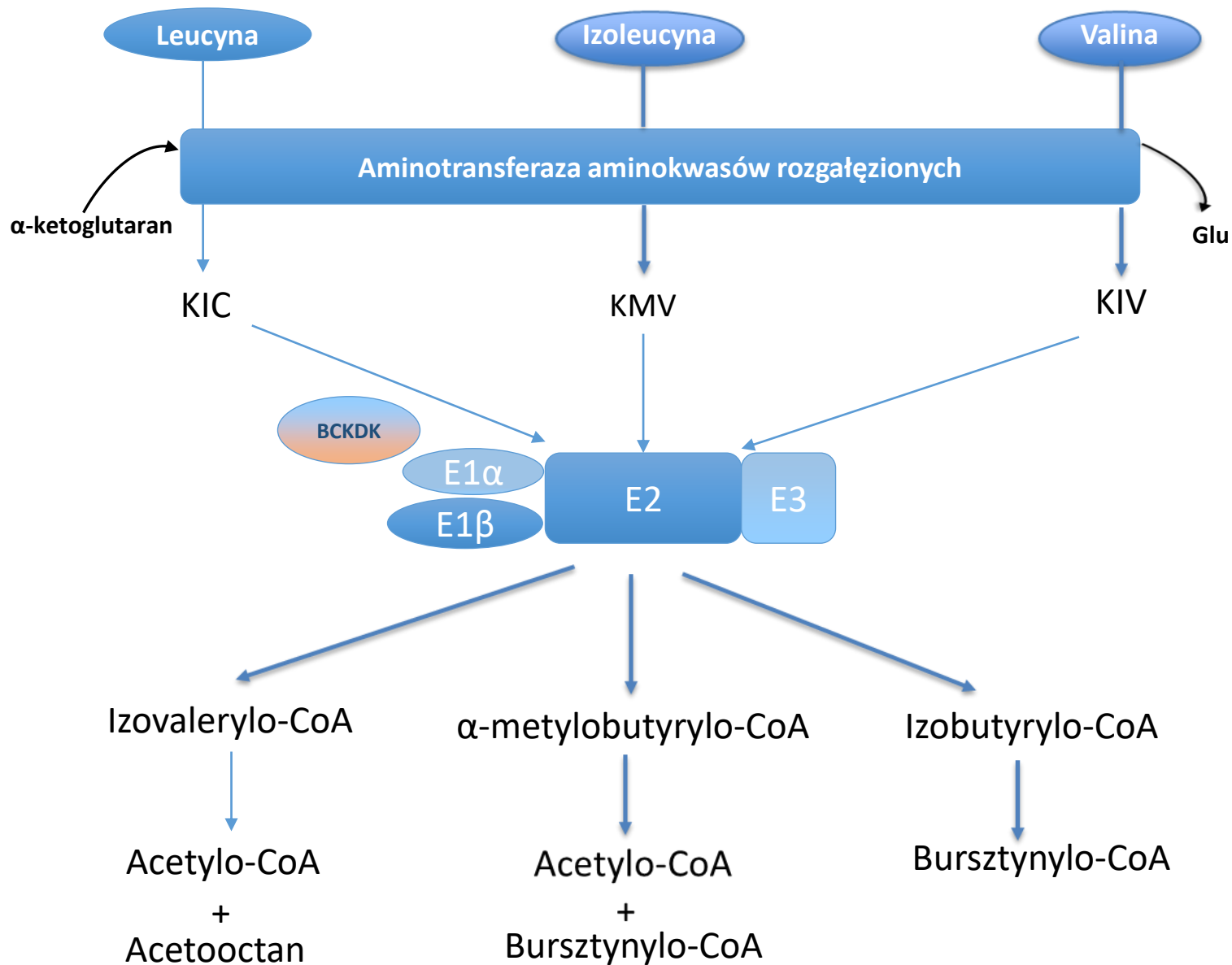
- jest strukturalnie podobny do kompleksu enzymatycznego dehydrogenazy pirogronianowej i kompleksu enzymatycznego dehydrogenazy α -keto-glutaranu.
- BCKDC składa się z trzech enzymów:
 - (1) Dekarboksylazy α -ketokwasów rozgałęzionych (E1);
 - (2) dihydrolipoilu transacylazy (E2);
 - (3) dehydrogenazy dihydrolipoilu (E3).

Ten ostatni, E3 jest wspólny dla wszystkich trzech kompleksów dehydrogenaz.

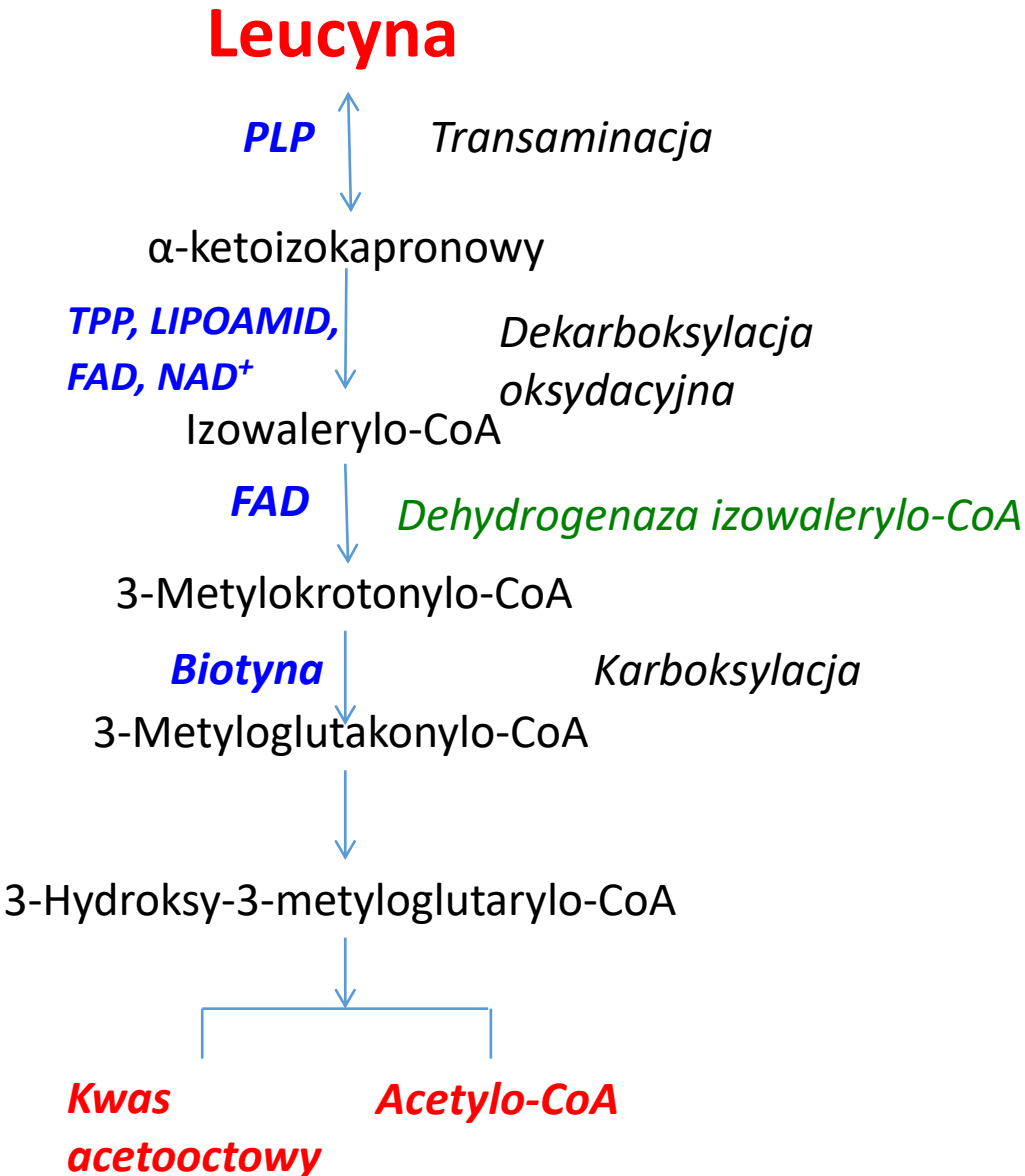
Kompleks dehydrogenazy aminokwasów rozgałęzionych BCKDH

Aktywność BCKDC jest kontrolowana poprzez stan fosforylacji podjednostki E1 (fosforylowana forma E3 sprawia, że kompleks staje się nieaktywny).

Metabolizm aminokwasów rozgałęzionych generuje pochodne acylo-CoA, które ulegają dalszym przemianom w celu wejścia do cyklu TCA lub służą jako prekursorzy lipogenezy i glukoneogenezy. Choroba syropu klonowego (MSUD) wynika z jednego lub więcej mutacji w białku funkcjonalnym BCKDC podjednostki E1 i E2.



Metabolism Leucyny



W podobny sposób jak leucyna ulegają rozpadowi walina i izoleucyna.

Blokowanie dekarboksylacji oksydacyjnej α -ketokwasów, przez uszkodzenie dekarboksylazy α -ketokwasów o rozgałęzionych łańcuchach prowadzi do powstania choroby MSUD.

Kompleks dehydrogenazy rozgałęzionych α -ketokwasów

- TPP zależny enzym BCKDH, zlokalizowany na wewnętrznej błonie mitochondrialnej, katalizuje jeden z etapów przemian aminokwasów rozgałęzionych (BCAA): leucyny, izoleucyny i waliny,
- homozygotyczna mutacja w podjednostce BCKDH E1 α powoduje tzw. chorobą syropu klonowego (MSUD), ze względu na wyraźny zapach syropu klonowego w moczu dzięki obecności w moczu alfa-keto-kwasów,
- Ciężka postać MSUD prowadzi do niepełnosprawności umysłowej,
- łagodna postać MSUD, zwana MSUD- tiamino wrażliwy, jest obecnie jedynym rozpoznanym wariantem, który można z powodzeniem leczyć suplementacją tiaminą.
- Fenotyp kliniczny zależy od: stopnia obniżenia aktywności enzymu, wieku wystąpienia pierwszych objawów, odpowiedź na leczenie witaminą B1

Choroba syropu klonowego może być wynikiem upośledzenia różnych składników kompleksu dekarboksylazy α -ketokwasów

Składnik kompleksu dehydrogenazy α -ketokwasów		MSUD
E1 α	Dekarboksylaza α -ketokwasów	Typ 1A
E1 β	Dekarboksylaza α -ketokwasów	Typ 1B
E2	Transacylaza dihydrolipoilowa	Typ II
E3	Dehydrogenaza dihydrolipoamidowa	Typ III

Wewnątrzkomórkowa lokalizacja enzymów zależnych od TPP

☐ Mitochondria

Większość cytozolowego TPP (ok.90%) jest transportowana do mitochondriów za pośrednictwem mitochondrialnego transportera TPP (MTPPT, produkt genu SLC25A19).

W mitochondriach TPP jest krytycznym kofaktorem dla trzech enzymów:

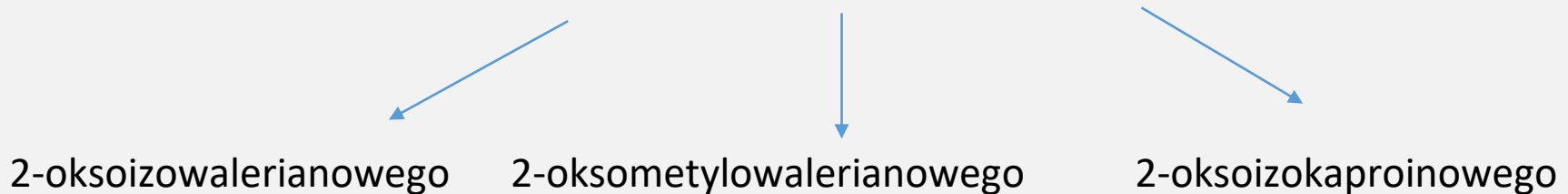
- dehydrogenazy pirogronianowa,
- dehydrogenazy α -ketoglutaranianu
- dehydrogenazy α -ketokwasów o rozgałęzionym łańcuchu

Odpowiednio PDH, α KGDH i BCKDH

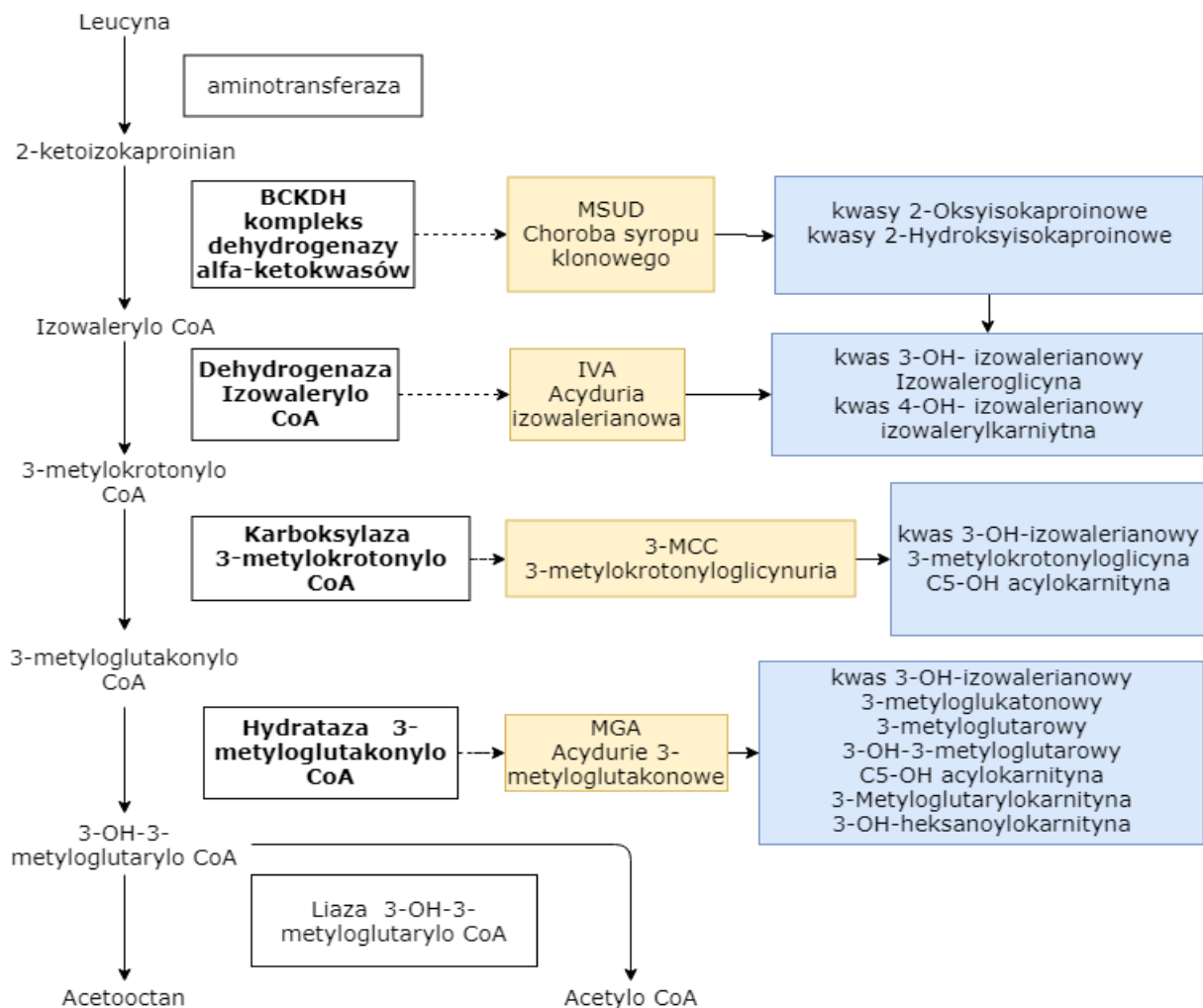
Kompleks dehydrogenazy rozgałęzionych α -ketokwasów

- Polega na blokowaniu dekarboksylacji oksydacyjnej α -ketokwasów powstałych z aminokwasów rozgałęzionych, przez brak lub obniżoną aktywność dehydrogenazy rozgałęzionych α -ketokwasów.
- Prowadzi to do istnego zwiększenia stężenia aminokwasów rozgałęzionych w osoczu, moczu.
- Diagnostyka opiera się badaniach przesiewowych noworodków, dzięki czemu jest wcześniej wykrywana i umożliwia wczesne wprowadzenie diety.

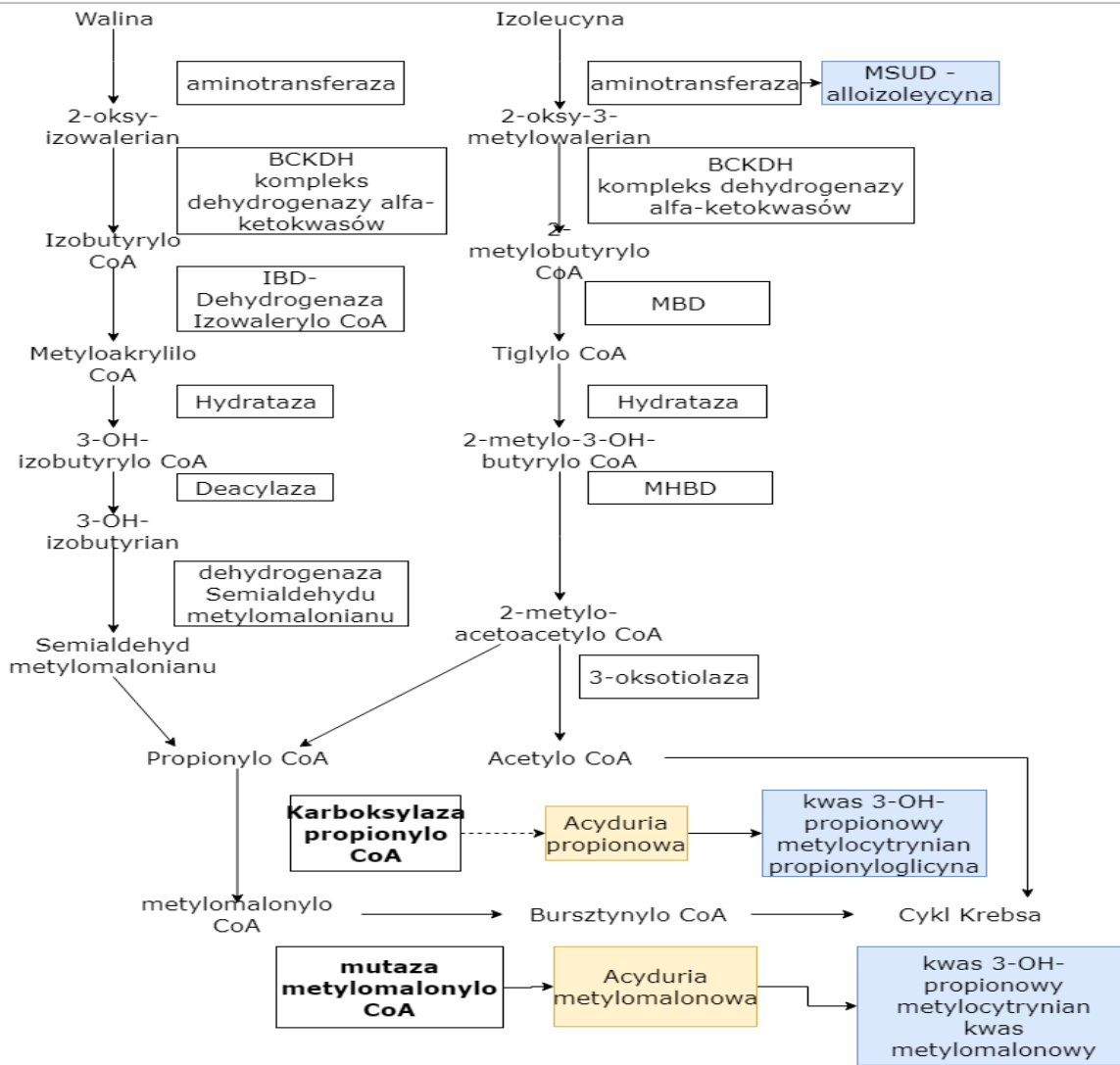
- Kompleks dehydrogenazy pirogronianowej pełni kluczową rolę w procesach bioenergetycznych przez regulację dopływu acetylo-CoA do cyklu Krebsa
- Kompleks dehydrogenazy alfa-ketoglutaranianu stanowi jedną z głównych ogniw regulatorowych cyklu Krebsa przez dostarczanie bursztynylo-CoA do fosforylacji GDP lub syntezy wielu aminokwasów
- Kompleks dehydrogenazy alfa-ketokwasów o rozgałęzionych łańcuchach są ogniwem ograniczającym rozpad waliny, izoleucyny i leucyny. Aminokwasy po transaminacji z udziałem 2-oksoglutaranu są przekształcane do glutaminianu i odpowiednich 2-oksokwasów:



Przemiany aminokwasów rozgałęzionych



Przemiany aminokwasów rozgałęzionych



Kwasica propionowa

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

Charakteryzująca się 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 propionilo-koenzymu A.

Kwasice organiczne na szlaku przemian aminokwasów rozgałęzionych

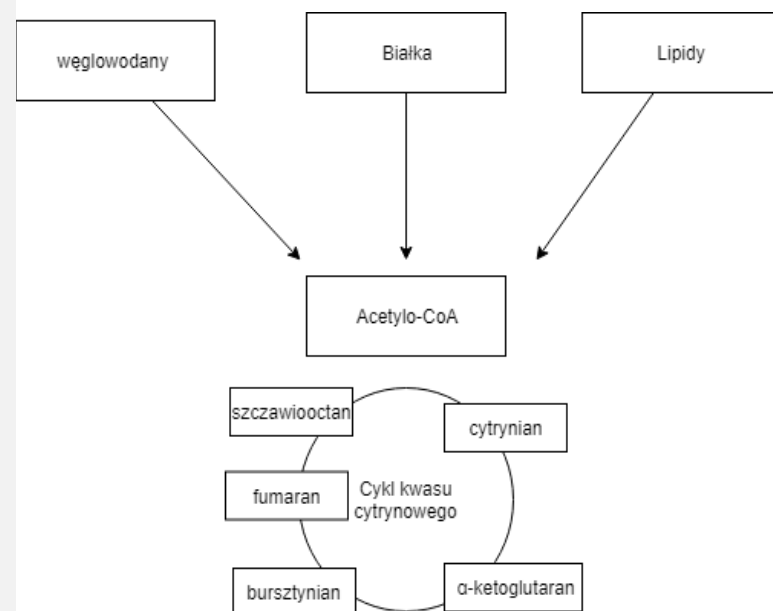
IVA - Kwasica izowalerianowa z grupy kwasic organicznych, spowodowana deficytem dehydrogenazy izowalerylo-koenzymu A,

3-MCCC – kwasica 3-metylokrotonyloglicynowa, spowodowana deficytem karboksylazy 3-metylokrotonylo-CoA

MGA I – kwasica 3-metyloglutakonowa, spowodowana zredukowaną aktywnością hydratazy 3-metyloglutakonylo-CoA

HMG-CoA – kwasica 3-hydroksy-3-metyloglutarowa acydemia, spowodowana deficytem liazy HMG-CoA – defekt na szlaku rozpadu leucyny, często objawiająca się niemowlęcą hipoketotyczną hipoglikemią, kwasicą metaboliczną i hiperamonemią (brak ciał ketonowych podczas dekompensacji)

- Nadmiar aminokwasów jest katabolizowany do amfibolicznych produktów pośrednich, wykorzystywanych jako źródło energii lub do syntezy węglowodanów i lipidów
- Aminokwasy tworzą peptydy i białka oraz są prekursorami różnych ważnych dla organizmów związków (m.in.: puryny i pirymidyny, histamina, adrenalina, noradrenalina, tyroksyna, serotonina, melanina i NAD^+ , glutation, tlenek azotu, porfiryny)
- Z aminokwasów mogą powstawać kwasy tłuszczowe, ciała ketonowe i glukoza
- Acetylo-CoA jest wspólnym produktem katabolizmu węglowodanów, białek i lipidów
- Cykl Krebsa jest elementem glukoneogenezy, transaminacji i deaminacji (dostarcza substratów do syntezy aminokwasów, kwasów tłuszczowych i glukoneogenezy)





DZIĘKUJĘ ZA UWAGĘ