

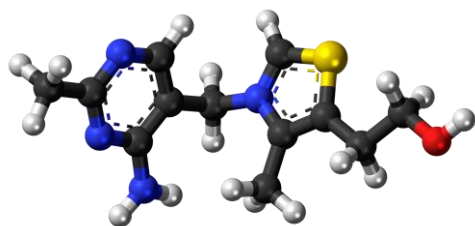
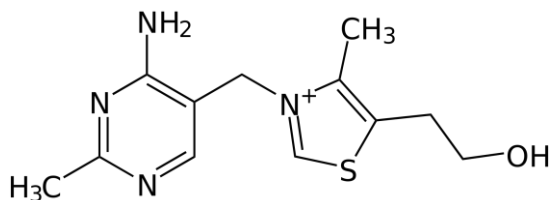
Tiamina (witamina B1) w przemianach węglowodanów, tłuszczów i białek

dr n.med. Katarzyna Kuśmierska

Zakład Badań Przesiewowych i Diagnostyki Metabolicznej

Instytut Matki i Dziecka

Tiamina



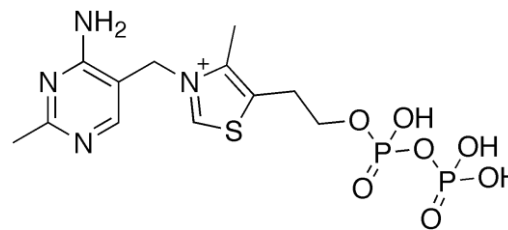
Witamina niezbędna do prawidłowych procesów metabolicznych komórki.

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

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



Tiamina

- zapotrzebowanie na tiaminę jest bezpośrednio związane zarówno z całkowitym spożyciem ilości kalorii, jak i z udziałem kalorii dostarczanych w postaci węglowodanów;
- zalecana dawka tiaminy dla przeciętnego zdrowego dorosłego to 1,4mg/d lub 0,5 mg tiaminy/1000 kcal.;
- witamina jest wchłaniana w jelicie cienkim w postaci wolnej tiaminy lub monofosforanu tiaminy. Jej transport do jelit jest ograniczony, ponieważ pojedyncza dawka doustnej tiaminy powyżej 6 mg nie może już zostać wchłonięta.
- Transport przez barierę krew-mózg odbywa się poprzez bierny i czynny mechanizm,
- szybka korekta niedoboru tiaminy w mózgu, odbywa się głównie poprzez bierną dyfuzję, jak to ma miejsce po pozajelitowym podaniu witaminy.

NIEDOBÓR TIAMINY

- Aktywna forma tiaminy, TPP jest grupą prostetyczną trzech ważnych enzymów:
 - dehydrogenazy pirogronianowej
 - dehydrogenazy α -ketoglutaranowej,
 - transketolazy

Wspólną cechą reakcji enzymatycznych zachodzących z udziałem TPP jest przenoszenie aktywowanych jednostek aldehydowych.

Choroba beri-beri jest spowodowana niską aktywnością kompleksów enzymatycznych dehydrogenazy pirogronianowej i α -ketoglutaranowej, a niska aktywność transketolazy w erytrocytach jest dobrym narzędziem diagnostycznym, podobnie jak podwyższone stężenia pirogronianu i α -ketoglutaranu we krwi i w moczu.

Tiamina

- tiamina i pochodne tiaminy występują w organizmie w różnych ilościach:
 - TPP 80 -90%
 - wolna tiamina i monofosforan tiaminy 5 – 15%
- trzy pozostałe pochodne to:
 - trifosforan tiaminy
 - trifosforan adenozynotiaminy
 - difosforan adenozynotiaminy.

Są to drugorzędne składniki stanowiące mniej niż 1% całkowitej tiaminy w normalnych warunkach fizjologicznych, ale wydaje się, że częściej odgrywają określone role jako przekaźniki wewnątrzkomórkowe lub regulatory metabolizmu.



Tiamina

- po dostaniu się do komórki, jest pirofosforylowana w cytozolu przez pyrofosfokinazę tiaminową (TPK), tworząc enzymatycznie aktywny TPP.
- TPP jest wiązany z cytozolowym enzymem transketolazą zależną od tiaminy z cyklu pentozofosforanowego – transketolaza przenosi fragmenty dwu węglowe z jednego cukru na drugi,
- TPP jest transportowany do mitochondriów za pomocą mitochondrialnego nośnika pirofosforanu tiaminy kodowanego przez SLC25A19.

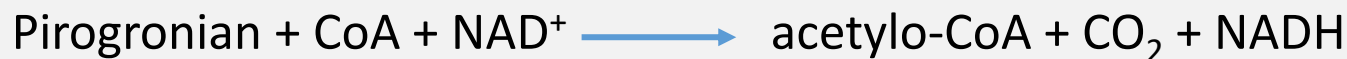


Kompleks dehydrogenazy pirogronianowej

- zespół trzech rodzajów enzymów:

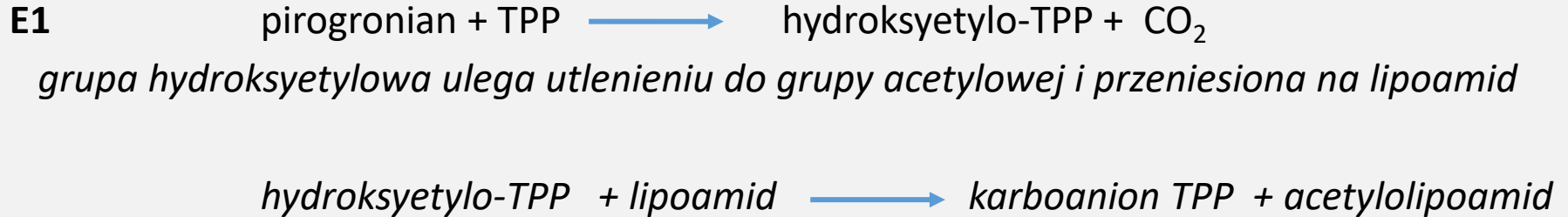
Enzym	Symbol	Liczba łańcuchów	Grupa prostetyczna	Katalizowana reakcja
Składnik o aktywności dehydrogenazy pirogronianowej	E1	24	TPP	Oksydacyjna dekarboksylacja pirogronianu
Acetylotransferaza dihydroliponianowa	E2	24	lipoamid	Przeniesienie grupy acetylowej na CoA
Dehydrogenaza dihydroliponianowa	E3	12	FAD	Regeneracja utlenionej formy lipoamidu

Sumaryczny przebieg procesu:



Kompleks dehydrogenazy pirogronianowej

dehydrogenaza pirogronianowa



acetylotransferaza dihydriliponianowa



dehydrogenaza kwasu liponowego



Rdzeniem wszystkich trzech kompleksów jest składnik E2 występujący w kompleksie dehydrogenazy pirogronianowej

I etap:

- reakcja oksydacyjnej dekarboksylacji odpowiedniego substratu (alfa-ketokwasu) z udziałem pirofosforanu tiaminy związanej z podjednostką E1 i uwolnieniem CO₂

II etap:

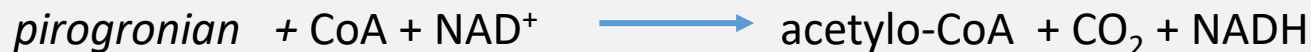
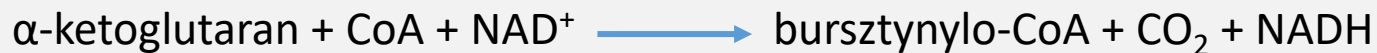
- Substrat, którego łańcuch jest o jeden atom węgla krótszy przenoszony jest na lipoamid związany z podjednostką E2 kompleksu, co prowadzi do powstania acetylo-CoA i zredukowanego lipoamidu.

III etap:

- Ostatni etap (podjednostka E3) - odtworzenia utlenionej postaci lipoamidu z udziałem FAD jako akceptora e⁻ i redukcji NAD⁺

Kompleks dehydrogenazy α -ketoglutaranowej

Oksydacyjna dekarboksylacja



Kompleks dehydrogenazy α -ketoglutaranowej składa się z trzech rodzajów enzymów:

- dehydrogenazy α -ketoglutaranowej (E1')
- bursztynylotransferazy (E2')
- dehydrogenazy amidu kwasu liponowego (E3')

Rdzeniem tego kompleksu jest podjednostka (E2')

„Kompleksy dehydrogenazy pirogronianowej i dehydrogenazy α -ketoglutaranowej tworzą homologiczne zespoły wieloenzymatyczne”



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

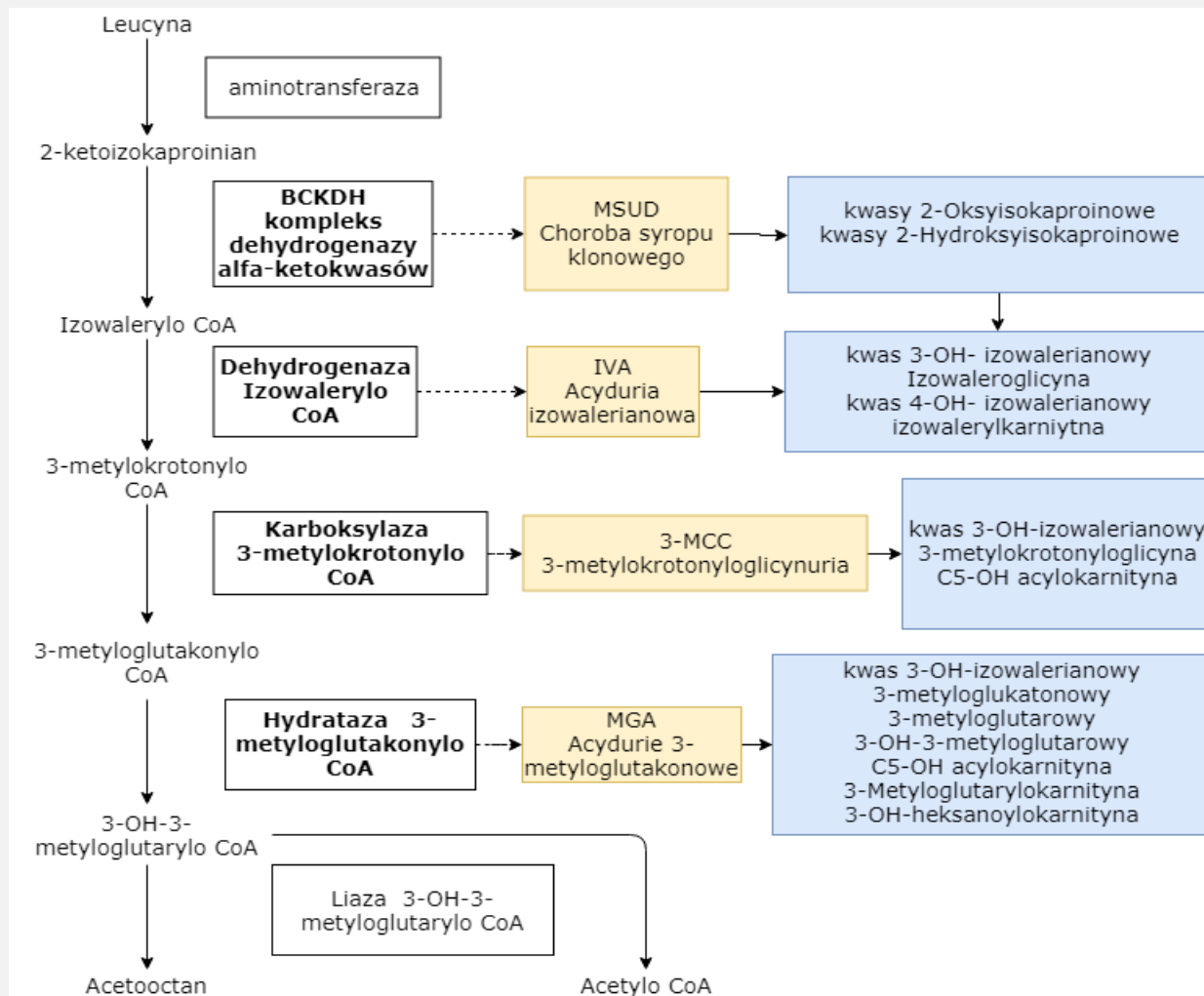
Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



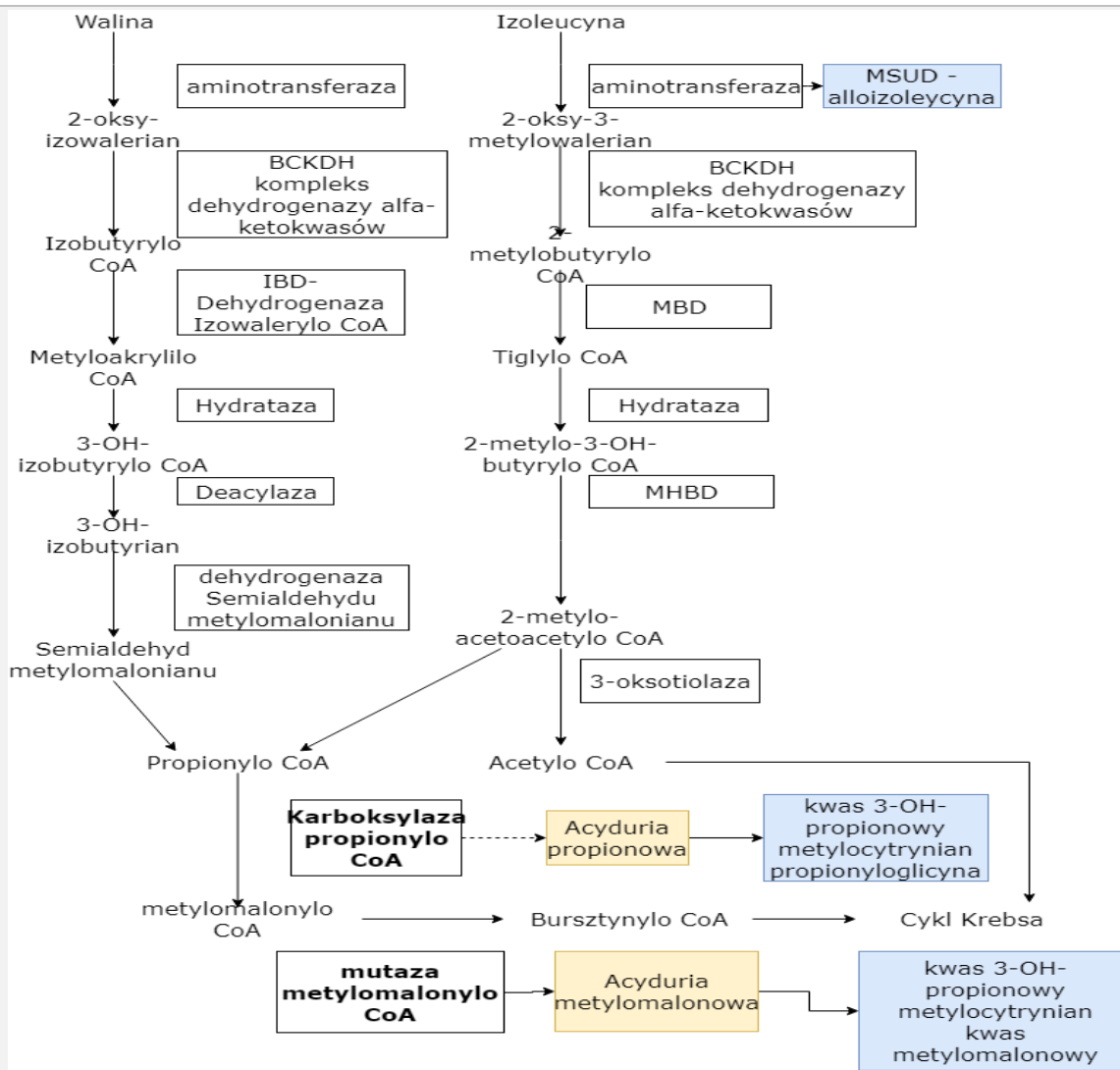
Kompleks dehydrogenazy rozgałęzionych α -ketokwasów

- jest kompleksem enzymów podobnie jak homologiczne dehydrogenazy pirogronianowa i α -ketoglutaranowa.
- składnik E3 tych enzymów, który regeneruje utlenioną formę lipoamidu jest identyczny.
- Substratami dla enzymu są cząsteczki rozgałęzionych α -ketokwasów, powstałych z aminokwasów rozgałęzionych: waliny, izoleucyny i leucyny.
- W degradacji leucyny do acetylo-CoA i acetoctanu uczestniczy 7 koenzymów:
 - PLP podczas transaminacji
 - TPP
 - lipoamid
 - FAD
 - NAD⁺ } Dekarboksylacja oksydacyjna
 - FAD w reakcji odwodorowania
 - biotyna w reakcji karboksylacji

Kompleks dehydrogenazy rozgałęzionych α -ketokwasów



Kompleks dehydrogenazy rozgałęzionych α -ketokwasów



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita Polska



Instytut Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



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,
- aminokwasy rozgałęzione są potrzebne do syntezy białek,
- 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-kwasom,
- 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 dekarboksylazy 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

☐ Cytozol

- TPP jest kofaktorem dla transketolazy (TKT), kluczowego enzymu na szlaku pentozofosforanowego (PPP);
- produktami są : NADPH i R5P (rybozo-5-fosforan);
- NADPH uczestniczy w syntezie kwasów tłuszczowych i glutationu w reakcji z peroksydazą glutationu;
- R5P odgrywa kluczową rolę w syntezie DNA i RNA.

Niedobór tiaminy przyczynia się do:

- nasilenia stresu oksydacyjnego,
- zmniejszenia proliferacji komórek,
- zmniejsza zdolność do syntezy kwasów tłuszczowych (w tym mieliny), co ma istotny wpływ na rozwój OUN.

Niedobór tiaminy zmniejsza aktywność TKT, co prowadzi do upośledzenia PPP i zmniejszenia neurogenezy podczas rozwoju neurologicznego.

Wewnątrzkomórkowa lokalizacja enzymów zależnych od TPP

☐ Mitochondria

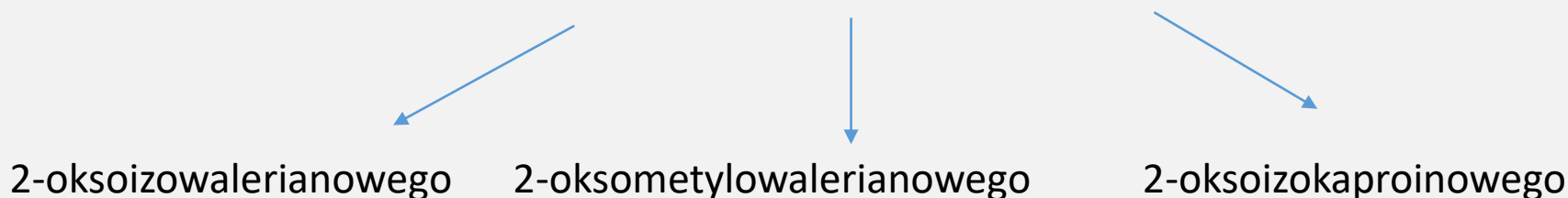
Większość cytozolowego TPP (ok.90%) jest transportowana do mitochondriów za pośrednictwem mitochondrialnego transportera TPP (MTPPT, produkt genu SLC25A19).

W mitochondriach TPP jest krytycznym kofaktorem dla trzech enzymów:

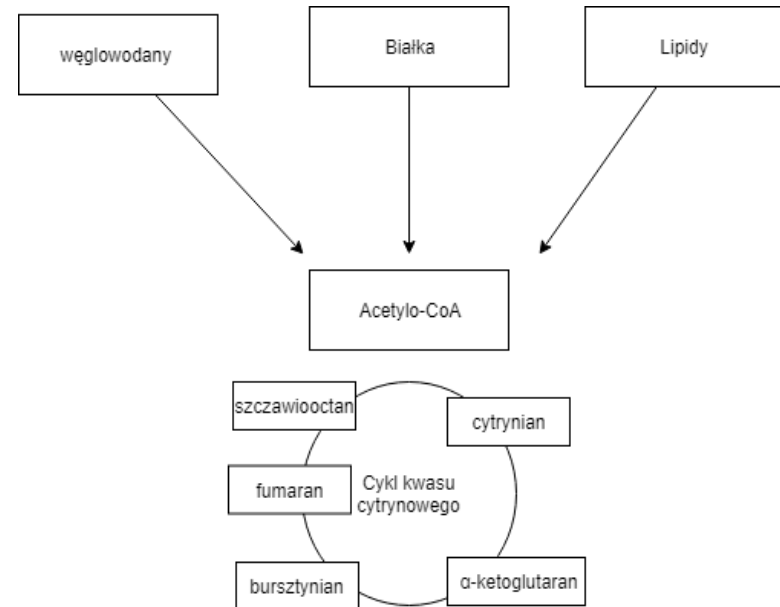
- dehydrogenazy pirogronianowa,
- dehydrogenazy α -ketoglutaranianu
- dehydrogenazy α -ketokwasów o rozgałęzionym łańcuchu

Odpowiednio PDH, α KGDH i BCKDH

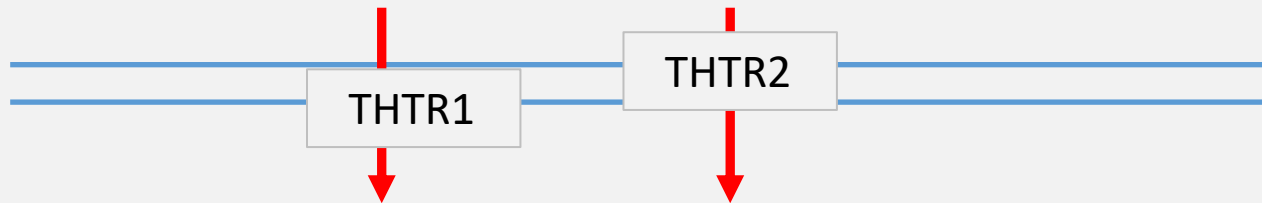
- Kompleks dehydrogenazy pirogronianowej pełni kluczową rolę w procesach bioenergetycznych przez regulację dopływu acetylo-CoA do cyklu Krebsa
- Kompleks dehydrogenazy alfa-ketoglutaranianu stanowi jedną z głównych ogniw regulatorowych cyklu Krebsa przez dostarczanie bursztynylo-CoA do fosforylacji GDP 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:



- 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 cytrynowy jest elementem glukoneogenezy, transaminacji i deaminacji (dostarcza substratów do syntezy aminokwasów, kwasów tłuszczowych i glukoneogenezy)

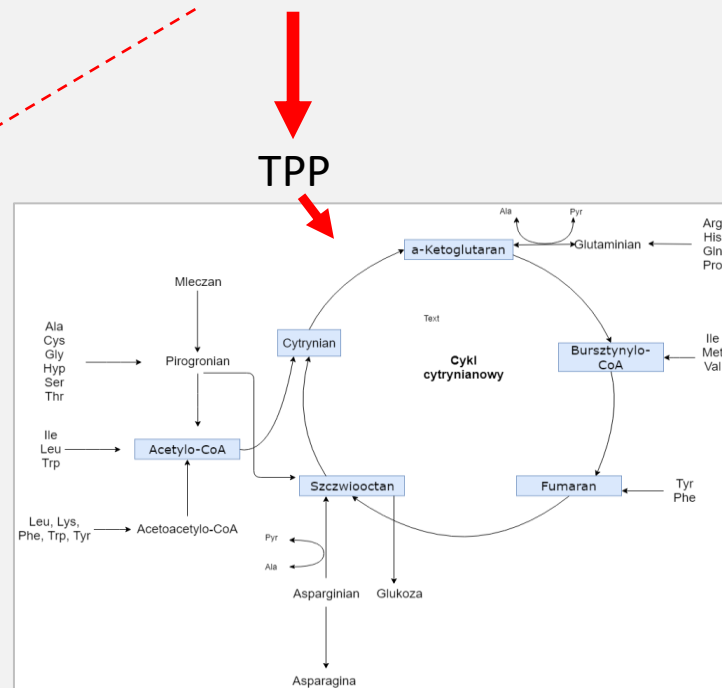
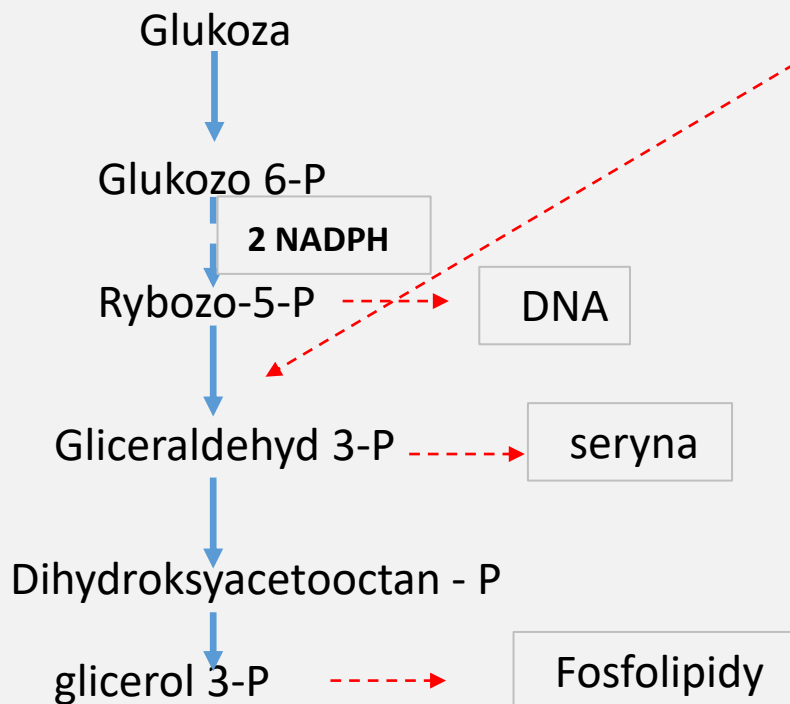


Monofosforan tiaminy (TMP)



Tiamina $\longrightarrow$ pirofosforan tiaminy TPP

Nadmiar Rybozo-5-P jest przekształcany w intermedyaty glikolizy



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita Polska



Instytut
Matki i Dziecka

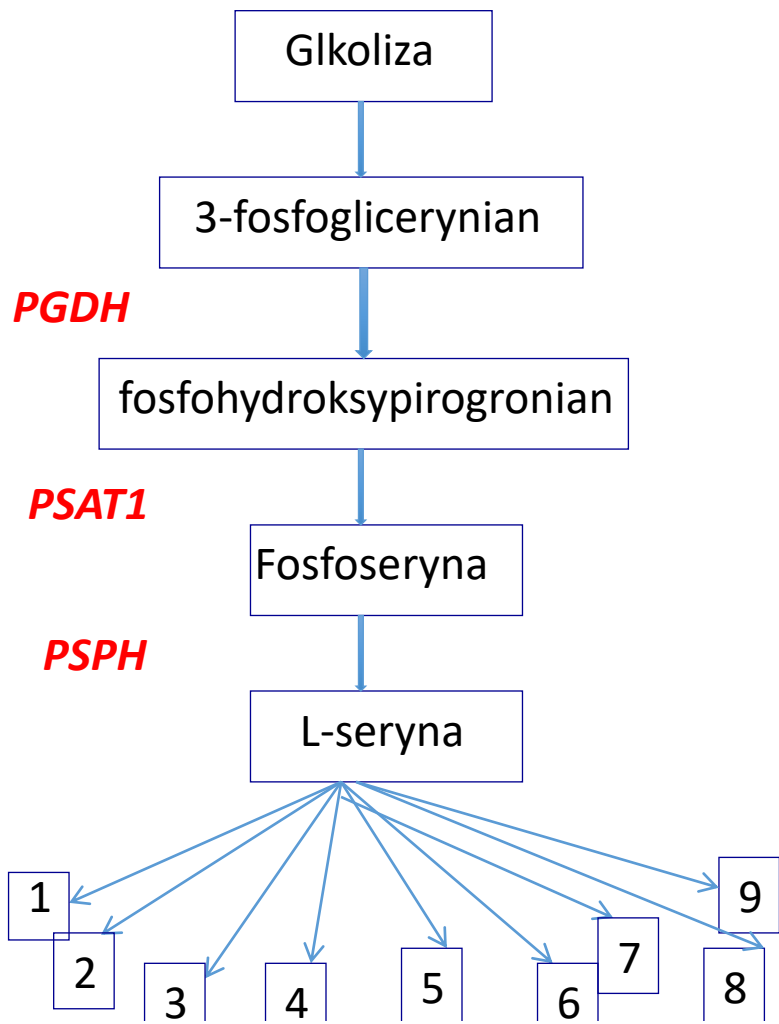
Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Metabolizm seryny – ściśle powiązany z metabolizmem glukozy

Trzy etapy biosyntezy seryny:

- 1. Dehydrogenaza
3-fosfoglicerynowa
- 2. Aminotransferaza
fosfoseryny
- 3. Fosfataza
3-fosfoseryny



- 1.glicyna
- 2.D-seryna
- 3.cysteina
- 4.sfingomieliny
- 5.fosfolipidy
- 6.puryny
- 7.tymidyna
- 8.5-MTHF
- 9.białka

Transketolaza

- Zawiera silnie związany TPP będący jej grupą prostetyczną
- Mechanizm katalityczny transketolazy jest podobny do mechanizmu dehydrogenazy pirogronianowej i polega na przeniesieniu aktywowanego aldehydu na akceptor, którym jest aldoza, a w przypadku dehydrogenazy – lipoamid.
- W obydwu reakcjach miejscem przyłączania substratu ketonowego jest pierścień tiazolowy grupy prostetycznej TPP, którego C2 ma charakter kwasowy i łatwo jonizuje tworząc karboanion.
- Karboanion łatwo ulega addycji ketoz (np. ksylulozo-5-P, fruktozo-6-P)

Transport tiaminy

Są dwa transportery tiaminy kodowane przez SLC19A2 i SLC19A3

SLC19A2 – koduje białko 1 transportujące tiaminę – hTHTR1

SLC19A3 – koduje białko 2 transportujące tiaminę – Hthtr2

Mutacja w genie SLC19A2 jest odpowiedzialna za tiamino-zależną megaloblastyczną anemię, która najczęściej pojawia się między okresem niemowlęcym a wczesnodziecięcym.

Diagnostyka opiera się na wykluczeniu niedoborów witaminy B12/kwasu foliowego. Zróżnicowany fenotyp kliniczny: postępujące upośledzenie słuchu, zanik nerwu wzrokowego, zaburzenia układu krążenia.