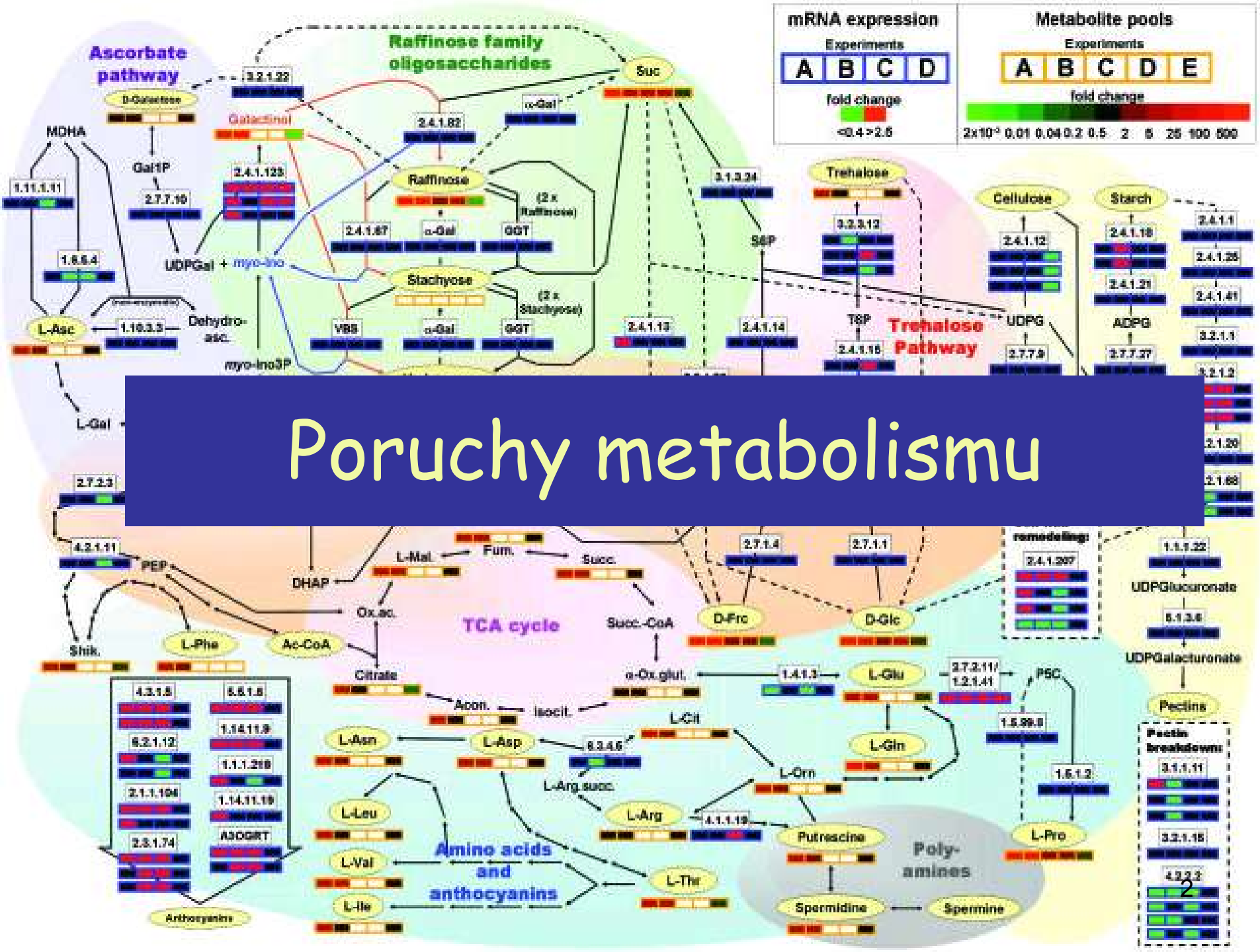


Veterinární a farmaceutická univerzita Brno
Farmaceutická fakulta

Poruchy metabolismu aminokyselin

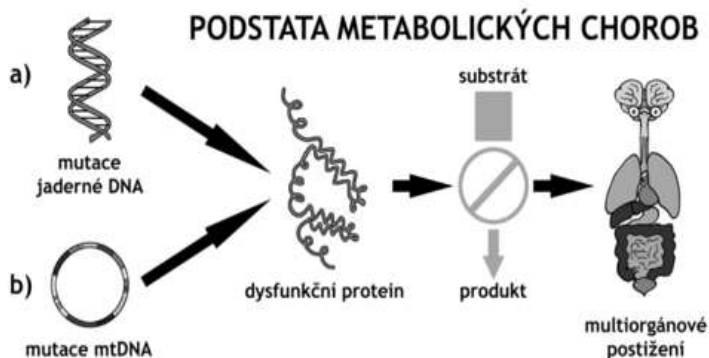
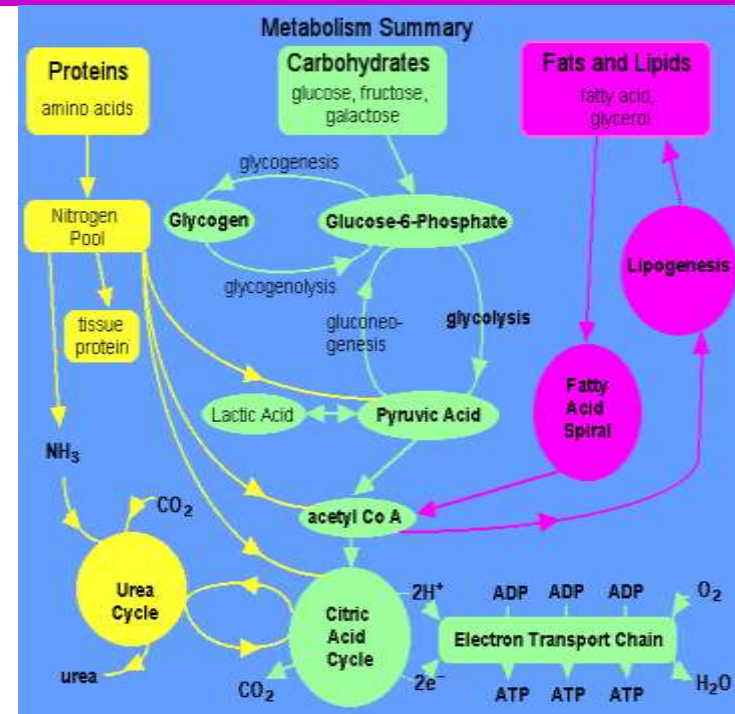


Poruchy metabolismu

- metabolické změny bílkovin, cukrů, tuků a hospodaření s vodou (většinou mentální nebo fyzické postižení)
- 7000 popsaných metabolických poruch (7% celkové populace)
- **dědičnost** - geneticky podmíněný enzymový defekt způsobuje metabolický blok s patologickými následky

enzymopatie - nejčastěji je metabolická Porucha je způsobena enzymovým defektem - defektní enzym má sníženou enzymovou aktivitu nebo aktivita úplně chybí

- **primární** - genetický podklad
- **sekundární** - následek jiných poruch



Typy metabolických poruch

- **Enzymopatie** - celkem popsáno více jak 200 poruch funkce enzymů - fenylketonurie
akumulace - prostorový problém (glykogenózy, lipidózy), toxicita zvýšeného (cysteinurie, dna)
přeměna na jiný škodlivý metabolit, tlumí metabolismus jiného enzymu, přenašeče, nedostatek produktu
- **Receptory a jejich poruchy** - porucha funkce receptorů - familiární hyperlipidemie
(hypercholesterolémie)
- **Poruchy molekulárního transportu** - cystická fibróza
- **Defekt struktury buněk** - muskulární dystrofie
- **Regulace diferenciacce pohlaví** - gen SRY TEST
- **Mitochondriální choroby** - Leherova atrofie optiku
- **Geny s dosud neznámým mechanismem působení** - syndrom fragilního X (tripletová nemoc,
pruh Xq27.3 – **FRAXA, CCG / CGG**)
- **Chybné endokrinní regulace** - diabetes mellitus

typ defektu	příklady postižení
defekt enzymů	PKU, galaktosémie, deficiencie adenosindeaminasy
defekt receptorů	testikulární feminizace, hypercholesterolémie
defekt molekulárního transportu	cystická fibróza, hypertenze
defekt struktury buněk	Duchenneova a Beckerova muskulární dystrofie
defekt homeostázy	antihemofilický globulin, imunoglobuliny
defekt regulace růstu a diferenciacce	determinace pohlaví, inaktivace X chromozomu, tumor supresory
defekt mezibuněčné komunikace	inzulín, růstový hormon, diferenciacce pohlaví
defekt mitochondrií	Leberova atrofie optiku

Enzymopatie - celkem popsáno více jak 200 poruch funkce enzymů -

- **fenylketonurie**, akumulace - prostorový problém (glykogenózy, lipidózy), toxicita zvýšeného (cysteinurie, dna)
přeměna na jiný škodlivý metabolit, tlumí metabolismus jiného enzymu, přenašeče, nedostatek produktu



PKU- 3. den života

PKU- 12.měsíc života

http://www.mohb.mprnl.cz/mohb/03ku_04.htm

Receptory a jejich poruchy - porucha funkce receptorů

- **familiární hyperlipidemie** (hypercholesterolemie)

autozomálně dominantní onemocnění, jehož příčinou je genetická porucha v tvorbě nebo funkci LDL receptorů. U homozygotů je katabolismus LDL pomocí

LDL receptorů prakticky nefunkční, u heterozygotů je kapacita LDL receptorů

snížena na polovinu. V důsledku toho se v krvi hromadí aterogenní LDL částice.

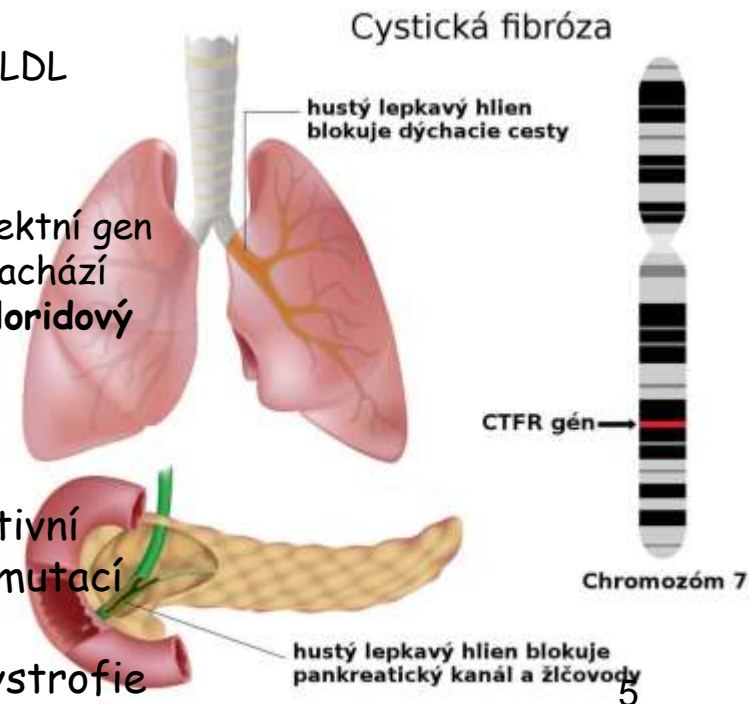


Poruchy molekulárního transportu - **cystická fibróza**

Jedná se o **autozomálně recesivně** (AR) dědičné onemocnění. Defektní gen CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) se nachází na dlouhém raménku 7. chromosomu (7q31.2). Tento gen kóduje **chloridový kanál**. Je známo asi 2015[2] mutací tohoto genu (v 68 % je mutace $\Delta F508$).

Defekt struktury buněk - **muskulární dystrofie**

vrozené dědičné onemocnění charakterizované ztrátou aktivní svalové hmoty. Jedná se o **X-vázanou recesivní chorobu**, mutací genu, který má na starost tvorbu specifické strukturální bílkoviny sarkolemy, která se nazývá **dystrofin**. Svalové dystrofie s její abnormalitou se nazývají dystrofinopatie



Regulace diferenciacce pohlaví - gen SRY

Z hlediska karyotypu je mužské pohlaví podmíněno přítomností chromozomu Y - rozhodující roli však hraje právě gen SRY. Kóduje specifický transkripční faktor, který stojí na počátku kaskády, determinující rozvoj mužského pohlaví. Mutace tohoto genu způsobují rozvoj ženského fenotypu (žena 46,XY), který je spojený s gonadální dysgenezí.

Jelikož se region SRY nachází v blízkosti PAR, tak při nerovnoměrném crossing-overu může dojít k translokaci regionu SRY na chromozom X. V takovém případě je možné, že vzniklé spermie oplodní vajíčko za vzniku tzv. XY-žen (46,XY, na Y se nenachází region SRY a jejich chromozom X je normální) nebo XX-mužů (46,XX, SRY je translokován na paternálním chromozomu X, takto postižení muži jsou obvykle postiženi poruchami reprodukce, jelikož nedošlo k přesunu dalších genů, důležitých pro spermatogenezi).

Mitochondriální choroby - Leberova atrofie optiku

X-vázané ataxie -Leberova atrofie optiku (mitochondriální onemocnění porucha zraku). maternálně dědičné onemocnění projevující se rychlou, nebolestivou ztrátou zraku v důsledku poruchy funkce a odumírání retinálních gangliových buněk, což v konečném důsledku vede k atrofii zrakového nervu. Více než 95 % pacientů nese jednu ze tří prevalentních bodových mutací v genech mitochondriální DNA: m.11778G>A, m.3460G>A a m.14484T>C. Všechny tři mutace zasahují některou z podjednotek komplexu I, NADH-koenzym Q₁₀ oxidoreduktázy, prvního enzymu z mitochondriálního respiračního řetězce. Přítomnost mutace je nezbytný, ale nikoliv postačující patofyziologický prvek postižení zrakových funkcí, jak je patrné z neúplné penetrance onemocnění. Zcela nedávno bylo prokázáno, že včasné zahájení terapie idebenonem u pacientů po manifestaci LHON vede k významnému zlepšení výsledných zrakových funkcí, a další možnosti terapie jsou ve fázi klinických zkoušek.

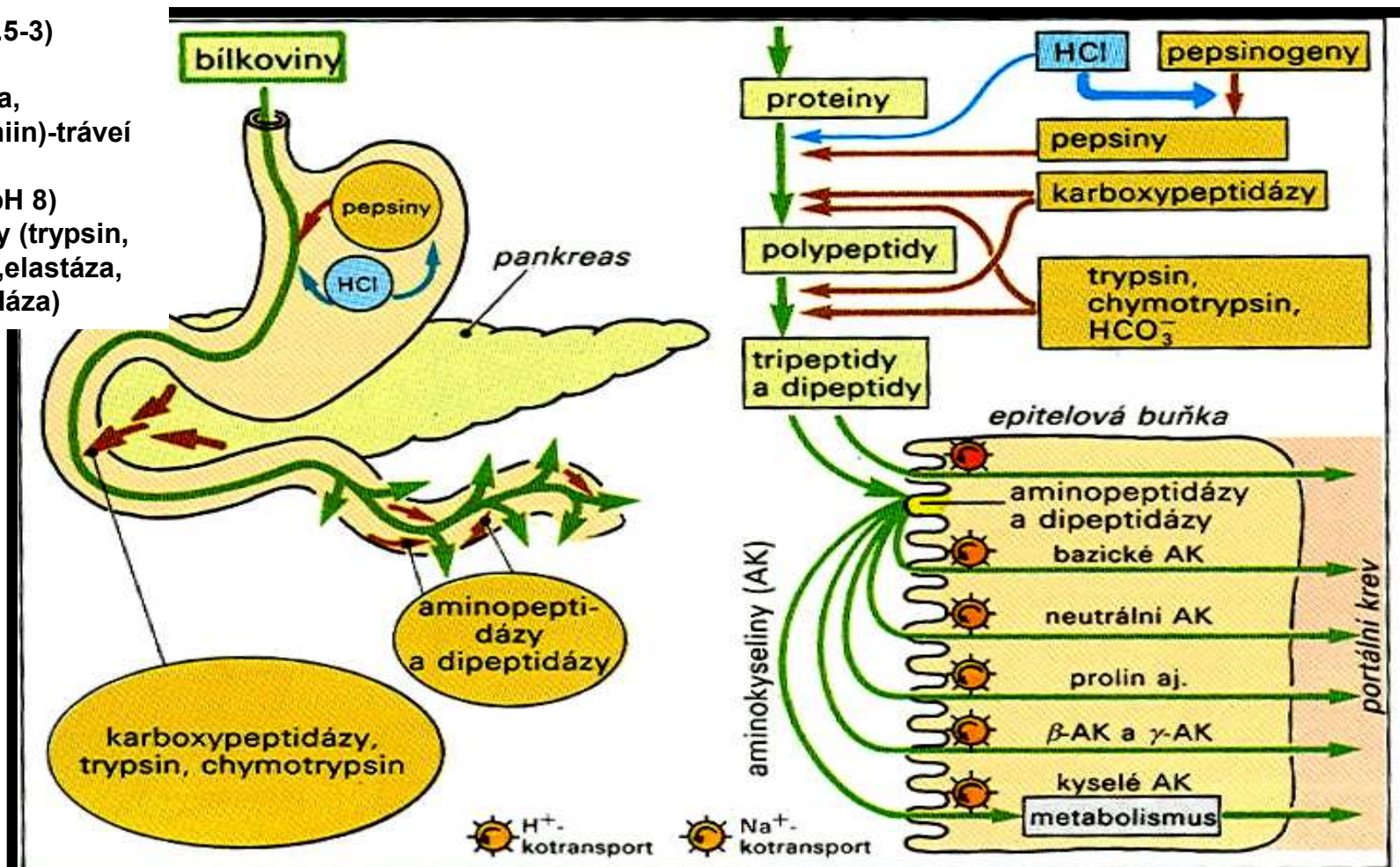
- **Geny s dosud neznámým mechanismem působení - syndrom fragilního X (tripletová nemoc, pruh Xq27.3 - FRAXA, CCG / CGG)**
- dle specifické chromozomální abnormality - fragility v subterminální části dlouhých ramen X chromozomu (pruh Xq27.3 - FRAXA), která se vyskytuje v části buněk za speciálních kultivačních podmínek (malý obsah séra, snížený obsah kyseliny listové v médiu). U postižených mentálně retardovaných mužů se v promotoru genu FMR1, který v této oblasti X chromozomu leží, vyskytuje amplifikace (zmnožení) sekvencí trinukleotidů CCG / CGG. Tato mutace vzniká z tzv. premutace vyskytující se u matek postižených mužů, které mají tuto amplifikaci v menším rozsahu (50-200 kopií). I normální osoby mají určité opakování této sekvence, ale v daleko menší míře než osoby s premutací (6-50 kopií). Přeměna nestabilní premutace v plnou mutaci (tj. zvětšení délky amplifikátu na více než 200 kopií) nastává pouze při přenosu ženou, při průchodu elementu spermiogenezí k prodloužení nedochází.
- **Friedreichova ataxie**
- Jedná se o nejběžnější hereditární ataxii. Podkladem tohoto autosomálně recesivně dědičného onemocnění je intronová expanze GAA repeatů genu X25 na 9. chromozomu. Mutace genu způsobuje poškození funkce frataxinu a následný mitochondriální oxidativní stres. Patří k onemocněním neurodegenerativním.
- **Chybné endokrinní regulace - diabetes mellitus**

Metabolismus AK a proteinů

- **proteiny z AK spojených peptidovou vazbou (CO-NH) struktura:**
- - primární - 20 AK, - sekundární - vodíkové a disulfidové vazby - globulin, β -sheet
- - terciární - konformace v prostoru, - kvarterní-asociace několika proteinových podjednotek
- **za fyziol. pH většinou negativní náboj**
- - pufry (schopnost vázat H⁺), **neustálá obnova a degradace bílkovin spojená s katabolizmem a syntézou AK**
- avšak proteiny se svým **poločasem** značně liší
- regulační proteiny, enzymy a transkripční faktory, zpravidla několik hodin
- - albumin 10 dní, -svalové proteiny ~180 dní, -hemoglobin ~120 dní
- - kolagen několik let
- - **obrat u 70 kg člověka cca 300-400g proteinů/den**
- - cca 30g/den za den se spotřebuje na substráty pro syntézu nukleotidů, glukózy, ketolátek a neurotransmiterů
- - cca 35 - 55g/den je oxidováno na vodu, CO₂ a dusík (nenávratně vyloučen jako urea) neexistuje zásobní forma proteinů
- - **AK "pool" je jen takový, jaká je bezprostřední potřeba**
- - zbytek oxidován a vyloučen
- **ztráty (a esenciální AK) musí být hrazeny dietním přívodem bílkovin**
- - esenciální: His, Val, Leu, Ile, Lys, Met, Thr, Phe, Trp
- - neesenciální AK mohou být vytvořeny zejm. z meziproduktů citrátového cyklu
- dusík uvolněný z AK je ve formě amoniaku a amonných solí toxický, proto je v játrech₈
- zpracován v **cyklu močoviny** na netoxickou močovinu, která je vyloučena močí

Přehled trávení bílkovin

1. Žaludek (1.5-3)
pepsinogen-
endopeptidasa,
chymozin (reniin)-tráveí
kaseinu
2. Pankreas (pH 8)
endopeptidazy (trypsin,
chymotrypsin, elastáza,
karboxypeptidáza)



ZDROJ	PRO-ENZYM	AKTIVNÍ ENZYM	AKTIVÁTOR	ÚČINEK
žaludek (pH 1.6 - 3.2)	pepsinogen	pepsin	HCl	endopeptidáza
pankreas (neutrální či slabě alkalické pH)	renin (chymozin) - oavrozend/			kasein → parakasein
	trypsinogen	trypsin	enterokináza	endopeptidáza
	chymotrypsinogen	chymotrypsin	trypsin	endopeptidáza
	prokarboxypeptidáza	karboxypeptidáza	trypsin	exopeptidáza
	proelastáza	elastáza		endopeptidáza
enterocyty tenkého střeva	aminopeptidázy			exopeptidáza
	dipeptidáza			dipeptid → 2 AK

TEST

Trávení bílkovin a resorbce AK v GIT

proteiny v GIT - ~50% z potravy,

velmi různá "stravitelnost" proteinů

- málo tráveny elastin, keratin, mucin

enzymy trávení proteinů - viz tabulka

- resorbce AK a di- a tripeptidů enterocyty tenk. střeva pomocí transportérů (SLC, solute carriers - mnoho typů)

koncentrace AK v buňce obecně mnohem vyšší než extracelulárně,

proto nutno udržovat aktivně

- - Na⁺-dependentní transport - akt. transport Na⁺ facilitovaná difuze Na⁺/AK (=symport)
- - Na⁺-independentní - facilitovaná difuze (=uniport)

resorpce celých proteinů ve střevě

- omezeně možná - prostřednictvím

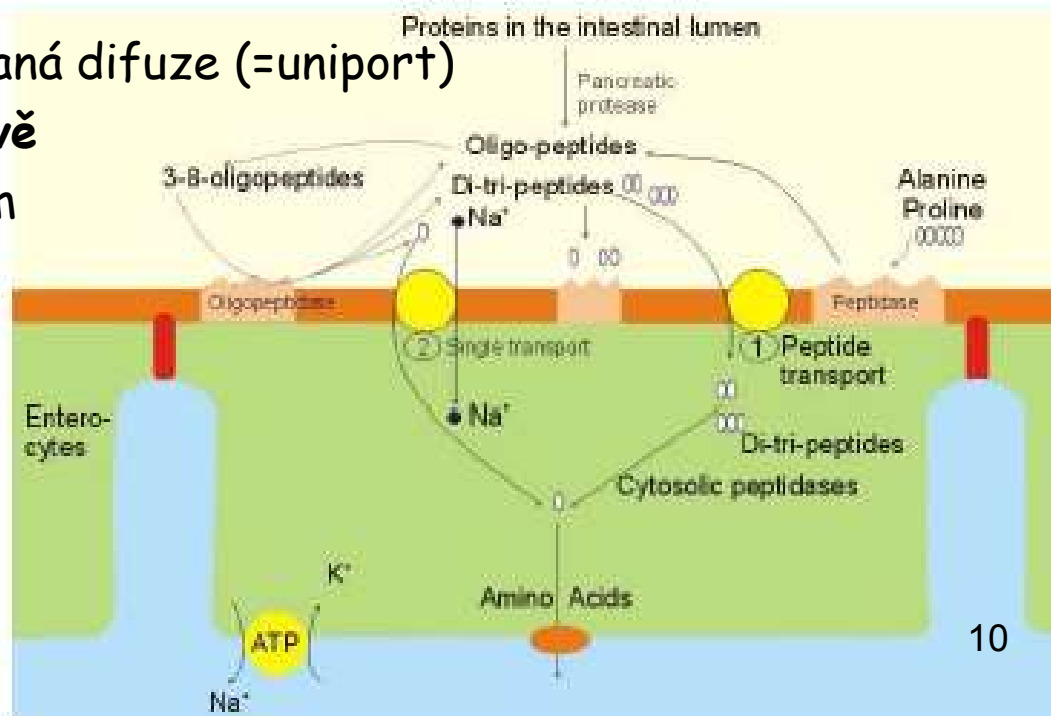
endocytózy a

nebo místy odpoupaných epitelii

- využívá se při systémové

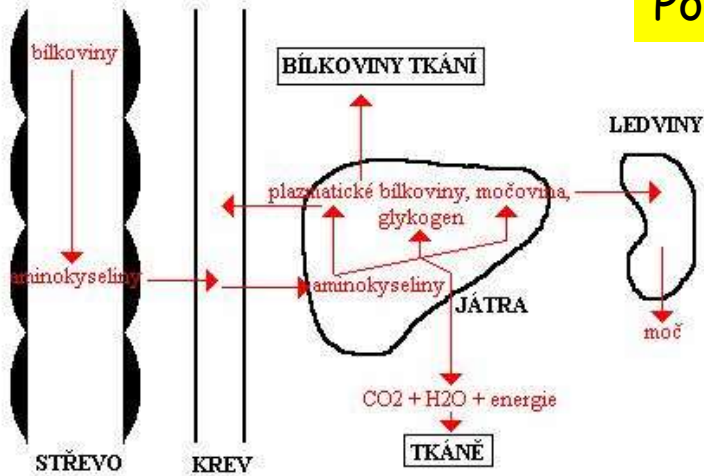
enzymoterapii

(kapsle odolné účinku HCl a pankreatických enzymů)



Poruchy metabolismu bílkovin

Poruchy metabolismu AMK nebo jejich transportérů



AMINOKYSELINY TEST

- základní **stavební složky** (stavební bílkoviny, enzymy, hormony, puriny, plazmatické bílkoviny, aminy, hem)
- zdroj energie uhlíkaté zbytky aminokyselin se začleňují do Krebsova cyklu, metabolismem bílkovin vzniká amoniak → močovinu → ornitinový cyklus
- bílkoviny se neukládají do zásoby

	incidence	postížený enzym
hyperfenylalaninemie	1:6500 (ČR), 1:13 000 (svět)	fenylalaninhydroxyláza (98 %), tetrahydrobiopterin (2 %)
tyrozinemie I	1:100 000 (svět)	fumarylacetoacetáthydroláza
tyrozinemie II	vzácná	tyrozinaminotransferáza
tyrozinemie III	vzácná	4-hydroxyfenylpyruvát dioxygenáza
alkaptonurie	1:100 000 - 1:1 000 000 (svět), 1:19 000 (Slovensko)	homogentisát-1,2-dioxygenáza
homocystinurie	1-9:1 000 000 (svět)	cystationin β-syntáza
cystinurie	1:7000 (USA)	defekt renálního transportu některých aminokyselin
nemoc javorového sirupu	1:185 000	dehydrogenáza větvených alfa-ketokyselin
izovalerová acidemie	1:230 000 (svět)	isovaleryl-CoA dehydrogenáza
glutarová acidurie	1:40 000 (běloši)	glutaryl-CoA dehydrogenáza
methylmalonová acidurie	vzácná	methylmalonyl-CoA mutáza
propionová acidemie	vzácná	propionyl-CoA karboxyláza
poruchy cyklu močoviny	1:30 000 (svět)	11

Poruchy metabolismu AK

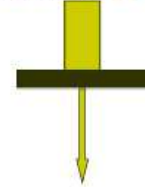
- 1) Aminoacidopatie
- 2) Organické acidurie
- 3) Poruchy detoxikace amoniaku

Poruchy transportu AK

Poruchy metabolismu peptidů

Patofyziologie aminoacidopathií

substrát



produkt

1

<1500 Da

2

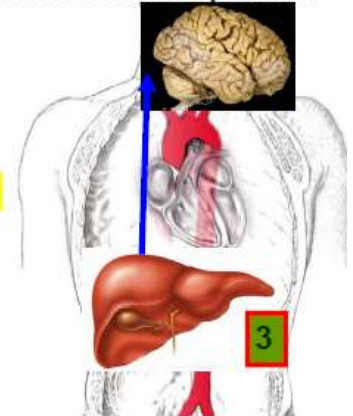


Table 17-2 Some human genetic disorders affecting amino acid catabolism

Medical condition	Approximate incidence (per 100,000 births)	Defective process	Defective enzyme	Symptoms and effects
Albinism	3	Melanin synthesis from tyrosine	Tyrosine 3-mono-oxygenase (tyrosinase)	Lack of pigmentation; white hair, pink skin
Alkaptonuria	0.4	Tyrosine degradation	Homogentisate 1,2-dioxygenase	Dark pigment in urine; late-developing arthritis
Argininemia	<0.5	Urea synthesis	Arginase	Mental retardation
Argininosuccinic acidemia	1.5	Urea synthesis	Argininosuccinate lyase	Vomiting, convulsions
Carbamoyl phosphate synthetase I deficiency	>0.5	Urea synthesis	Carbamoyl phosphate synthetase I	Lethargy, convulsions, early death
Homocystinuria	0.5	Methionine degradation	Cystathione β -synthase	Faulty bone development, mental retardation
Maple syrup urine disease (branched-chain ketoaciduria)	0.4	Isoleucine, leucine, and valine degradation	Branched-chain α -keto acid dehydrogenase complex	Vomiting, convulsions, mental retardation, early death
Methylmalonic acidemia	<0.5	Conversion of propionyl-CoA to succinyl-CoA	Methylmalonyl-CoA mutase	Vomiting, convulsions, mental retardation, early death
Phenylketonuria	8	Conversion of phenylalanine to tyrosine	Phenylalanine hydroxylase	Neonatal vomiting; mental retardation

	incidence	postižený enzym
hyperfenylalaninemie	1:6500 (ČR), 1:13 000 (svět)	fenylalaninhydroxyláza (98 %), tetrahydrobiopterin (2 %)
tyrozinemie I	1:100 000 (svět)	fumarylacetoacetáthydroláza
tyrozinemie II	vzácná	tyrozinaminotransferáza
tyrozinemie III	vzácná	4-hydroxyfenylpyruvát dioxygenáza
alkaptonurie	1:100 000 - 1:1 000 000 (svět), 1:19 000 (Slovensko)	homogentisát-1,2-dioxygenáza
homocystinurie	1-9:1 000 000 (svět)	cystationin β-syntáza
cystinurie	1:7000 (USA)	defekt renálního transportu některých aminokyselin
nemoc javorového sirupu	1:185 000	dehydrogenáza větvených alfa-ketokyselin
izovalerová acidemie	1:230 000 (svět)	isovaleryl-CoA dehydrogenáza
glutarová acidurie	1:40 000 (běloši)	glutaryl-CoA dehydrogenáza
methylmalonová acidurie	vzácná	methylmalonyl-CoA mutáza
propionová acidemie	vzácná	propionyl-CoA karboxyláza
poruchy cyklu močoviny	1:30 000 (svět)	

• 1) AMINOACIDOPATHIE

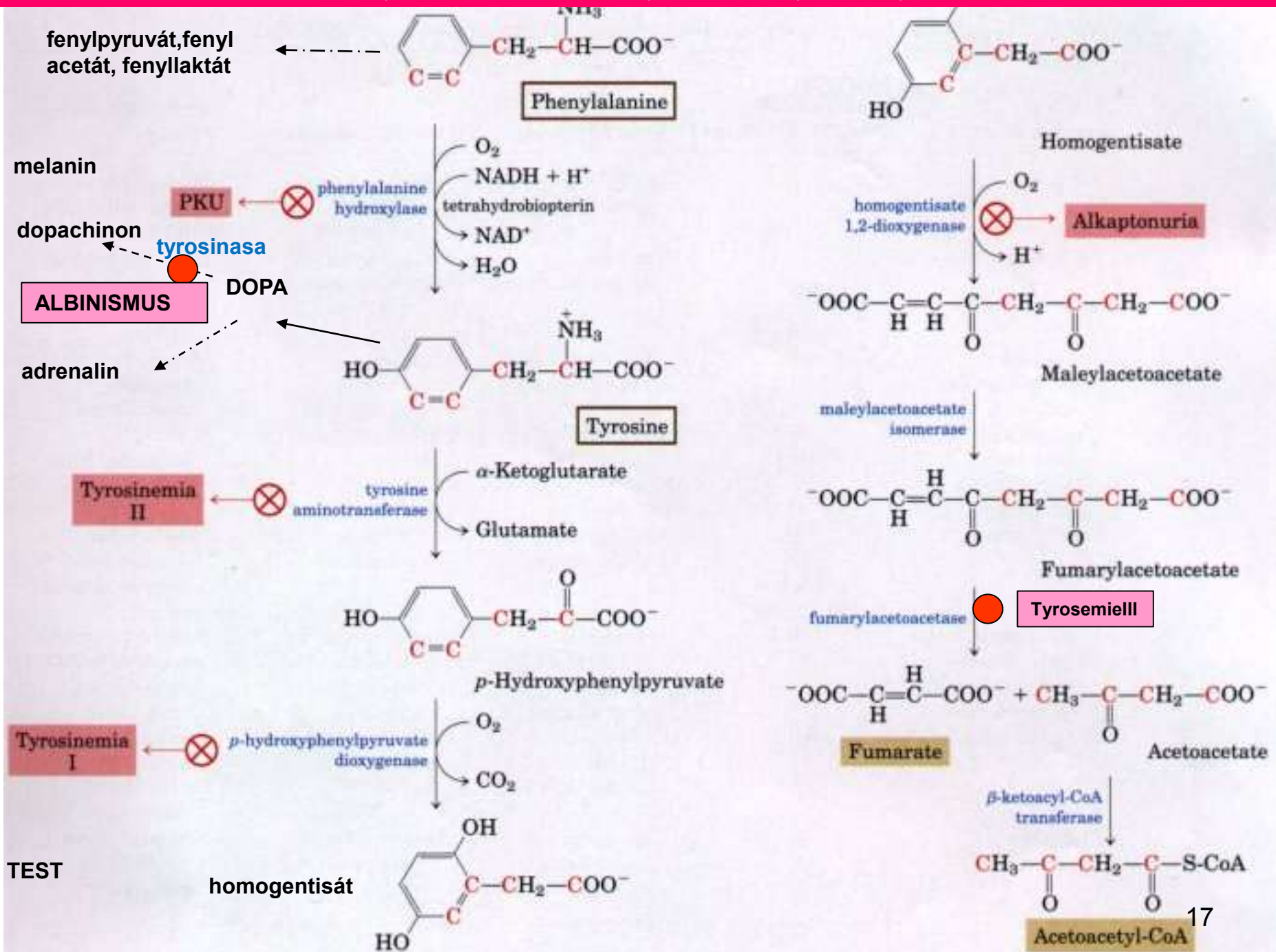
- - **obecný mechanismus:**
- Akumulace AA, odchylky v degradaci AK v cytosolu
- Akumulace amoniaku
- Akumulace uhlíkové kostry, org. kyselin
- Nedostatek produktu
- Deficity mitochondriálních enzymů (dehydrogenáza ketokyselin s rozvět. řetězci) *leucinéza*
- Nezahrnují CoA aktivované metabolity
- Akumulace toxických metabolitů, fenylalanin, fenylpyruvát, fenylacetát - FENYLKETONURIE (specifické poškození orgánů)
- Diagnostikovány stanovením hladiny metabolitů
- **Terapie:** dieta
- **Aminoacidurie:** přítomnost jedné nebo více AK v moči, metabolitech
- **Hyperaminoacidémie:** zvýšená koncentrace 1-více AK v séru

• 2) ORGANICKÉ ACIDURIE

- Organické acidurie jsou skupina několika desítek onemocnění se společnou charakteristikou: **vyučování karboxylových kyselin v moči.**
- Organické kyseliny se v těle hromadí při poruše metabolismu zejména aminokyselin, dále pak mastných kyselin a sacharidů, vzácně jiných látek.
- Deficity enzymů v mitochondriálním metabolismu,
- CoA aktivovaných karboxylových kyselin

- skupina několika desítek nemocí
- společná charakteristika: vylučování karboxylových kyselin v moči (test-organické kyseliny v moči)
- obvykle původ z poruch degradace uhlíkové kostry AMK (ev. sacharidů či lipidů)
- často akutní manifestace intoxikačního typu
- často metabolická acidosa (běžná kombinace s hyperamonemií)

Poruchy metabolismu aromatických AMK (Fenylalanin, Tyrozin)



Poruchy metabolismu aromatických AMK (Fenylalanin, Tyrozin)

FENYLALANIN → TYROSIN (fenylalaninhydroxyláza)

1) hyperfenylalaninémie

defekt *fenylalaninhydroxylázy* - **klasická fenylketonurie (PKU)**

defekt *dihydrobiopterinreduktázy* - **hyperfenylalaninémie typu II a III**

defekt biosyntézy *dihydrobiopterinu* (kofaktor) - **hyperfenylalaninémie typu IV a V**

AR dědičné onemocnění

hromadění fenylalaninu a metabolitů (kys. fenylpyrohroznová, fenylmléčná, fenylloctová, o-hydroxyfenylloctová)

dysbalance plazmatických AMK: poškození vývoj mozku,

fenylalanin brzdí enterální resorpci tyrosinu (soutěží spolu o transportér) →

porucha syntézy katecholaminů a melaninů (pigmentace kůže a vlasů je snížena) →

ireverzibilní mentální retardace (vysoké hladiny Phe poškozují mozek), záchvaty, psychózy, ekzémy,

moč zápachu po myšince, světlá pigmentace (blond vlasy a modré oči i v tom případě, nejsou-li pro to genetické předpoklady)



2) hypertyrozinémie

Tyrozinemie typ 1 - deficit *enzymu fumaryl acetoacetát hydroxylázy*

v krvi se hromadí metabolit **sukcynilaceton**, který poškozuje játra, ledviny, PNS a CNS zvláštním projevem je sebepoškozování nemocného

Tyrozinemie typ 2 - deficit *enzymu tyrosin-aminotransferázy* (postižení očí, kůže a CNS)

Přechodná tyrozinemie nebo hyperfenylalanémie novorozenců - opožděné spuštění aktivity enzymu *fenylalaninhydroxylázy*,

Přechodný vzestup tyrosinu v plazmě v prvních 2 týdnech života, daná opožděným zráním enzymů *tyrosinaminotransferázy* nebo

4-hydroxyfenylpyruvát-dioxygenázy v játrech

3) alkaptonurie

Defekt *homogentisátogenázy*

vysoká koncentrace kyseliny homogentisové (oxidace homogentisátu na benzochininacetát → generalizovaná pigmentace pojiva, sklér,

boltečů, kůže), arthritida (kyčle, kotníky, páteř), poškození ledvin (urolitiáza) a srdečních chlopní (regurgitace aortální nebo mitrální

chlopně), kalcifikace aorty, moč na světle tmavne (**hnědý pigment alkapton**)

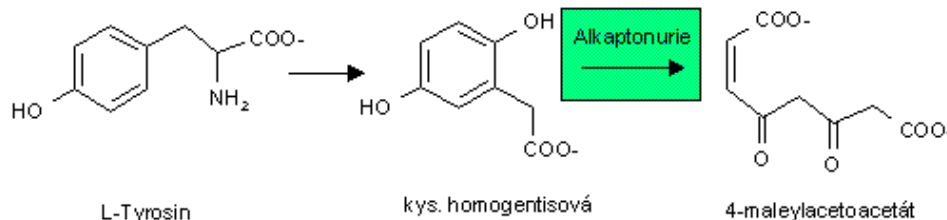


Fig. 3: Comparison of Colour of Freshly Voided Urine and Urine after 24 Hours

Poruchy metabolismu aromatických AMK (Fenylalanin, Tyrozin)

1. hyperfenylalaninémie

defekt fenylalaninhydroxylázy - **klasická fenylketonurie (PKU)**

defekt dihydrobiopterinreduktázy - **hyperfenylalaninémie typu II a III**

defekt biosyntézy dihydrobiopterinu (kofak.) - **hyperfenylalaninémie typu IV a V**

AR dědičné onemocnění

hromadění fenylalaninu a metabolitů (kys. fenylpyrohroznová, fenylmléčná, fenylloctová, o-hydroxyfenylloctová)

dysbalance plazmatických AMK: poškození vývoj mozku,

fenylalanin brzdí enterální resorpci tyrosinu, tryptofanu, Leu, Ile

(soutěží spolu o transportér) →

FENYLALANIN → TYROSIN
(fenylalaninhydroxyláza)

porucha syntézy katecholaminů a melaninů (pigmentace kůže a vlasů je snižená) →

ireverzibilní mentální retardace

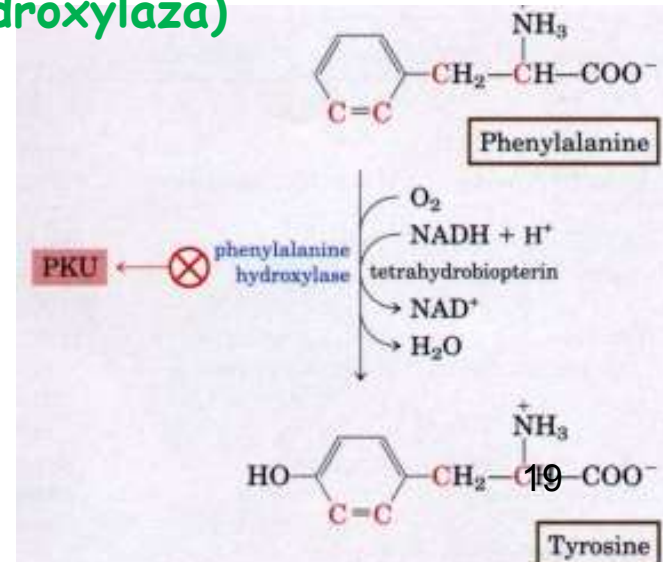
(vysoké hladiny Phe poškozují mozek),

záchvaty, psychózy, ekzémy,

moč zápachu po myšince,

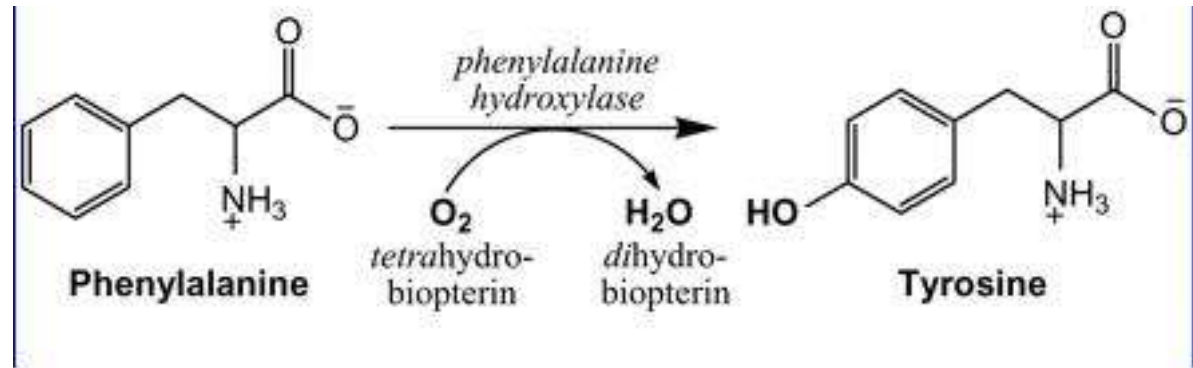
světlá pigmentace (blond vlasy a modré oči i v tom případě,

nejsou-li pro to genetické předpoklady)



defekt fenylalaninhydroxylázy - klasická fenylketonurie (PKU)

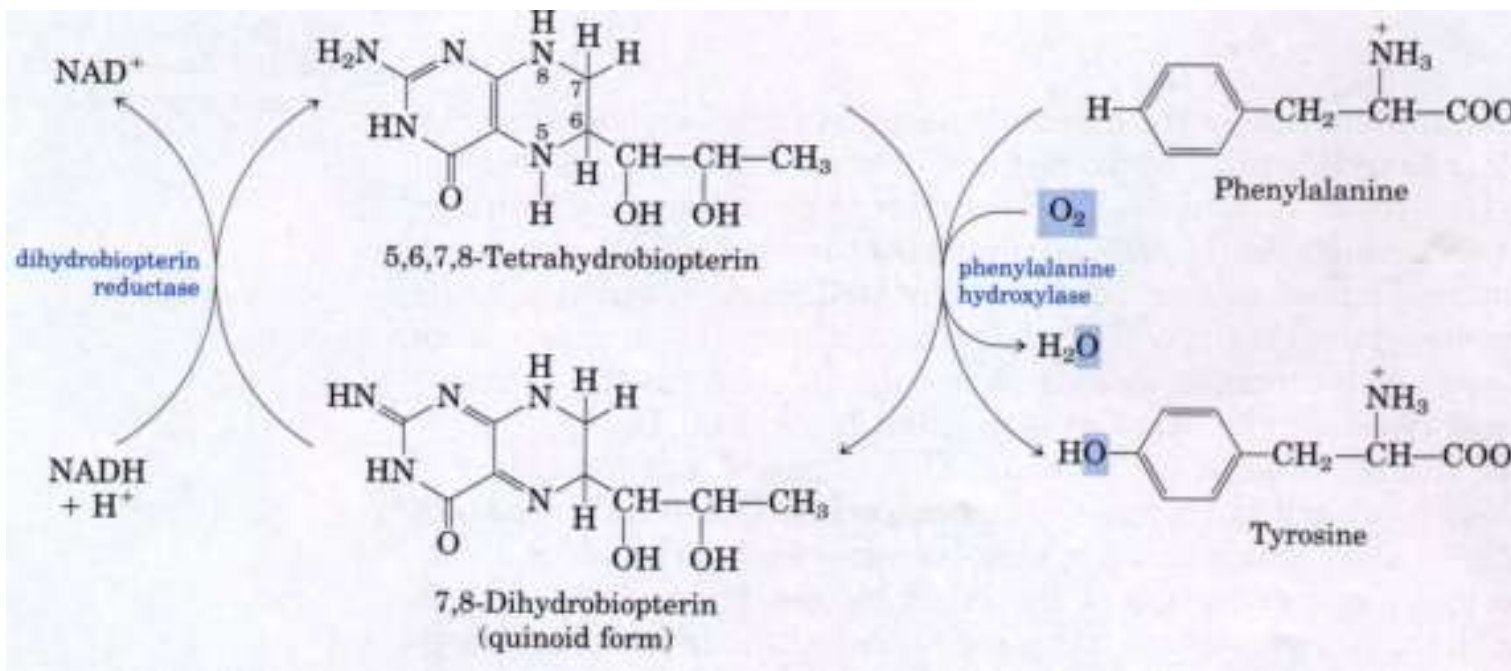
defekt
fenylalaninhydroxyl
ázy = klasická
PKU, PKU I
(aktivita enzymu je
nižší než 25%) -
98-99% případů,
AR dědičné
onemocnění



Phe- toxický pro mozek

The first enzyme in the catabolic pathway for phenylalanine (Fig. 17-26), **phenylalanine hydroxylase**, catalyzes the hydroxylation of phenylalanine to tyrosine. A genetic defect in phenylalanine hydroxylase is responsible for the **disease phenylketonuria (PKU)**. **Phenylketonuria** is the most common cause of elevated levels of phenylalanine (hyperphenylalaninemia). Phenylalanine hydroxylase inserts one of the two oxygen atoms of O₂ into phenylalanine to form the hydroxyl group of tyrosine; the other oxygen atom is reduced to H₂O by the NADH also required in the reaction. This is one of a general class of reactions catalyzed by enzymes called mixed-function oxidases (see Box 20-1), all of which catalyze simultaneous hydroxylation of a substrate by O₂ and reduction of the other oxygen atom of O₂ to H₂O. Phenylalanine hydroxylase requires a cofactor, **tetrahydrobiopterin**, which carries electrons from NADH to O₂ in the hydroxylation of phenylalanine. During the hydroxylation reaction the coenzyme is oxidized to dihydrobiopterin (Fig. 17-27). It is subsequently reduced again by the enzyme dihydrobiopterin reductase in a reaction that requires NADH.

defekt dihydrobiopterinreduktázy -
hyperfenylalaninémie typu II a III
 defekt biosyntézy dihydrobiopterinu (kofaktor) -
hyperfenylalaninémie typu IV a V

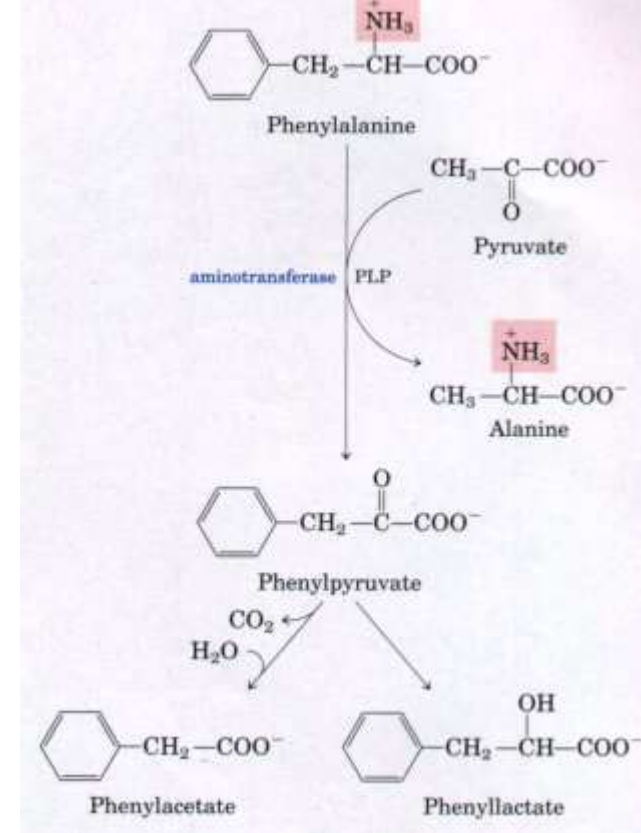
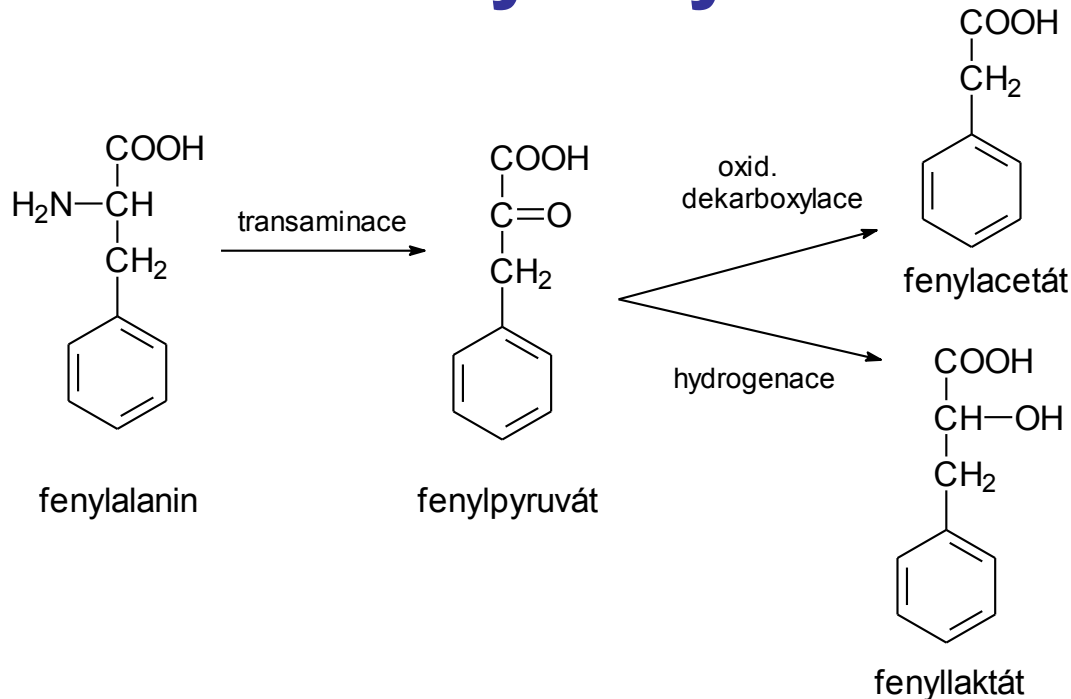


2.defekt dihydrobiopteridínreduktázy = PKU II a III

3.defekt biosyntézy dihydrobiopteridínu = PKU IV a V

fenylalanínhydroxyláza → monooxygenáza = zapojuje jen jeden O, z druhého vzniká voda, dárce H₂ pro vznik vody je tetrahydrobiopteridín (THBP), po uvolnění H₂ vzniká dihydrobiopteridín (DHBP), ten je redukován DHBP-reduktázou zpět na THBP

Metabolism fenylalaninu



When phenylalanine hydroxylase is genetically defective, a **secondary pathway of phenylalanine metabolism, normally little used, comes into play**. In this minor pathway phenylalanine undergoes transamination with pyruvate to yield phenylpyruvate (Fig. 17-28). **Phenylalanine and phenylpyruvate accumulate in the blood and tissues and are excreted in the urine: hence the name of the condition, phenylketonuria**. Much of the phenylpyruvate is either decarboxylated to produce phenylacetate or reduced to form phenyllactate. Phenylacetate imparts a **characteristic odor to the urine** that has been used by nurses to detect PKU in infants. The accumulation of phenylalanine or its metabolites in early life impairs the normal development of the brain, causing severe mental retardation. Excess phenylalanine may compete with other amino acids for transport across the blood-brain barrier, resulting in a depletion of some required metabolites.

Alternative pathways for catabolism of phenylalanine in phenylketonurics. Phenylpyruvate accumulates in the tissues, blood, and urine. Phenylacetate and phenyllactate can also be found in the urine.

Neléčená HPA/PKU

ZÁPACH PO MYŠINĚ



Boy with untreated PKU

http://www.dshs.state.tx.us/newborn/images/PKU_untreated.jpg

- U nás výskyt 1:6500
- 1-2% HPA způsobené sek. poruchami pterinového mtbl
- 30% pacientů BH4 sensitivní
- novorozenecký screening
- neléčená HPA- mentální retardace, typický zápach-myšina, světlá pigmentace, ekzémy, epilepsie
- maternální HPA-VCC, mikrocefalie a PMR

nemoc je vzata do novorozeneckého screeningu (metoda tandemové hmotnostní spektrometrie (od 1. 10. 2009); dříve Guthrieho test - odebraná krev dítěte /4.-5.den po porodu/ se přidá ke kolonii *Bacillus subtilis*, bacilus přežívá akorát v krvi bohaté na Phe)

Phe se hromadí (hyperfenylalanémie - až 150-630mg/l plasmy) a je přeměněn na fenylpyruvát a fenyllaktát a vylučován močí, často je vylučován ve formě fenylacetylglutaminu

léčba

dietou (do ukončení vývoje CNS - tj. cca do 20. roku života), podáváním saptoterinu (Kuvan) → syntetická verze přírodního THBP (zvyšuje aktivitu fenylalaninhydroxylázy, at' je problém v poruše enzymu, nebo v THBP), podávání L-DOPA (substituce pro tvorbu katecholaminů), **LNAA transportér (large neutral amino acids transporter) - blokáce přestupu Phe ve vysokých hladinách skrz hematoencefalickou bariéru**



PKU- 3. den života

PKU- 12.měsíc života ²³

http://www.cabfb.mscill.ca/images/pku_0101time01.jpg

- následky neléčené formy (PKU I) → ireverzibilní mentální retardace (vysoké hladiny Phe poškozují mozek), záchvaty, psychózy, ekzémy, moč zápachu po myšíně, světlá pigmentace (blond vlasy a modré oči i v tom případě, nejsou-li pro to genetické předpoklady)

- nemoc je vzata do novorozeneckého screeningu (metoda tandemové hmotnostní spektrometrie (od 1. 10. 2009); **dříve Guthrieho test** – odebraná krev dítěte /4.–5.den po porodu/ se přidá ke kolonii *Bacillus subtilis*, bacilus přežívá akorát v krvi bohaté na Phe)

- **léčba dietou** (do ukončení vývoje CNS – tj. cca do 20. roku života), podáváním **saptoterinu** (Kuvan) → syntetická verze přírodního THBP (zvyšuje aktivitu fenylalaninhydroxylázy, ať je problém v poruše enzymu, nebo v THBP), podávání L-DOPA (substituce pro tvorbu katecholaminů), LNAA transportér (large neutral amino acids transporter) – blokáce přestupu Phe ve vysokých hladinách skrz hematoencefalickou bariéru

- **Mateřská / maternální fenylketonurie (PKU)**

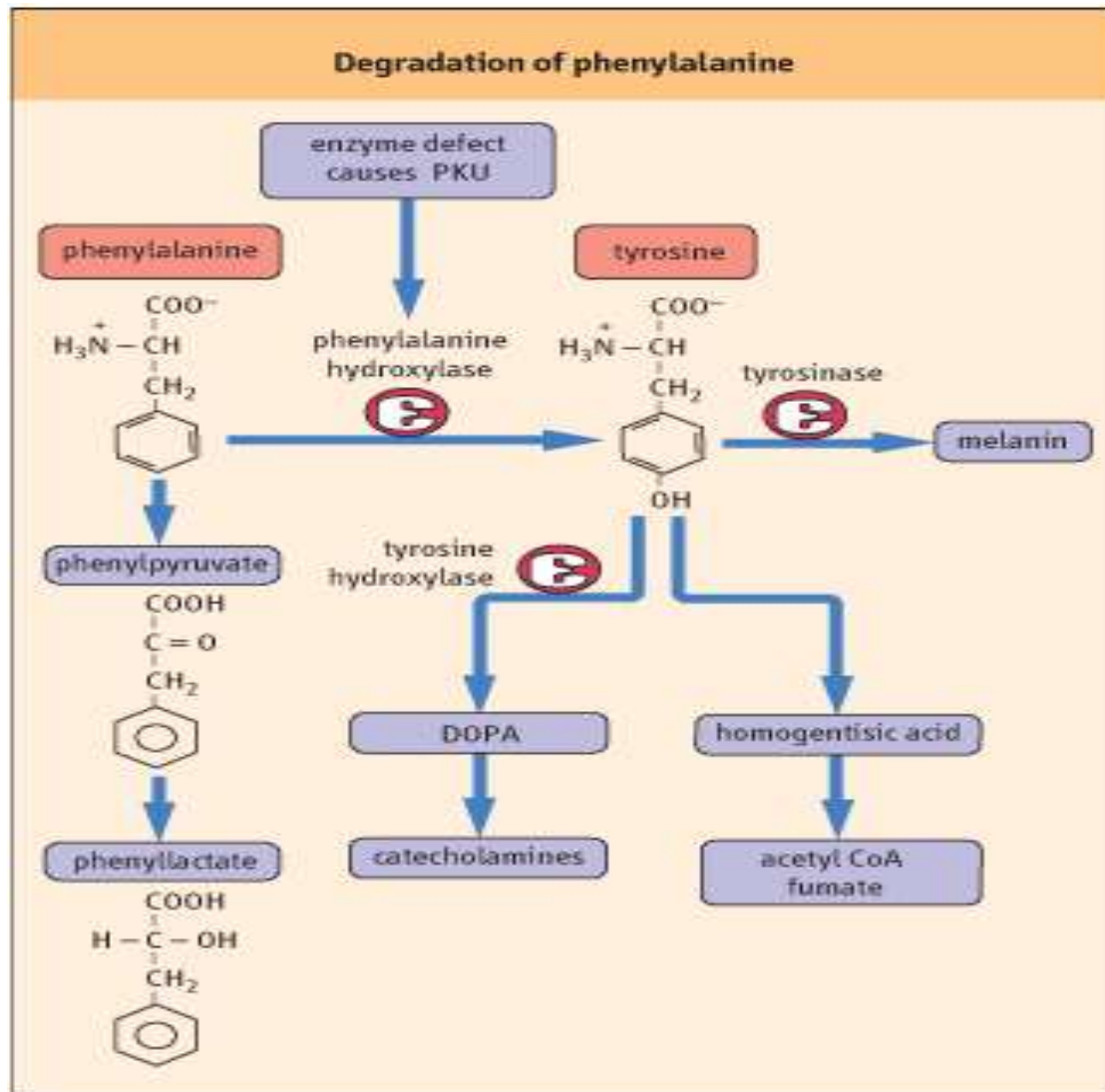
matka je fenylketonurička - dítě je zdravé; nedodrží dietu-----

vysoké hladiny Phe poškozují CNS dítěte – mentální retardace s obrazem PKU, ale negativní na průkaz mutace genu

- **Přechodná hyperfenylalanémie -**

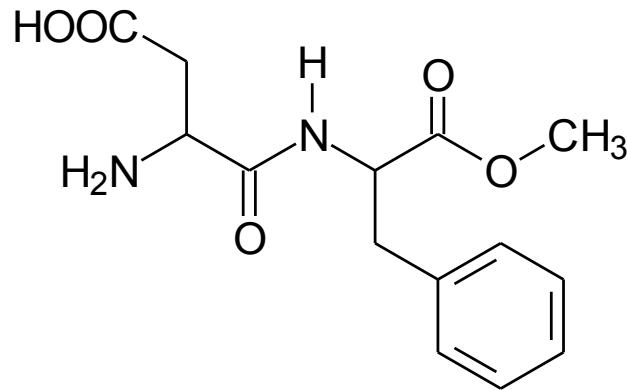
opožděné spuštění aktivity enzymu fenylalaninhydroxylázy

léčba přechodným snížením příjmu proteinů



Hyperfenylalaninémie + Fenylketonurie

- následek neléčené poruchy - mentální retardace
- léčba – přísná dieta s nízkým obsahem Phe do cca 15 roku života
- později méně přísná dieta
- řada výrobků obsahuje sladidlo **aspartam**, nevhodné pro fenylketonuriky, hydrolýzou uvolňuje fenylalanin



L-aspartyl-L-fenylalanin methyl ester (180× sladší jak sacharosa)

Léčba - dietní opatření

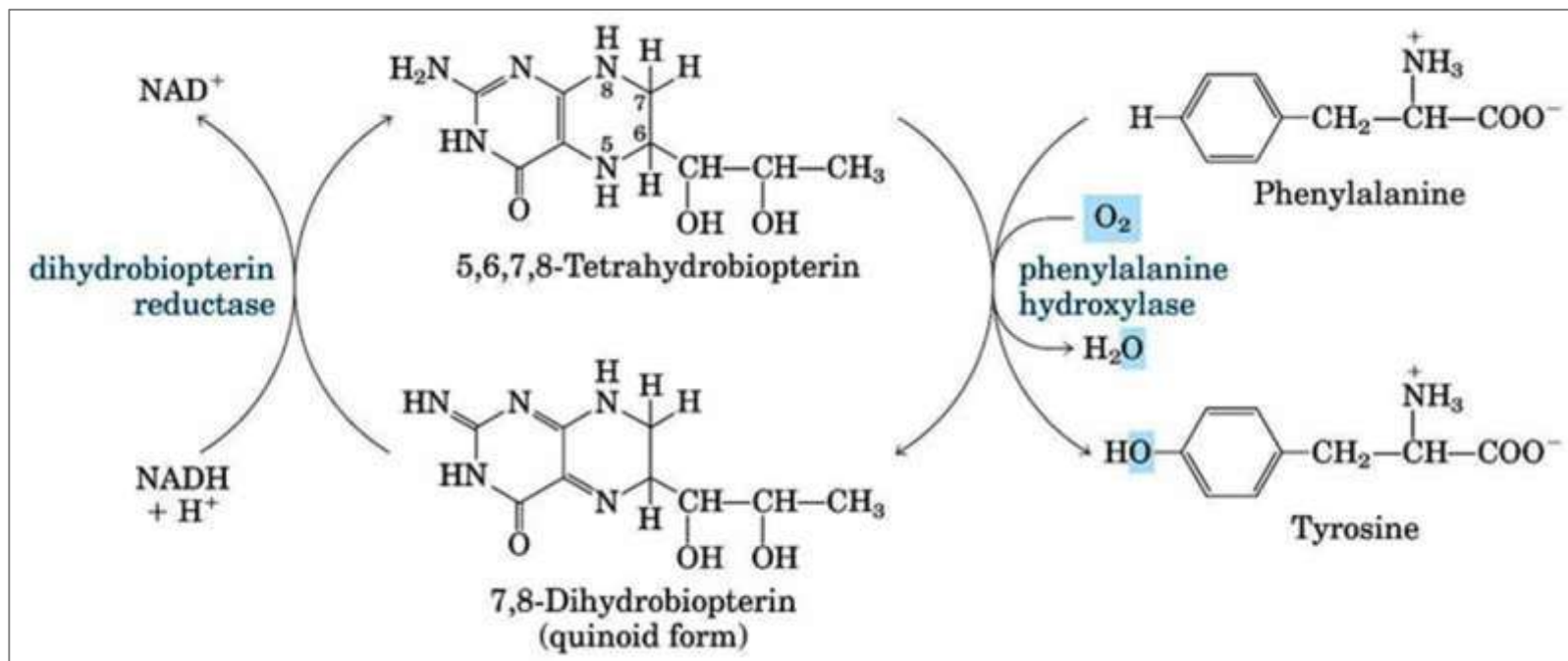
- Po celý život
- Vysoký obsah Phe tyto potraviny:
- **vejce, mléko, sýry, maso, drůbež, ryby, sušené fazole a luštěniny, vysoký obsah proteinů -vyloučeny z potravy**
- Léčba pomocí **BH4 -tetrahydrobiopterin**, někteří pac. na ni nereagují
- reagují na léčbu BH4 v závislosti na jejich **mutaci genu PAH**. Sapropterin dihydrochlorid (Kuvan, BioMarin Pharma) je perorálně účinná syntetická forma BH4.
- Pozn: shodné příznaky vykazuje podobné onemocnění (**hyperfenylalaninemie**), které má však jiný základ. Příčinou tohoto onemocnění je deficience některého ze 4 enzymů, které se podílí na tvorbě a metabolismu tetrahydrobiopterinu BH4 - viz zde výše
- Další možností je enzymatická substituční terapie

Obsahy Phe v potravinách

Průměrný obsah fenylalaninu (PHE) v různých druzích potravin

Potravina	Průměrný obsah PHE v 1g bílkoviny (údaj v mg)
Čerstvé ovoce	27
Čerstvá zelenina	35
Čerstvé houby	29
Brambory a výrobky z nich	49
Mléko a mléčné výrobky	51
Pečivo	58
Vepřové maso	44
Hovězí maso	48
Uzeniny	46
Ryby	43
Ořechy	51
Obilí	55
Žloutek	49
Bílek	69
Cukrovinky,čokoláda, sušenky	50

- Autosomálně recesivní onemocnění
- Porucha metabolismu aminokyseliny fenylalaninu (Phe)
- Mutace v genu *PAH* (fenylalaninhydroxyláza), chromosom 12q23.2
- PAH metabolizuje fenylalanin (Phe) za vzniku tyrozinu (Tyr), jako kofaktor je vyžadován tetrahydrobiopterin (BH4).



Klasifikace: Porucha metabolismu aminokyselin

Dědičnost: Autosomálně recesivní

Incidence: 1:13 000 (v ČR 1 : 6 500)

Etnicita: Severní Evropa, Irsko (1:4 500), Turecko (1:3 000)

Enzym a lokalizace: fenylalaninhydroxyláza, játra; **Gen a lokalizace:** *PAH*, 12q24.1

Informace o onemocnění

Průběh onemocnění bez léčby: Pozvolná mentální retardace (patrná od 6 měsíců věku). Ostatní symptomy - ekzém, zápach moče, křeče, světlejší pigmentace, zvláštnosti chůze a držení těla. Rozsah klinických příznaků je závislý na stupni enzymového deficitu.

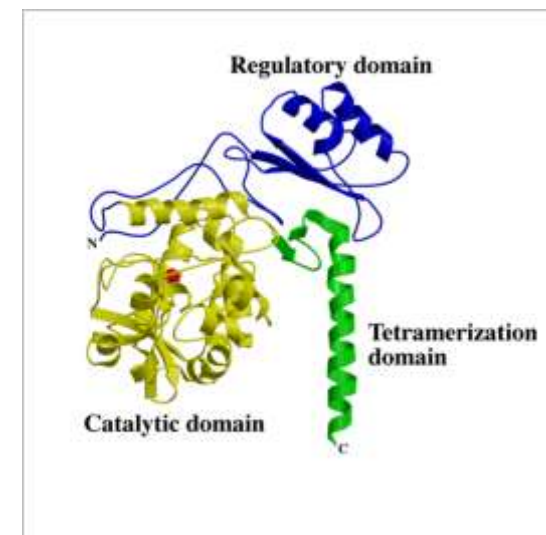
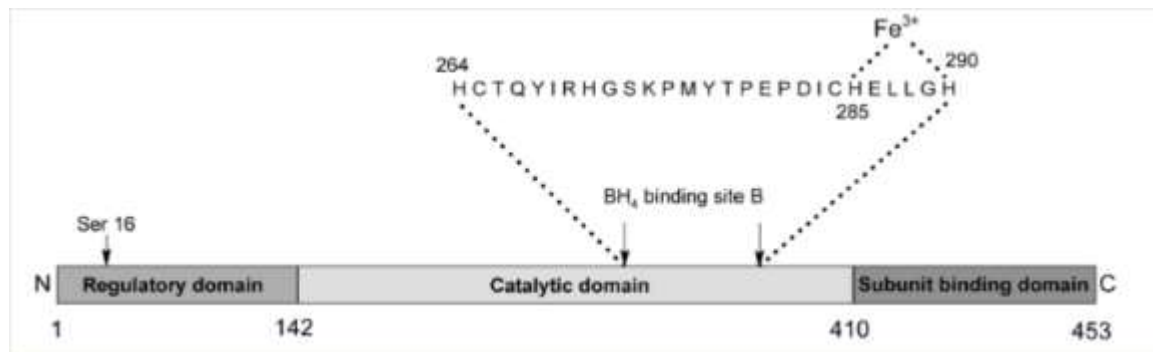
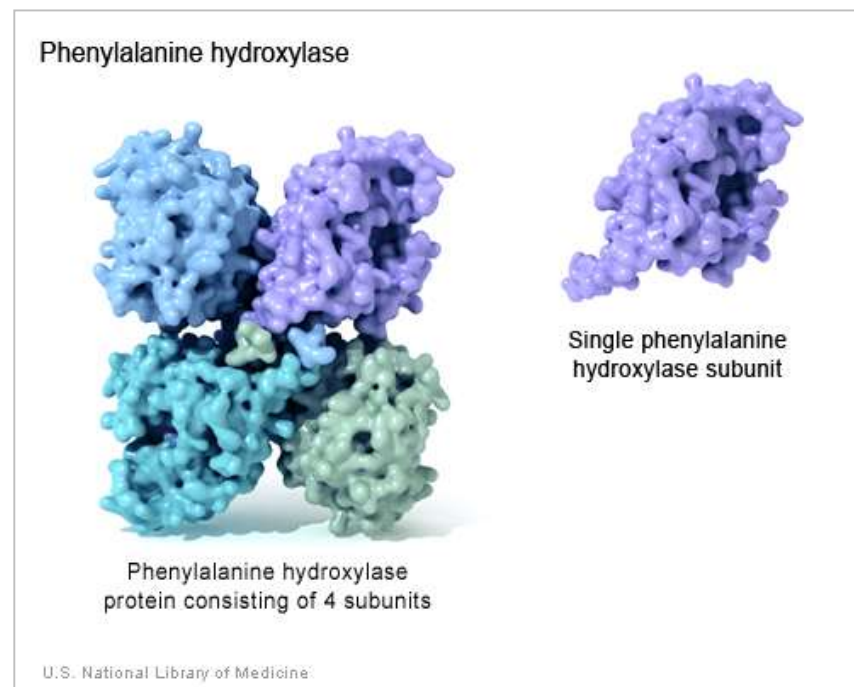
Léčba: Standardní péče je léčba všech osob s hladinou fenylalaninu nad 350-400 $\mu\text{mol/l}$, spočívá v nízkobílkovinné dietě s omezením fenylalaninu a podáváním směsi aminokyselin bez fenylalaninu. Dieta je doporučována po celý život a její dodržování je považováno za nejdůležitější faktor normálního vývoje mozku.

Průběh onemocnění s léčbou: Není mentální retardace, mohou být specifické poruchy učení. Při přerušení diety se sníženým obsahem fenylalaninu dochází k poklesu IQ, poruchám chování a soustředění, objevuje se ekzém, zápach a mohou se objevit křeče. Ženy s PKU/HPA mají vysokou pravděpodobnost narození postiženého dítěte (mikrocefalie a postižení mozku plodu, vrozené srdeční vady), jestliže nedrží přísnou dietu před plánovaným otěhotněním a během těhotenství.

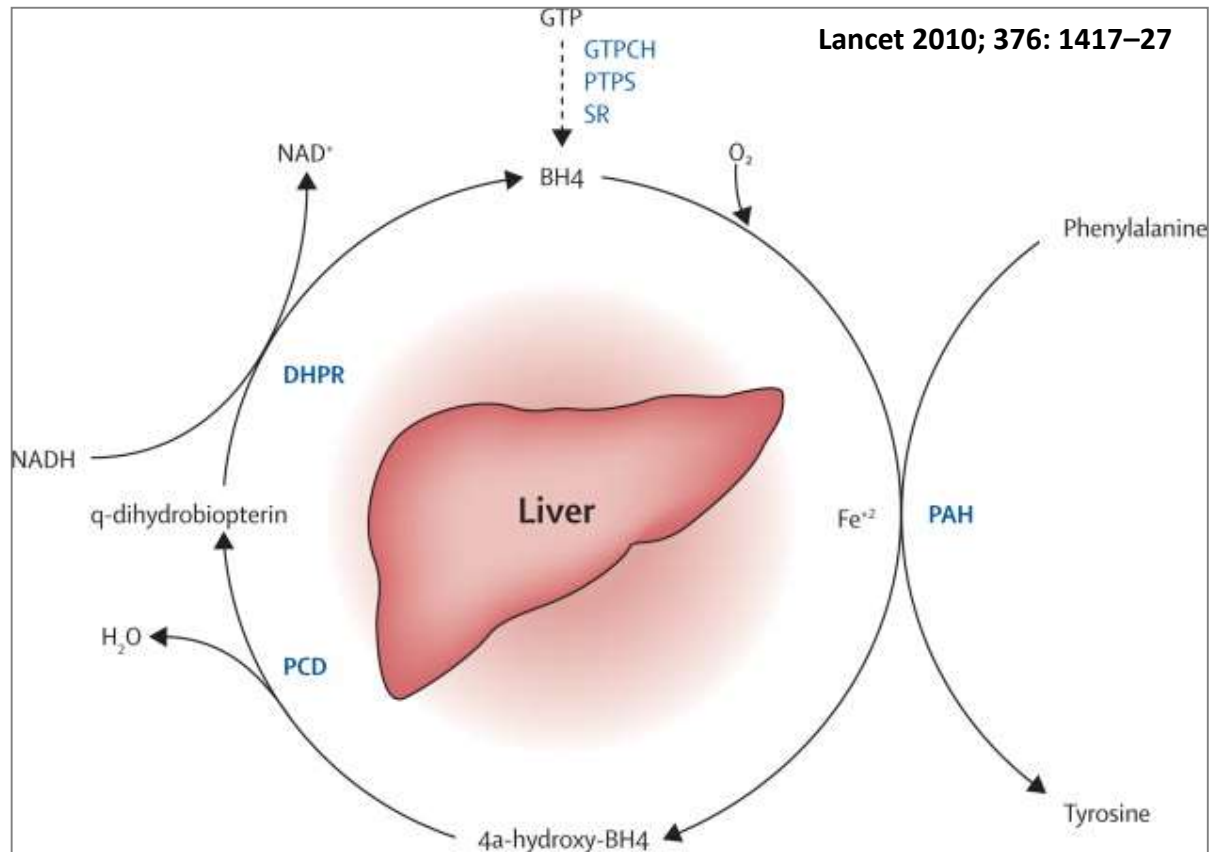
Nález při novorozeneckém screeningu: zvýšený fenylalanin a poměr Phe/Tyr

Fenylalaninhydroxyláza (PAH)

- **Fenylalaninhydroxyláza – enzym obsahující tři funkční domény:**
 - N-koncová regulační doména
 - katalytická doména
 - C-koncová oligomerizační doména
- **Katalytická doména - vazba fenylalaninu, kofaktoru (tetrahydrobiopterin, BH₄), iontu železa**
- **Oligomerizační doména – tvorba homotetrameru (aktivní forma enzymu)**



- 98% způsobeno mutacemi v genu *PAH*
- 2% mutacemi v genech kódujících enzymy podílejících se na syntéze a regeneraci kofaktoru (tetrahydrobiopterin, BH4)



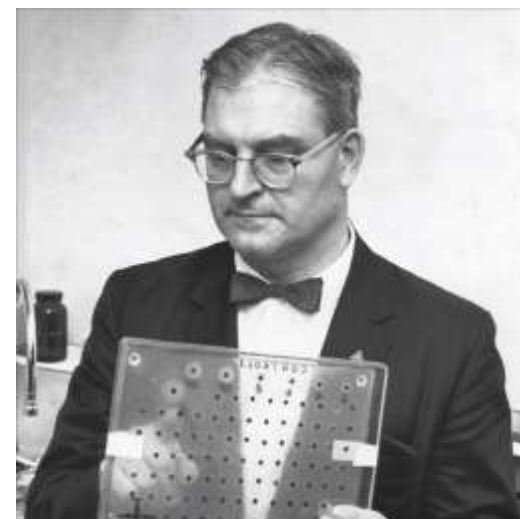
During the hydroxylation of phenylalanine by PAH (O₂, Fe²⁺), tetrahydrobiopterin (BH₄) is oxidised to 4a-hydroxy-BH₄ intermediate, which is subsequently regenerated back to BH₄ by the enzymes carbinolamine-4a-dehydratase (PCD) and by the NADH-dependent dihydropteridine reductase (DHPR). BH₄ is synthesised from guanosine triphosphate (GTP) by three additional enzymes GTP cyclohydrolase I (GTPCH), 6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase (PTPS), and sepiapterin reductase (SR). Mutations in genes coding for PCD, DHPR, GTPCH, PTPS, and SR result in BH₄ deficiency.

Tři mílníky spojené s diagnostikou a léčbou HPA/PKU:

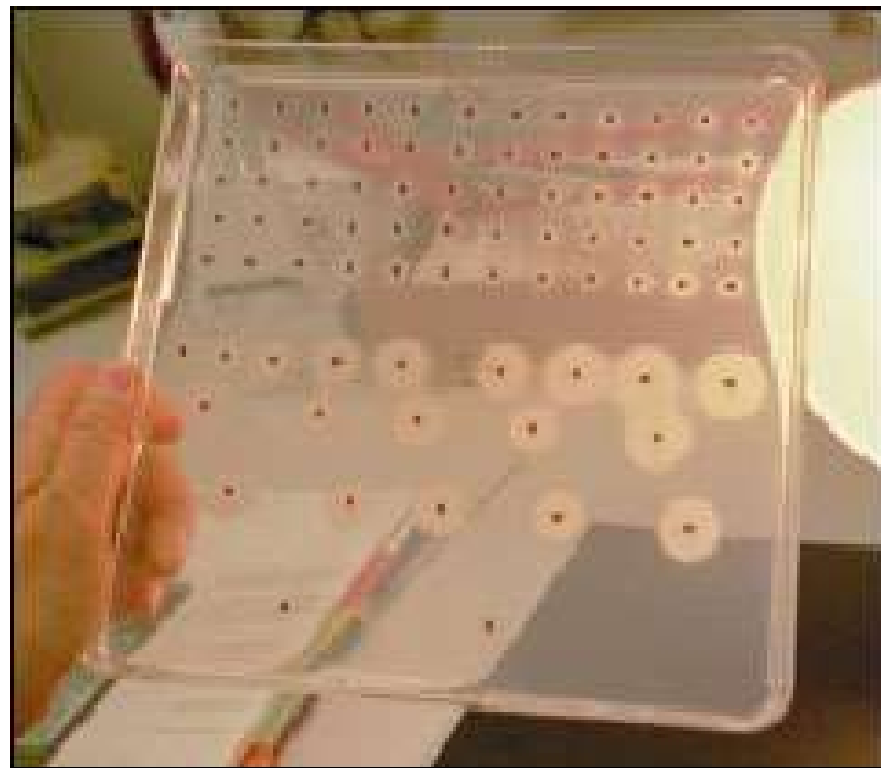
- ~ 1930, Asbjorn Folling (norský lékař a biochemik) identifikoval u části pacientů s mentální retardací zvýšenou hladinu Phe v krvi
- ~ 1950, Horst Bickel (německý lékař) zavedl dietu s nízkým obsahem Phe pro pacienty se zvýšenou hladinou Phe v krvi.
- ~ 1960, Robert Guthrie (americký mikrobiolog) zavedl diagnostický test vhodný pro screening HPA/PKU.



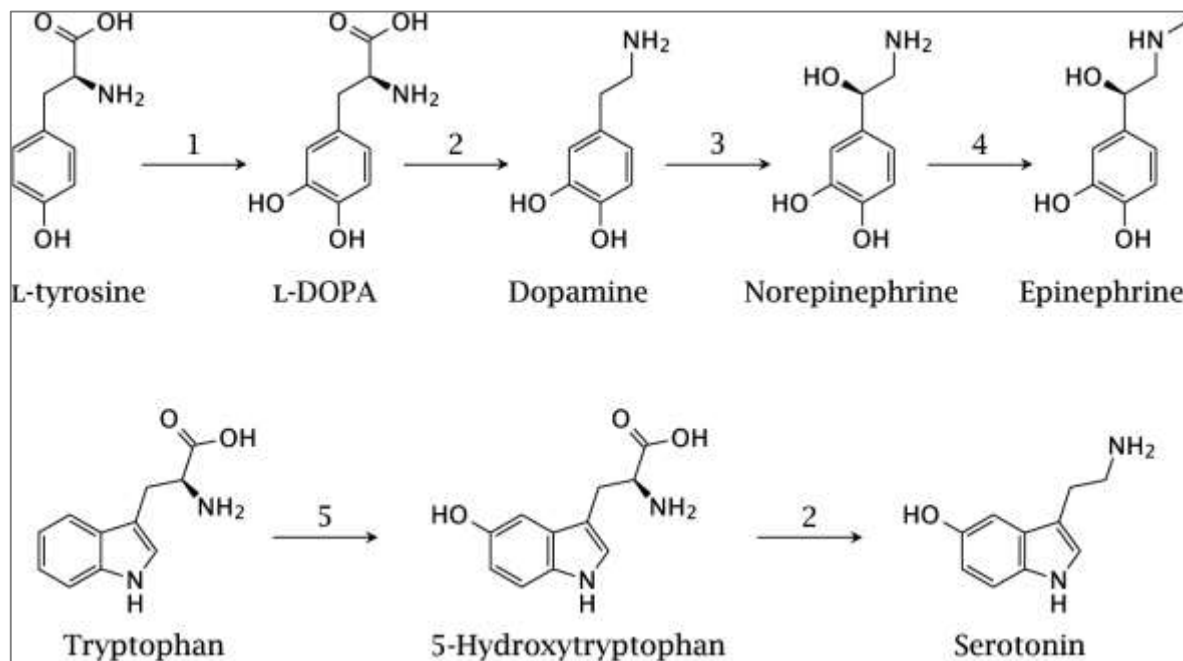
Současný novorozenecký laboratorní screening HPA/PKU – tandemová hmotnostní spektrometrie – analýza hladiny fenylalaninu a poměru fenylalanin/tyrosin.



- Semikvantitativní test určený pro detekci zvýšené hladiny Phe využívající schopnosti Phe usnadnit růst bakterií v kultivačním médiu s inhibítorem.
- Malý disk filtračního papíru se zaschlou krví se umístí na agarový gel obsahující bakterii *Bacillus subtilis* a inhibitor B-2-thienylalanin. Agarový gel je schopen podporovat růst bakterií, ale B-2-thienylalanin tento růst inhibuje.
- V přítomnosti zvýšeného množství Phe je inhibice překonána a bakterie rostou. Intenzita růstu bakterií je přímo úměrná množství Phe v krvi, který se vyluhuje z filtračního papíru do agaru.

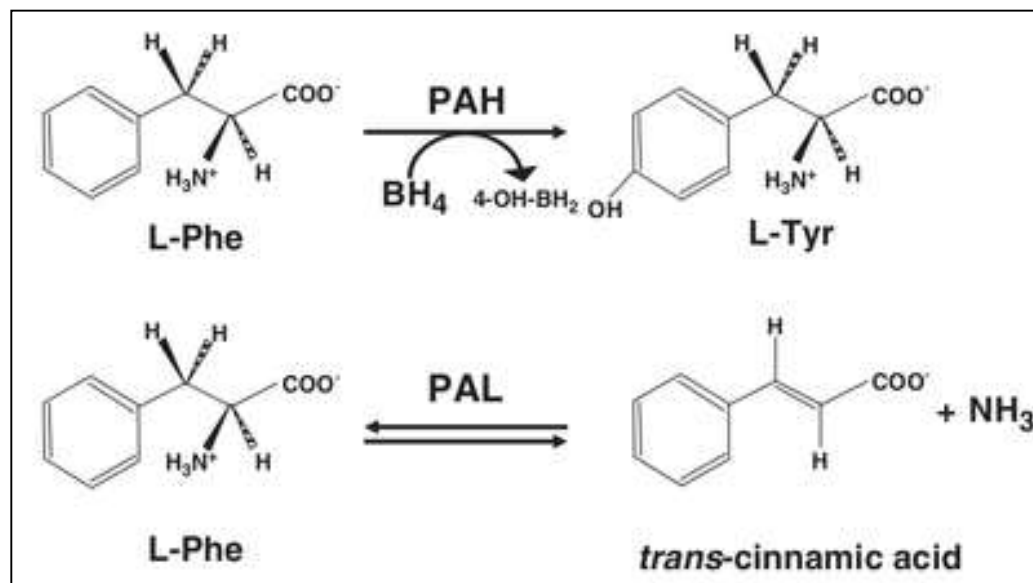


- PAH - enzym fungující v jaterních buňkách **x** mentální retardace jako klinický projev HPA/PKU
- Hematoencefalická bariéra – aminokyselinový transportér LAT1 – transport Phe a dalších velkých neutrálních aminokyselin (LNAA: Tyr, Trp) z krve do mozku. Phe má vyšší afinitu k LAT1 než Tyr, Trp → vysokou koncentrací v krvi Phe snižuje příjem dalších LNAA do mozku; tj tyrosinu a tryptofanu (prekurzory dopaminu a serotoninu; neurotransmitery).



➤ **Terapie – nízkobílkviná dieta s omezením fenylalaninu a podáváním směsi aminokyselin bez fenylalaninu + podávání velkých neutrálních aminokyselin (LNAA).**

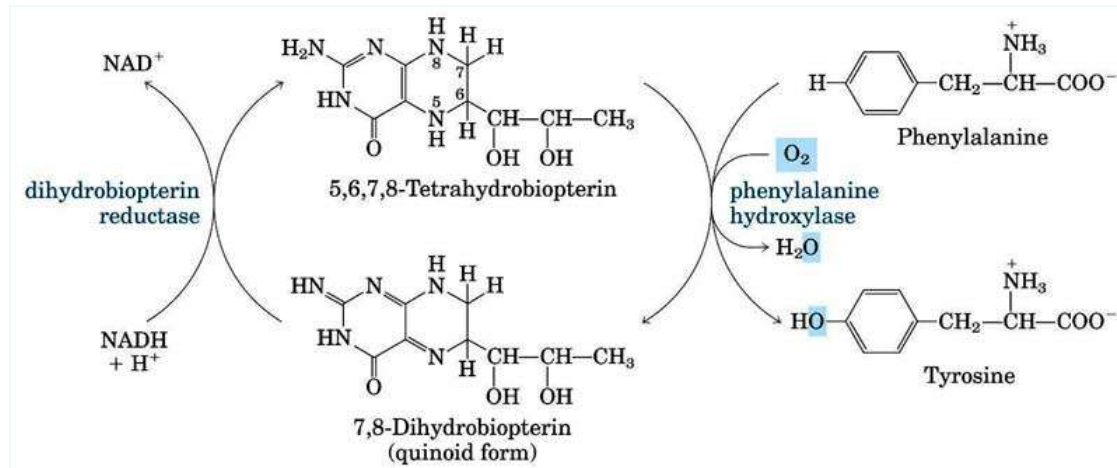
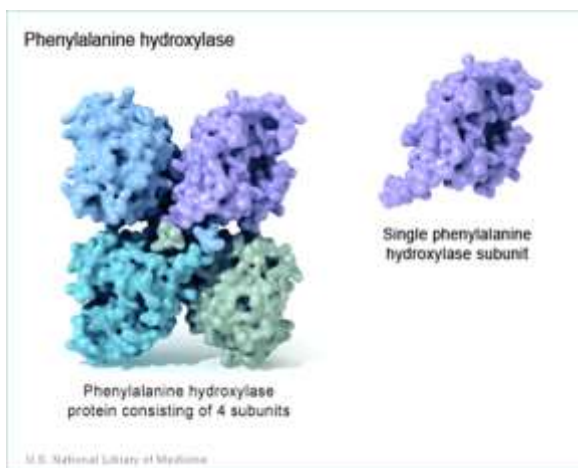
- **Enzymová substituční terapie pomocí fenylalanin amonium-lyázy (PAL)**
- PAL – konvertuje Phe na kyselinu skořicovou (*trans*-cinnamic acid) a amoniak (rostliny, houby, kvasinky)
- Trapie: i) orální podání je komplikováno proteolytickou degradací enzymu; ii) injektovaná PAL je imunogenní, konjugace PAL a polyethylenglykolu (PEG-PAL) snižuje imunitní odpověď.
- Byly provedeny klinické studie hodnotící bezpečnost a účinnost opakovaně podávaných injekcí PEG-PAL podkožní podávání PEG-PAL bylo bezpečné a dobře tolerované a zdá se účinné při snižování krevního Phe



- Bylo zjištěno, že zvýšená hladina Phe může být redukována podáním BH4.
 - **Tetrahydrobiopterin, BH4 – molekulární chaperon pro PAH.**
- Klinické zkoušky ukázaly, že BH4 (**Sapropterin dihydrochlorid, Kuvan**) je bezpečný a efektivní v terapii pacientů s mírnou HPA a mírnou PKU.

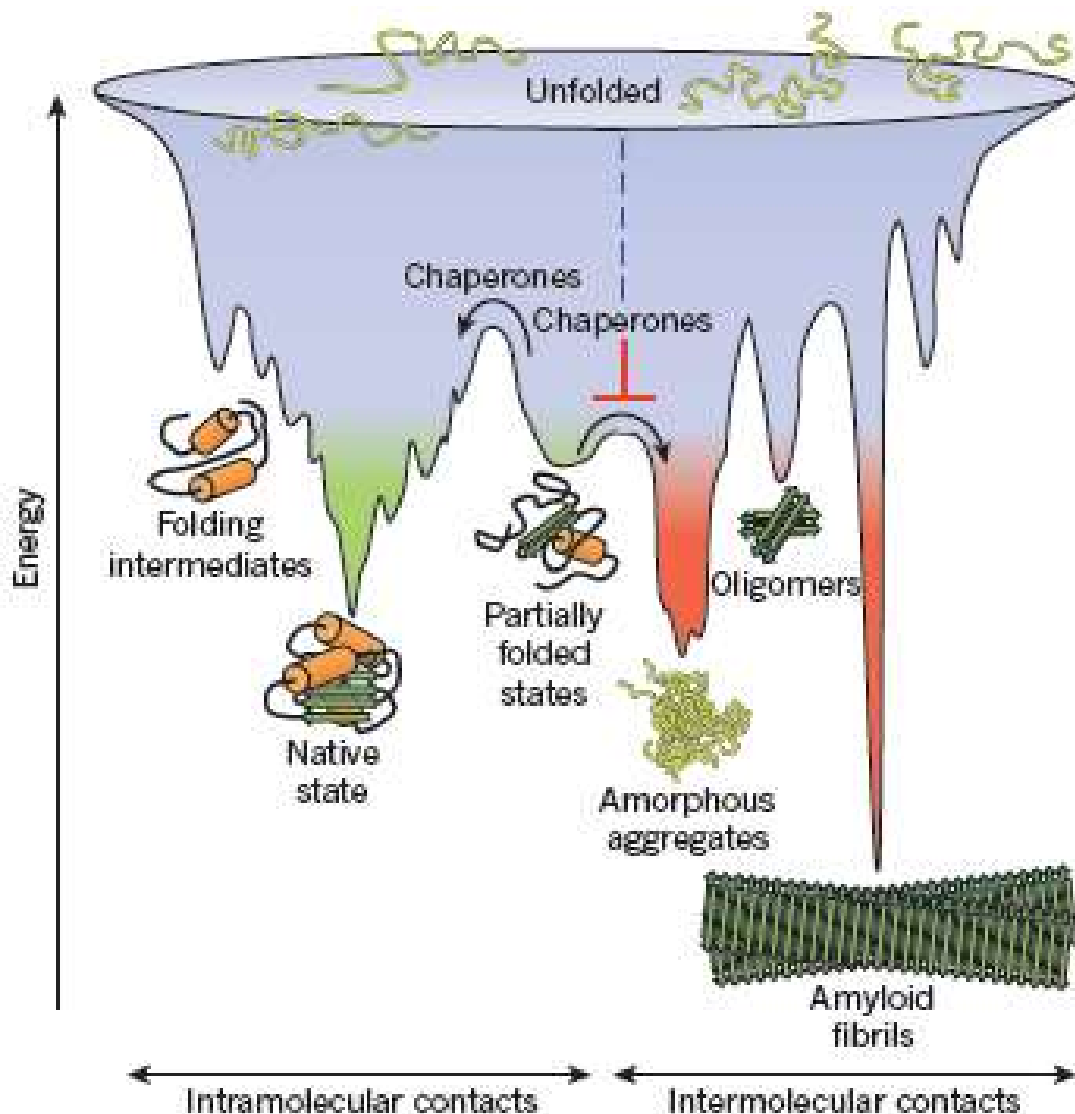
Hladina Phe v krvi:

- Norma: 50 - 110 $\mu\text{mol/L}$
- Mírná HPA: 120 - 600 $\mu\text{mol/L}$
- Mírná PKU: 600 - 1200 $\mu\text{mol/L}$
- Klasická PKU: > 1200 $\mu\text{mol/L}$



Protein folding

The surface free-energy changes of proteins during their moving towards the native state.



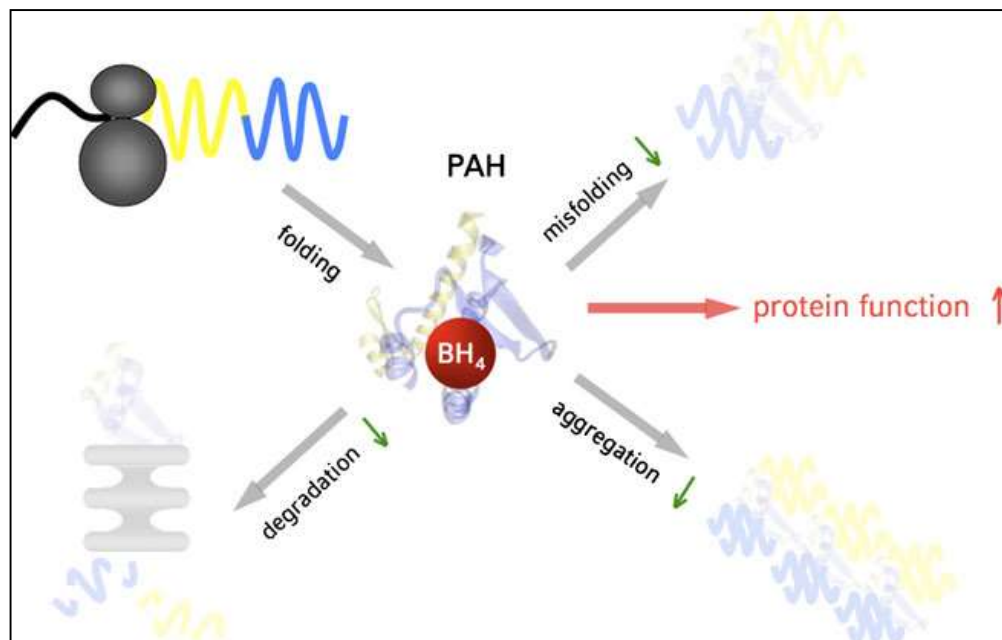
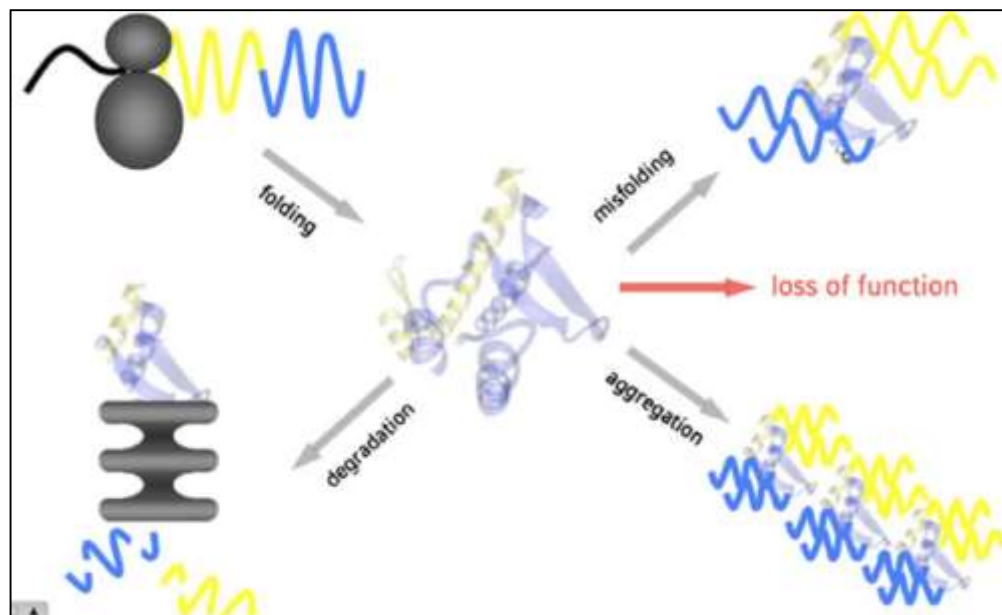
- Partially folded states are problematic - proteins tend to aggregate in concentration dependent manner.

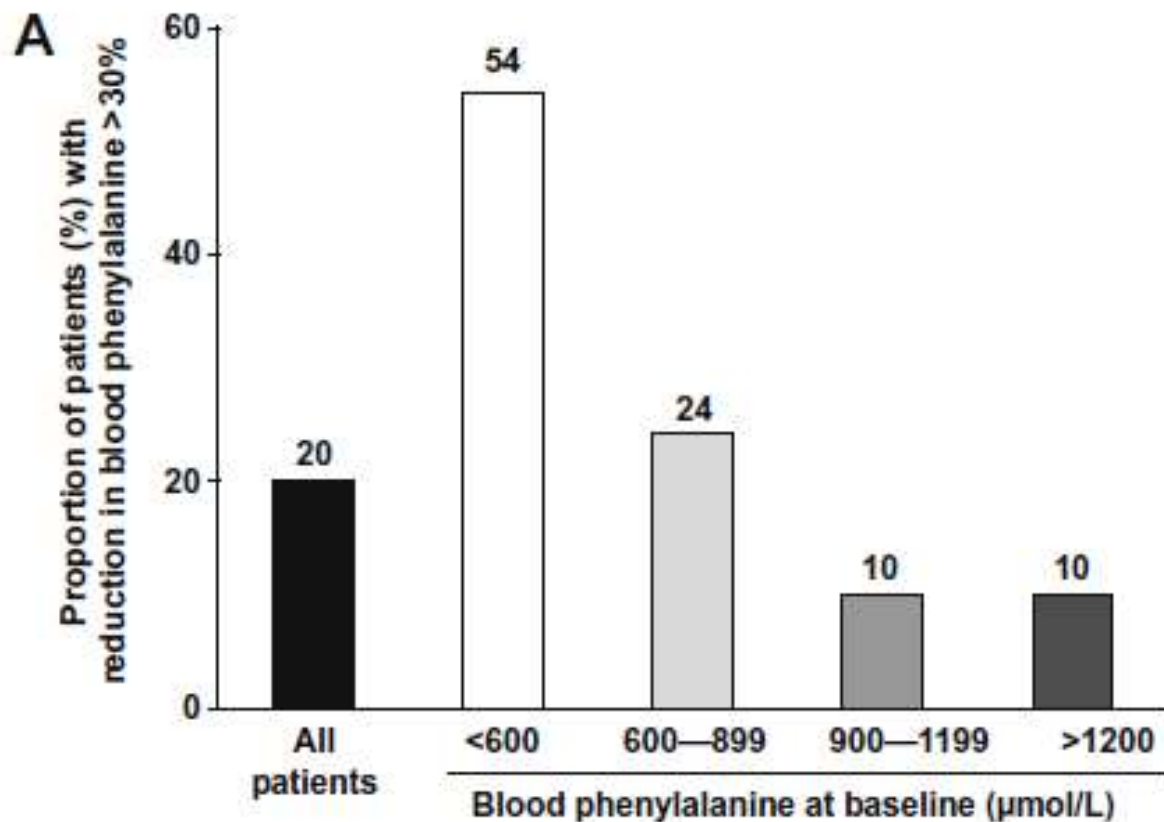
- Aggregation primarily results in amorphous structures, oligomers, and amyloid fibrils. Formation of these structures is strongly restricted by chaperones.

- **Molecular chaperone interact with, stabilize, and help proteins to acquire its functionally active conformation, without being present in its final structure.**

- Different classes of structurally unrelated chaperones exist in cells.

- Molekulární chaperony – zabraňují „misfoldingu“ proteinu, pomáhají proteinu získat funkční konformaci, nejsou přítomny v konečné struktuře proteinu.
- Mutace v *PAH* genu mohou vést ke změnám ve výsledné struktuře proteinu („protein misfolding“), které následně vedou k jeho degradaci event. agregaci.
- Tetrahydrobiopterin, BH₄ – molekulární chaperon pro PAH.
- Odpověď na terapii BH₄ závisí u pacienta s HPA/PKU na typu mutací v *PAH* genu – pacienti s mutací zachovávající zbytkovou aktivitu PAH (tj. pacienti s mírnějšími fenotypy) reagují na léčbu BH₄.





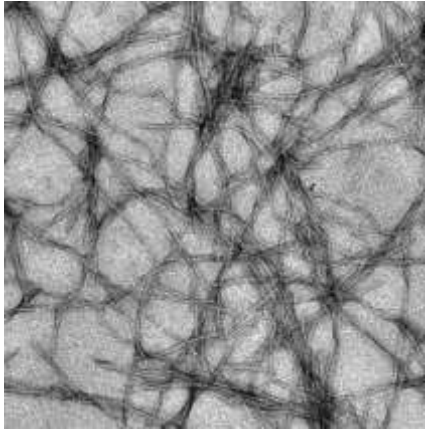
Efficacy of BH4 therapy in the management of HPA/PKU.

(A) Response rates (%) according to blood phenylalanine levels after sapropterin treatment (10 mg/kg/day) over a period of 8 days.

Molecular Genetics and Metabolism 96 (2009) 158–163

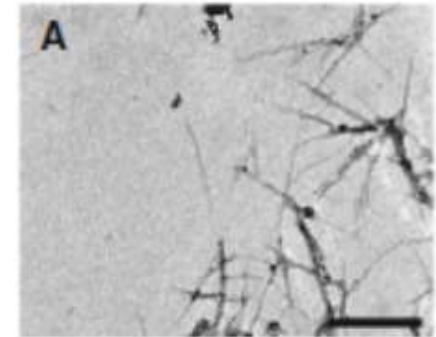
Hladina Phe v krvi:

- Mírná HPA: 120 - 600 $\mu\text{mol/L}$
- Mírná PKU: 600 - 1200 $\mu\text{mol/L}$
- Klasická PKU: > 1200 $\mu\text{mol/L}$



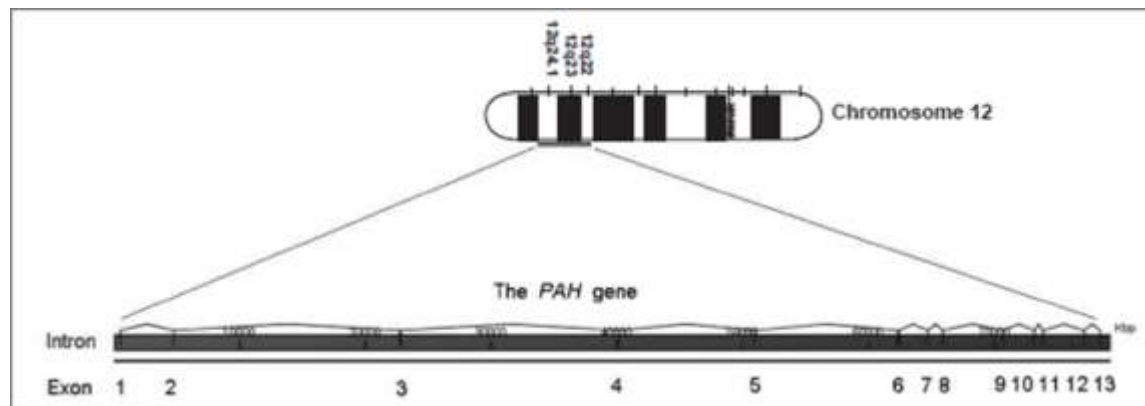
Amyloid fibril formation by proteins and polypeptides:

- Well-known amyloid-associated disease - Alzheimer's disease, in which the β -amyloid polypeptide aggregates and learning and memory is affected; Parkinson's disease, in which α -synuclein protein aggregates and motor function is affected; and type 2 diabetes, in which the islet amyloid polypeptide (IAPP, or amylin) aggregates and pancreatic β -cell function is affected.
- It was determined that the single amino acid could form amyloid-like assemblies. The formed assemblies had the same typical ultrastructural morphology as protein amyloids when visualized using electron microscopy.
- **The ability of phenylalanine to form amyloid assemblies was demonstrated in the brains of PKU-mice and PKU human patients, in which Phe is accumulated due to malfunction of PAH.**
- The mechanism of degeneration appears to be the induction of apoptotic cell death in various organs and tissues in which assemblies are being accumulated.



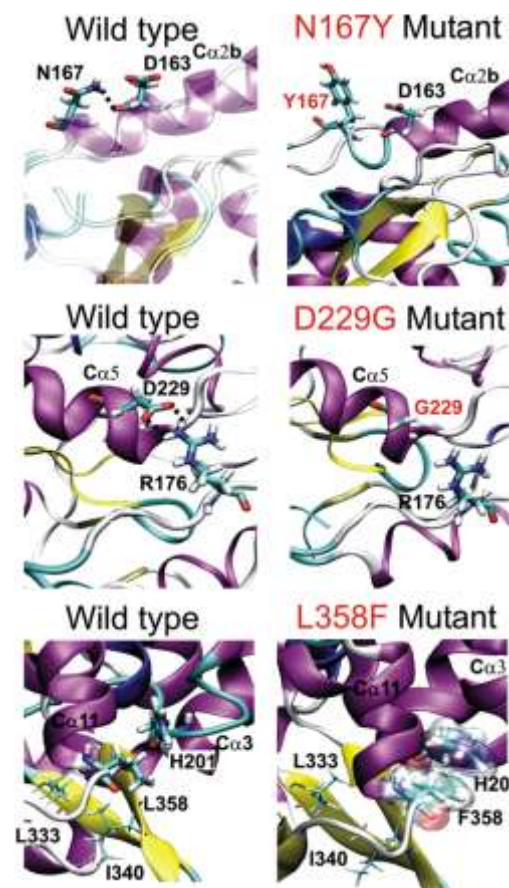
Ehud Gazit *J Inherit Metab Dis* (2016) 39:483–488

- Detekce sekvenčních změn malého rozsahu: PCR + sekvenční analýza exonů a přilehlých intronových oblastí
- Detekce rozsáhlých delecí/duplikací: MLPA



Celkový počet pacientů: 758

- **Počet pacientů kompletním genotypem (2 mutace): 751 (99,1%)**
- **Počet pacientů s jednou mutací: 7**
- 77% mutací je typu *missense*.
- Nejčastější mutace: c.1222C>T, p.(Arg408Trp) – 42% mutantních alel



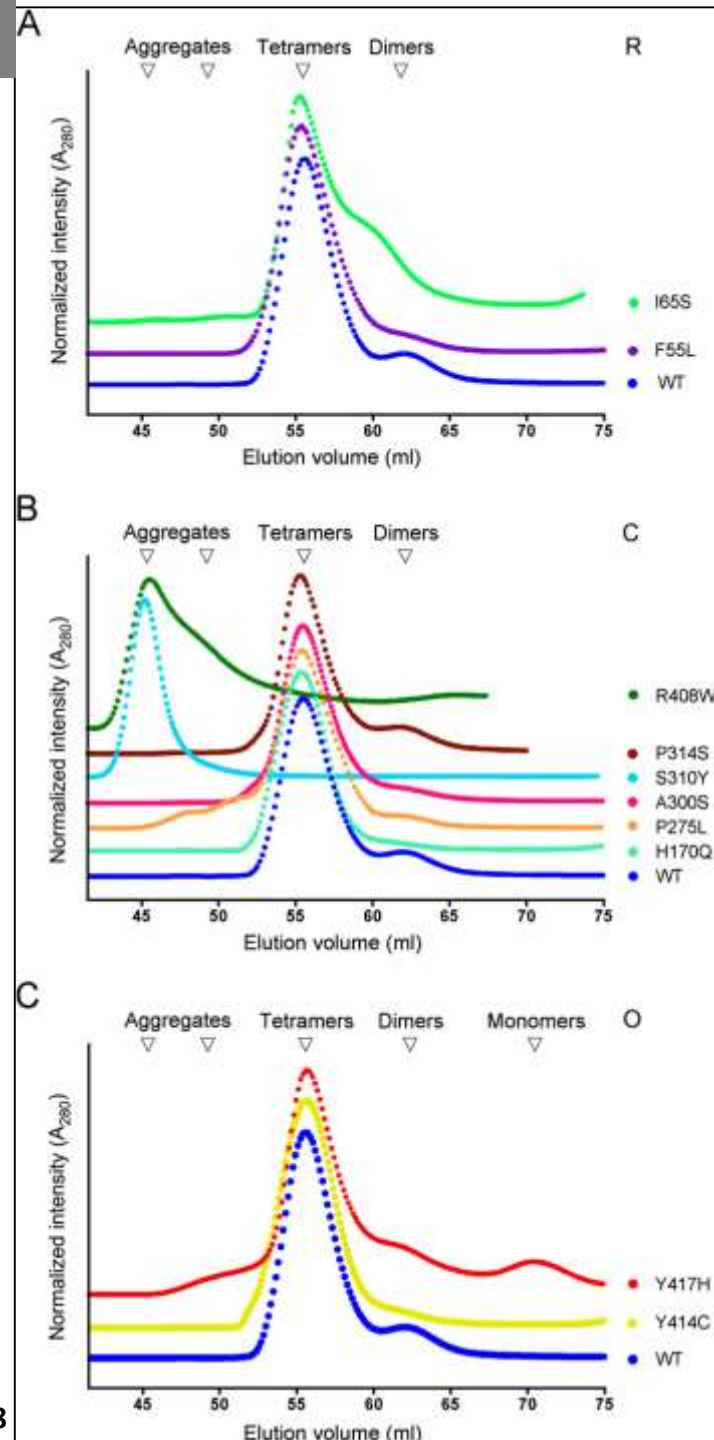
PAH mutations can lead to impaired tetramer assembly

Oligomerization profiles of wild-type and variant PAH were determined by size-exclusion chromatography. Arrows mark the elution volumes of soluble aggregates, tetramers, dimers, and monomers.

(A) Profiles of variants arising from mutations located in the regulatory domain (R). I65S showed increased amounts of dimers.

(B) Profiles of variants arising from mutations located in the catalytic domain (C). S310Y and R408W eluted as high-molecular-weight aggregates without any detectable tetramers.

(C) Profiles of variants arising from mutations mapping to the dimerization motif of the oligomerization domain (O). Y417H showed significant amounts of monomers and increased amounts of dimers.



Včasná diagnostika – test dle Guthrie (newborn screening, NBS)



- *Test dle Guthrie*
- Princip vyšetření moči chloridem železitým k průkazu PKU- patří k historii této vrozené metabolické poruchy
- 1934, kdy matka se svými dvěma mentálně retardovanými dětmi na klinice v Oslu vyhledala lékaře, profesora Asbjorna Follinga, známého v té době jeho vědeckými pracemi v biochemii. Při rutinním vyšetření nebyla příčina mentální retardace dětí zřejmá. Profesor Folling však věnoval dále pozornost vyšetření jejich moči. Provedl reakci, kdy k moči přidal $FeCl_3$. Výsledkem bylo zelené zbarvení, ale to Folling neočekával a dosud se s ní u člověka neseťkal. V průběhu následujících týdnů se mu podařilo izolovat substanci, která byla zodpovědná za neobvyklou reakci, kyselinu fenylopyrohroznovou - test nebyl specifický reagovaly i jiné látky
- Novou éru v diagnostice odstartovalo zavedení testu dle

Guthrie (od r.1975 – z kapky **krve**)

Roberta Guthrie, od r.1960 test díky jeho úsilí

Princip testu: fenylalanin - růst bakterií ***Bacillus subtilis*** –

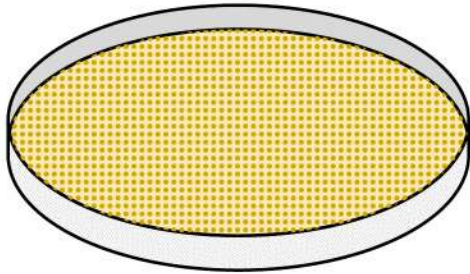
v kultivačním médiu s inhibítorem β -2-thienylalaninem , k růstu nutný fenylalanin.

2.den po narození – test, Robert Guthrie (1916-1995) - americký lékař, mikrobiolog, pracoval v Minesotě,

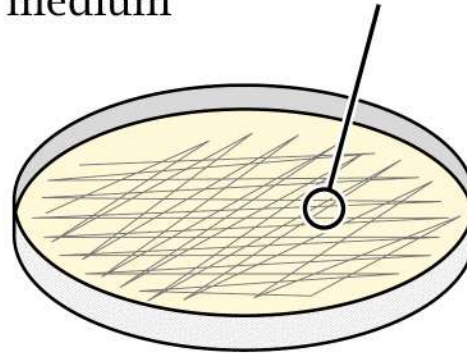


The Guthrie test for diagnosing phenylketonuria

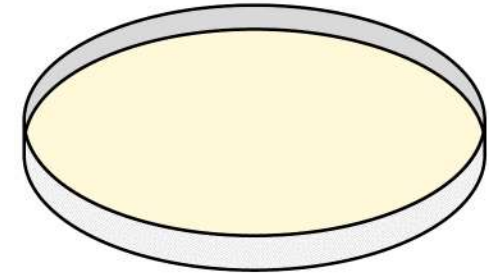
Grow *E. coli* Phe⁻ on rich medium



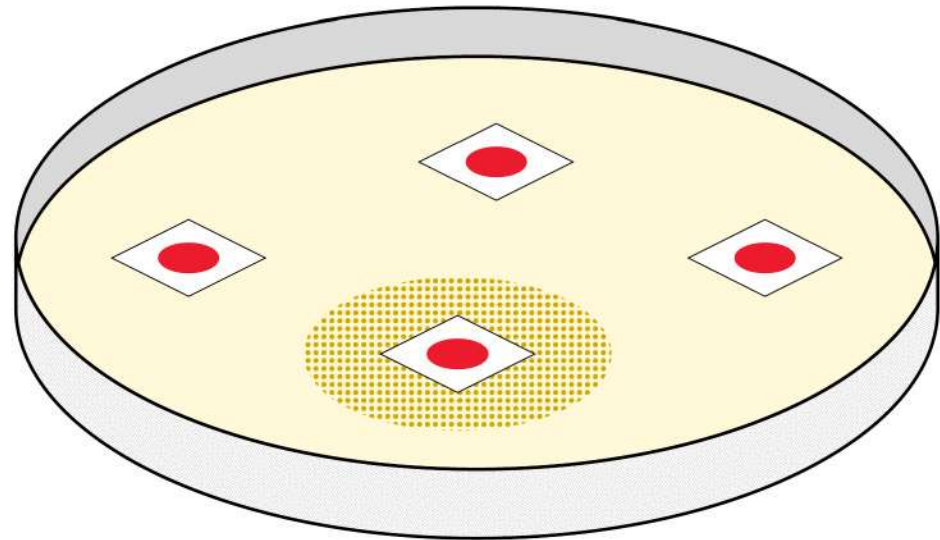
Spread on minimal medium



Cells persist, but do not grow



Place patients' blood samples on inoculated agar—bacteria will grow around samples containing excess phenylalanine



LNAA v léčbě PKU

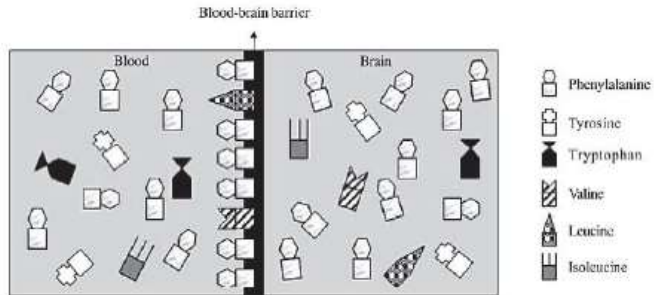


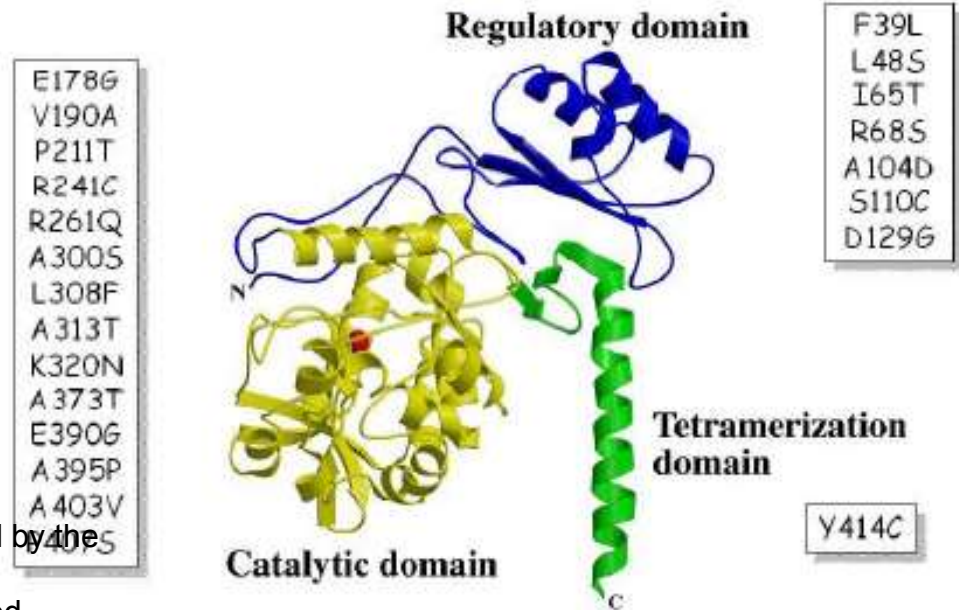
Figure 1. Phenylalanine competes with other LNAAs for the same carrier to pass the blood-brain barrier. High phenylalanine levels, as seen in PKU patients, reduce the brain uptake of other LNAAs and their availability in the brain.

http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2006/vol1-5/gmr0182_full_text.htm

Large Neutral Amino Acid Supplementation

Other novel therapeutic approaches can be categorized by the site of action or target organ (Figure 2) [17]. These categories include enteral, systemic, liver-directed approaches. Dietary restriction of Phe intake is an example of enteral approach. Alternatively Large Neutral Amino Acid (LNAA) can be used. LNAA can compete with the same transporter of Phe across the gastrointestinal and blood brain barrier to reduce Phe absorption and entry into the brain [18]. A double blind, placebo-controlled study indicated a significant decline in blood Phe concentration in patients with PKU treated with LNAA for 2 weeks suggesting that LNAA compete with the transport of Phe in the gastrointestinal tract [19]. These studies suggest that adding LNAA to the diet of patients with PKU could reduce blood Phe concentrations.

PAH Mutations Associated with BH4-Responsive HPA



Source: Nenad Blau (personal communication, Sept 2002) displayed on Eriandren H and Stevens R.C, The Structural Basis of Phenylketonuria. *Mol. Genet. Metab.* 1999 Oct; 68(2):103-125

Poruchy metabolismu aromatických AMK (Fenylalanin, Tyrozin)



FENYLALANIN → TYROZIN (fenylalaninhydroxyláza)

2. hypertyrozinémie

Tyrozinemie typ 1 - deficit enzymu *fumaryl acetoacetát hydroxylázy* v krvi se hromadí metabolit **sukcinylaceton**, který poškozuje **játra, ledviny, PNS a CNS** zvláštním projevem je sebepoškozování nemocného

Tyrozinemie typ 2 - deficit enzymu *tyrosin-aminotransferázy* (postižení očí, kůže a CNS)

Přechodná tyrozinemie nebo hyperfenylalanémie novorozenců

- opožděné spuštění aktivity enzymu *fenylalaninhydroxylázy*, přechodný vzestup tyrozinu v plazmě v prvních 2 týdnech života, daná opožděným zráním enzymů *tyrosinaminotransferázy* nebo *4-hydroxyfenylpyruvát-dioxygenázy* v játrech

3. Alkaptonurie defekt homogentisát-dioxygenázy

vysoká koncentrace **kyseliny homogentisové**

(oxidace homogentisátu na **benzochinonacetát** → generalizovaná pigmentace pojiva, sklér, boltců, kůže), arthritida (kyčle, kotníky, páteř), poškození ledvin (urolithiáza) a srdečních chlopní (regurgitace aortální nebo mitrální chlopně), kalcifikace aorty, moč na světle tmavne (**hnědý pigment alkapton**)

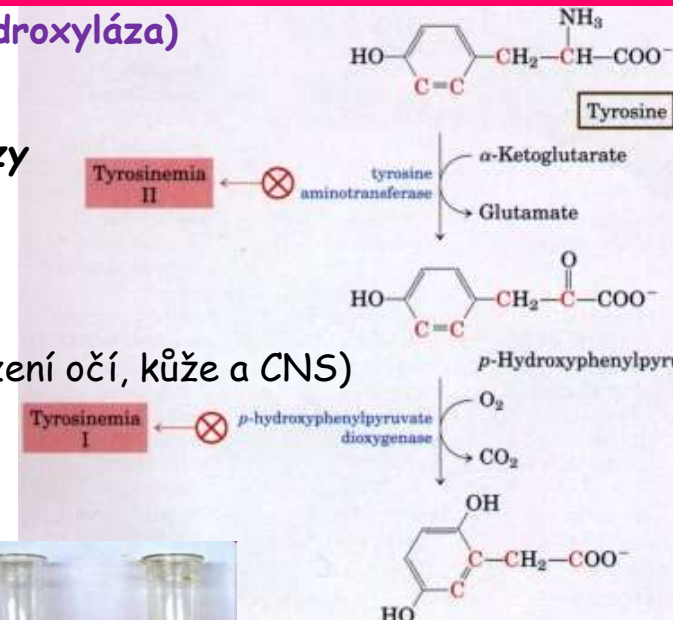
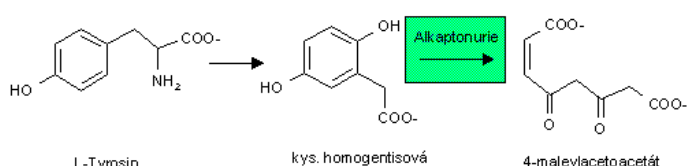
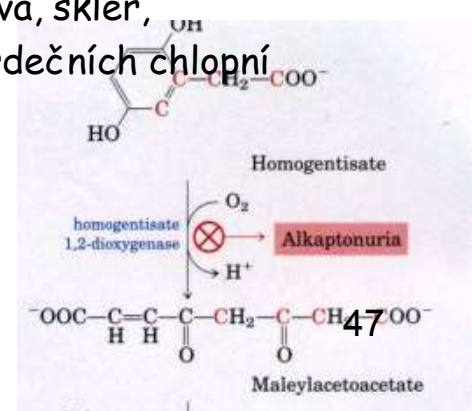


Fig. 3. Comparison of Colour of Freshly Voided Urine and Urine after 24 Hours



TEST



2. hypertyrozínémie

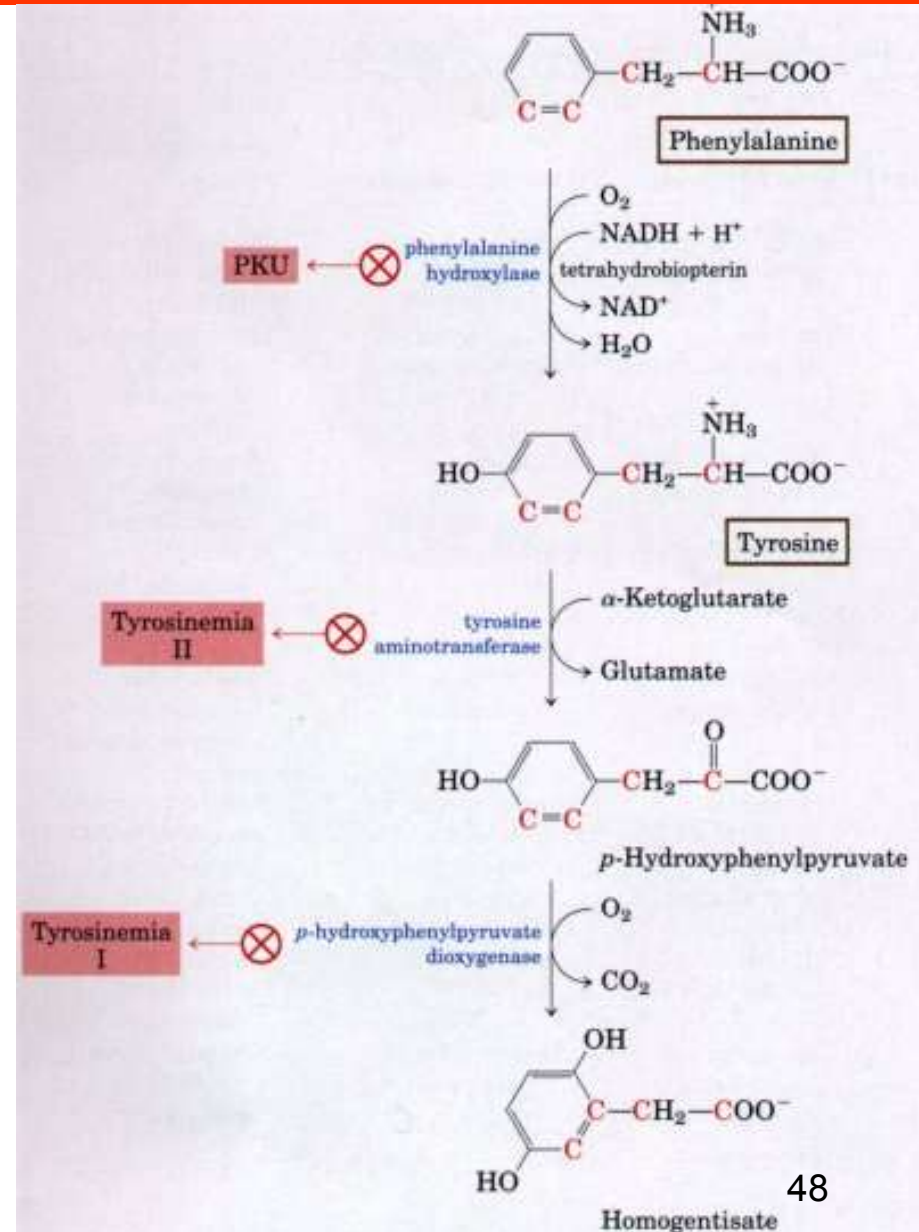
Tyrozínemie typ 2 - deficit enzymu tyrosin-aminotransferázy (postižení očí, kůže a CNS)

Tyrozínemie typ 1 - deficit enzymu fumaryl acetoacetát hydroxylázy v krvi se hromadí metabolit sukcinylaceton, který poškozuje játra, ledviny, PNS a CNS zvláštním projevem je sebepoškozování nemocného

Přechodná tyrozínemie nebo hyperfenylalanémie novorozenců - opožděné spuštění aktivity enzymu fenylalaninhydroxylázy,

Přechodný vzestup tyrozinu v plazmě v prvních 2 týdnech života, daná opožděným zráním enzymů tyrozinaminotransferázy nebo

4-hydroxyfenylpyruvát-dioxygenázy v játrech



Tyrosinemie II. (Richter-Hanhartův syndrom)

Tyrosinemie II-obdoba prvního typu, ale defekt je v jiném enzymu - tyrosin aminotransferasa- v. kroku metabolismu (katabolismu) tyrosinu

Konverse tyrosinu na acetát-manifestován onemocněním zvaným **keratosa**

- velmi vzácné onemocnění, AR dědičné
- zvýšená hladina tyrosinu (40-50mg/l plasmy)
- mírná mentální retardace, **hyperkeratózy** (na dlaních a ploskách nohy), zanícení spojivek, ulcerace na rohovce, nystagmus, glaukom (zakalení krystaly tyrosinu), tyrosin a jeho metabolity jsou přítomny v moči
- léčba dietou



hyperkeratossi



Tyrozinemie typ I.

- deficit enzymu fumaryl acetoacetát hydroxylázy

v krvi se hromadí metabolit sukcylnilaceton, který poškozuje játra, ledviny, PNS a CNS
zvláštním projevem je sebepoškozování nemocného

Tyrosinémie I. typu (tyrosinóza)

defekt ve fumarylacetacetaťhydroláze (exprimována hlavně v játrech a ledvinách)

a pravděpodobně také maleinylacetaťhydroláze, **AR dědičné**

vysoká hladina Tyr (60-120mg/l plasmy) i Met, vysoké hladiny metabolitů ovlivňují činnosti jiných enzymů a transportních systémů - **těžká patologie** -

hepatorenální selhání (cirhóza jater, hepatomegalie, koagulopatie,

Fanconiho syndrom - onemocnění proximálních tubulů ledvin, vylučování fosfátů → hypofosfátemická křivice),

postižení CNS (křeče, hyperextenze,

sebepoškozování, zástava dechu), ascites, hromaděné metabolity

(maleylacetoacetát, fumarylacetoacetát)

a jejich deriváty (sukcynilaceton a sukcynilacetoacetát)

tvoří deriváty glutathionu (vyřazení z funkce jednoho antioxidantu)

- poškození tkáně radikály



- Deficitu → fumarylacetoacetasu
- Akutní průběh v kojeneckém věku
- Hepatorenální postižení s akutní jaterní dysfunkcí a Fanconiho syndromem
- porfyrické krize-bolesti břicha
- Chronicky- ci jater a ca v cirhose
- Léčba dietou a nitisonem, transplantace jater

• **akutní tyrosinóza** bez léčby → průjmy, zvracení, neprospívání kojenců

• zápach po hlávkovém zelí, **umírají do 6-8 měsíců (jaterní selhání)**

• **chronická tyrosinémie** → příznaky stejné, ale slabší, umírají do 10 let

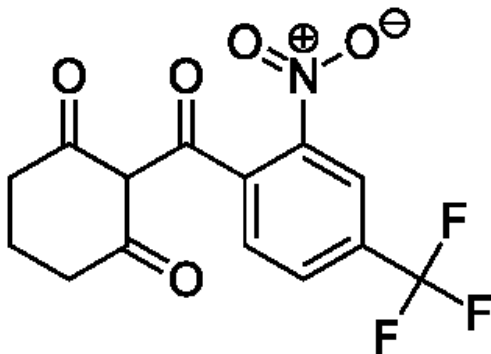
• **léčba** dříve dietou bez Phe, Tyr; dnes **NTBC** → **blokátor p-hydroxyfenylpyruváthydroxylázy**

Léčba

Nitison - znám jako NTBC, látka původně vyvinuta jako herbicid. Nyní - používán jako látka **zpomalující účinky tyrosinemie typu I**. Poprvé k této indikaci použita v r.1991-odvrátila nutnost **transplantace jater poškozených tímto onemocněním, jako lék první volby. Je studována v souvislosti s alkaptonurií.**

Komerční název léku - **Orfadin**.

Mechanismus účinku nitisonu zahrnuje reversibilní inhibici 4-hydroxyphenylpyruvate oxidasy, tak účinkuje preventivně, zabrání tvorbě kyselinu maleylacetoacetic acid a fumarylacetoacetic acid, mohou být potenciálně konvertovány na succinylaceton, toxin který poškozuje játra a ledviny



Poruchy metabolismu aromatických AMK (Fenylalanin, Tyrozin)

FENYLALANIN → TYROSIN (fenylalaninhydroxyláza)

3- alkaptonurie

defekt homogentisátový

vysoká koncentrace kyseliny

homogentisové (oxidace homogentisátu na benzochininacetát → generalizovaná pigmentace pojiva, sklér, boltců, kůže), arthritida (kyčle, kotníky, páteř), poškození ledvin (urolithiáza-močové kameny) a srdečních chlopní (regurgitace aortální nebo mitrální chlopně), kalcifikace aorty, moč na světle tmavne (**hnědý pigment alkapton**)

Léčba NTBC

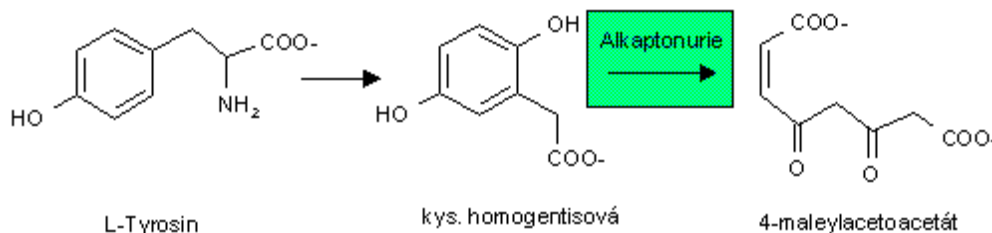
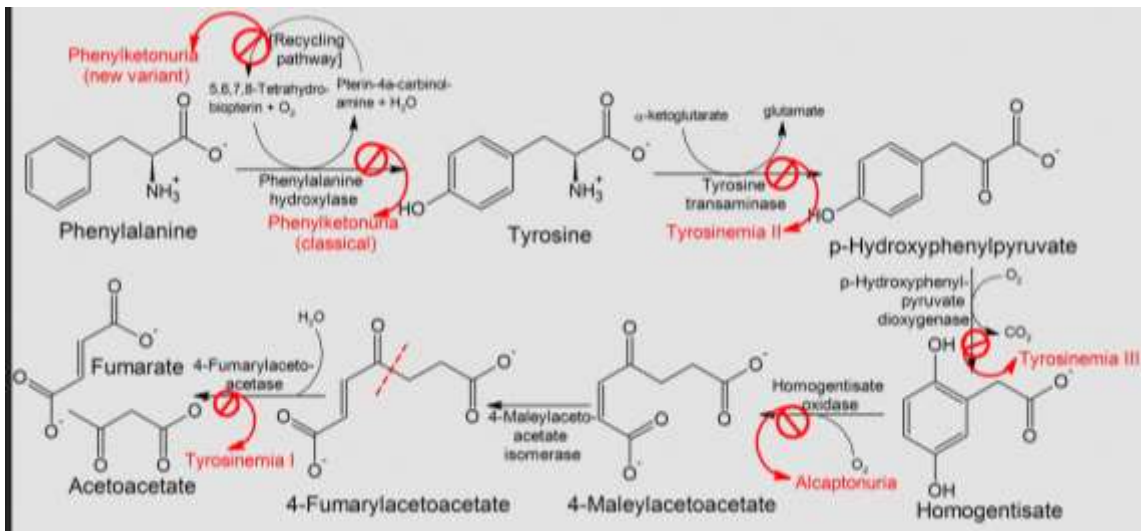


Fig. 3. Comparison of Colors of Freshly Voided Urine and Urine after 24 Hours

In most ethnic groups, the prevalence of alkaptonuria is between 1:100,000 and 1:250,000.^[4] In Slovakia and the [Dominican Republic](#) the disease is much more common, with prevalence estimated at 1:19,000 people.^[4] As for Slovakia, this is not the result of a single mutation but due to a group of 12 mutations in specific "hot spots" of the *HGD* gene.^[4] The Slovakian clustering probably arose in a small area in the northwest of the country and spread after the 1950s due to migration.^[4]



Poruchy metabolismu větvených AMK (Val, Leu, Isoleucin)

1. **transaminace (transamináza)** → 2-oxokyseliny (val → 2-oxoisovalerát, leu → 2-oxokapronát, ile → 2-oxometylvalerát)
2. **dekarboxylace**
3. **dehydrogenace (specifická multienzymová dehydrogenáza)**

1) Hypervalinémie nízká aktivita společné transaminázy

pro valin, velmi vzácné onemocnění,

2) Nemoc javorového sirupu (leucinóza)

deficit nebo nedostatečná činnost dekarboxylázy
zvýšené hladiny Val, Leu i Ile a jejich 2-oxokyselin

poškození mozku, neprospívání, spavost, kóma, později vegetativně nervové problémy (poruchy činnosti srdce - bradykardie, hypotermie, až apnoe), těžká dehydratace

3) Intermittentní formy leucinózy

méně závažné modifikace dekarboxylázy

metabolismus Val, Ile a Leu je snížen, ale zachován, příznaky leucinózy se objevují později a příležitostně

(po požití velkého množství AMK)

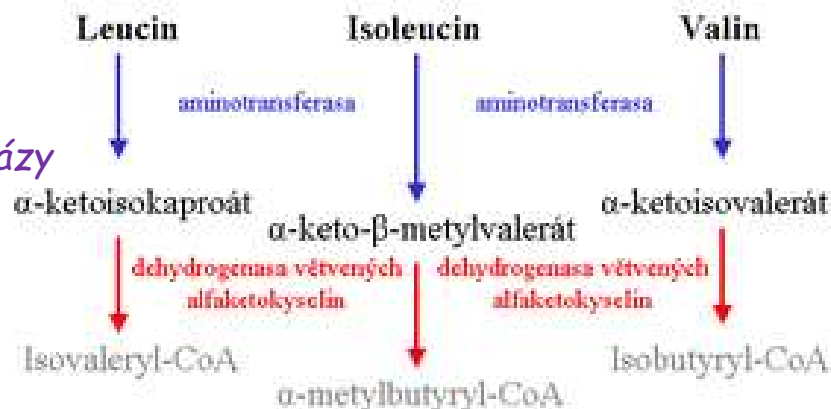
4) Isovalerová acidémie deficit isovaleryl-CoA-dehydrogenázy

metabolická acidémie (pH 7,3), ketonurie, hyperamonémie, hypokalcémie, hyperlactémie, zápach dechu, tělních tekutin, kóma po požití velkého množství bílkovin, povšechná pancytopenie

5) Methylmalonová acidurie

vzniká při avitaminóze B12, B12 je kofaktorem enzymu měnícího methylmalonyl-CoA na sukcinyl-CoA

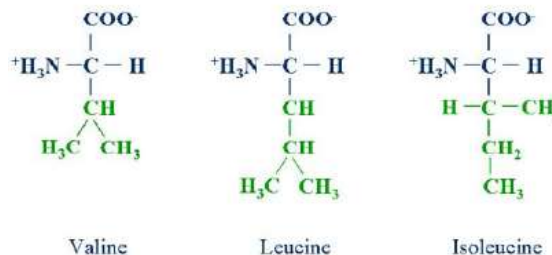
TEST (radikálová isomerace), metabolická acidóza



Přehled metabolismu rozvětvených AMK

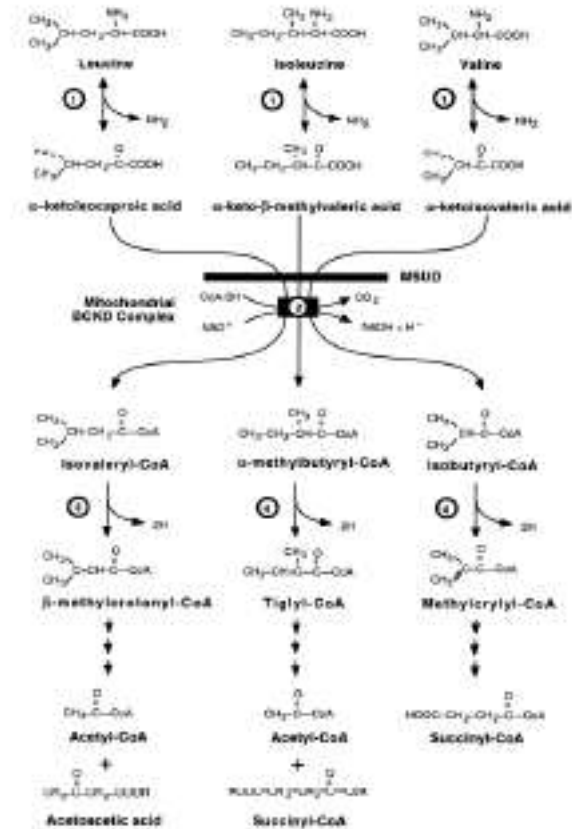
1. **transaminace (transamináza)** → 2-oxokyseliny (val → 2-oxoisovalerát, leu → 2-oxokapronát, ile → 2-oxomethylvalerát)
2. **dekarboxylace**
3. **dehydrogenace** (specifická multienzymová dehydrogenáza)

- první tři reakce společné pro všechny tyto AMK, AMK procházejí játry
- **Společné reakce**
- **transaminace** (1. reakce) společnou **transaminázou** (aktivita nejvyšší v myokardu a kosterním svalu, nízká v játrech) - vznikají příslušné 2-oxokyseliny (val → 2-oxoisovalerát, leu → 2-oxokapronát, ile → 2-oxomethylvalerát); **blok u hypervalinémie**
- **dekarboxylace** (2. reakce) a **dehydrogenace** (3. reakce) - probíhá v mitochondriích → specifická multienzymová dehydrogenáza → vzniká acyl-CoA o jeden uhlík kratší než původní oxokyselina; **blok (2 - dekarboxylace) u nemoci javorového sirupu; blok (3 - dehydrogenace) u isovalerové acidémie**
- **výsledek:**
- Val → methylakryloyl-CoA
- Leu → β-metylkrotonoyl-CoA
- Ile → tigloyl-CoA



Srovnejte konečné produkty

Leucin	acetyl-CoA + acetoacetát	ketogenní AK
Isoleucin B₁₂	acetyl-CoA + sukcinyl-CoA	smíšená AK
Valin B₁₂	sukcinyl-CoA	glukogenní AK



Rozvětvené AK - shrnutí

- BCAA (branched chain amino acids)
- všechny tři jsou esenciální
- první reakce katabolismu jsou podobné (transaminace, oxid. dekarboxylace, dehydrogenace), konečné produkty jsou různé
- leucin - ketogenní AK
- po jídle je jejich zastoupení v krvi vysoké (cca 70 % všech AK), protože játra je nevyužívají (**nedostatek aminotransferas**)
- **nejvíce jsou využívány ve svalech a CNS**
- příznivě ovlivňují katabolické stavy (infuze)

1) Hypervalinémie

nízká aktivita společné *transaminázy* pro valin, velmi vzácné onemocnění,

2) Nemoc javorového sirupu (leucinóza) 1:185 000, dehydrogenáza větvených alfa-ketokyselin

deficit nebo nedostatečná činnost *dekarboxylázy*

zvýšené hladiny Val, Leu i Ile a jejich 2-oxokyselin

poškození mozku, neprospívání, spavost, kóma, později vegetativně nervové problémy (poruchy činnosti srdce - bradykardie, hypotermie, až apnoe), těžká dehydratace

3) Intermittentní formy leucinózy, méně závažné modifikace dekarboxylázy

metabolismus Val, Ile a Leu je snížen, ale zachován, příznaky leucinózy se objevují později a příležitostně

(po požití velkého množství AMK)

4) Isovalerová acidémie, 1:230 000 (svět), isovaleryl-CoA dehydrogenáza

deficit *isovaleryl-CoA-dehydrogenázy*

metabolická acidémie (pH 7,3), ketonurie, hyperamonémie, hypokalcémie, hyperlactémie, zápach dechu, tělních tekutin, kóma po požití velkého množství bílkovin, povšechná pancytopenie

5) Methylmalonová acidurie, metylmalonyl-CoA mutáza

vzniká při *avitaminóze B12*, B12 je kofaktorem enzymu měnícího metylmalonyl-CoA na sukcinyl-CoA (radikálová isomerace), metabolická acidóza

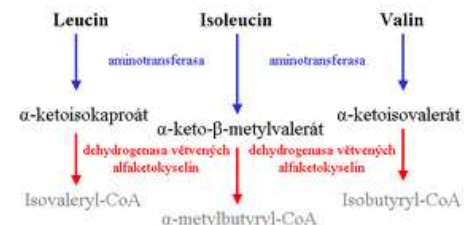
2) Nemoc javorového sirupu (Leucinóza), MSUD

Porucha v mtb Leu, Ile, Val - rozvětvené aminokyseliny - deficit dehydrogenasy rozvětvených AK, hromadí se **organické kyseliny** (alfa -ketokyselinové deriváty) - závažná toxicita. **Deficit nebo nedostatečná činnost dekarboxylázy. Dehydrogenaza/dekarboxyláza-multienzymový komplex** volně asociovaný s vnitřními membránami **mitochondrie**.

Gen je lokalizován na 19q13.1-q13.2 (E1 α), 6p21-p22 (E1 β), 1p31 (E2), 7q31-q32 (E3);

v ČR je diagnostikováno nejméně 7 případů

MSUD patří mezi **organické acidurie**



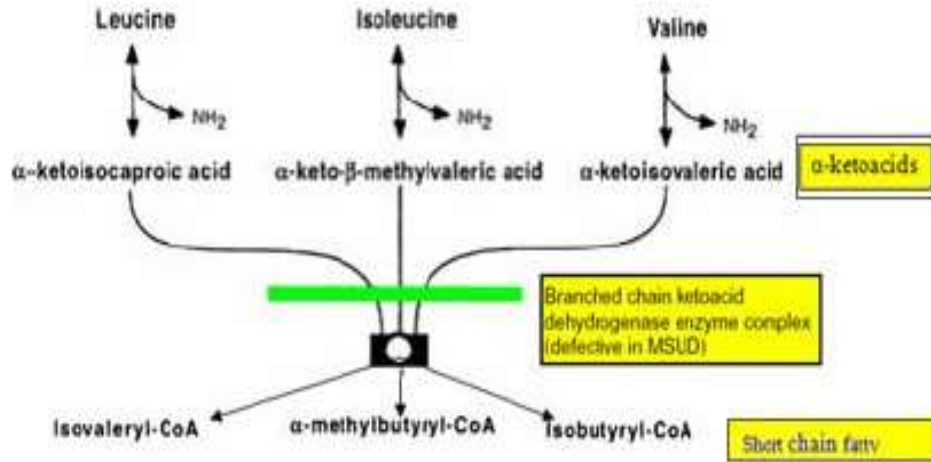
- Přebytek toxic. metabolitů - vždy po zátěži zvýšeným množstvím rozvětvených AK, např. novorozenecký úbytek porodní váhy, odbourávání proteinů - při horečce, hladovění, diety, nemoc, toxicita pro mozek
- Několik variant, **mutace genů pro podjednotky MSUD, AR,**
- **Klinický projev:** (pot, moč - zápach po javor. sirupu, karamelu, suš. ovoce)
- Novorozenec - časně po narození, letargie, špatně přijímají kojení - slabě sají, podrážděnost, mírnější forma - mentální retardace. Hyperacidosa, hyperamonemie → křeče, kóma - bez léčby smrt!!!

Léčba:

- **Dieta** se sníženým leucinem a limitovaným valinem a izoleucinem, doplnění spec. výživou s AK důležitými pro růst (přispívají zdrav. pojišťovny)
- **Opatření:** zabránit hladovění, omezení příjmu proteinů - nahraz. glukosou /v době nemoci apod.)
- **Co nejdříve zahájit léčbu!!!** po 14.dnu zahájení léčby - postižení intelektu, jen vzácně - normální intelekt

3) Intermittentní formy leucinózy, méně závažné modifikace dekarboxylázy

Intermittentní formy méně závažné modifikace *dekarboxylázy* metabolismus Val, Ile a Leu je snížen, ale zachován, příznaky leucinózy se objevují později a příležitostně (po požití velkého množství AMK)



Leucinoso



- Perakutní manifestace intermitentní varianty
- Koma, dystonie
- zvláštní zápach po karamelu/javorovém sirupu
- Léčba akutních dekompenzací
- Léčba dlouhodobá-dieta

Při narození se děti jeví normální a vývoj klinických příznaků nastupuje mezi 4.–7. dnem života. Prvními známkami jsou letargie a špatné sání následované alternativně hyper- nebo hypotonií, podrážděností a dystonií (připomínající boxování nebo jízdu na kole). Typický je zápach moči, potu, dechu a ušního mazu po javorovém sirupu (karamelu, sušených hruškách, nebo maggi). Onemocnění dále progreduje k těžké ketoacidóze, hyperamonémii s křečemi a kómatem (a bez léčby ke smrti následkem edému mozku)

<http://losyoruguas.com/archivos/0686.gif>

4) Isovalerová acidémie

deficit *isovaleryl-CoA-dehydrogenázy*, metabolická acidemie (pH 7,3), ketonurie, hyperamonémie, hypokalcémie, hyperlactémie, zápach dechu, tělních tekutin, kóma po požití

velkého množství bílkovin, povšechná pancytopenie

patří mezi **organické acidurie**, je způsobená neschopností organismu zpracovávat aminokyselinu **leucin** díky deficitu isovaleryl-CoA dehydrogenázy. Enzym isovaleryl-CoA dehydrogenasa je třetím stupněm v metabolismu organických kyselin s rozvětveným řetězcem z leucinu. Při deficitu tohoto metabolitu.^[1]

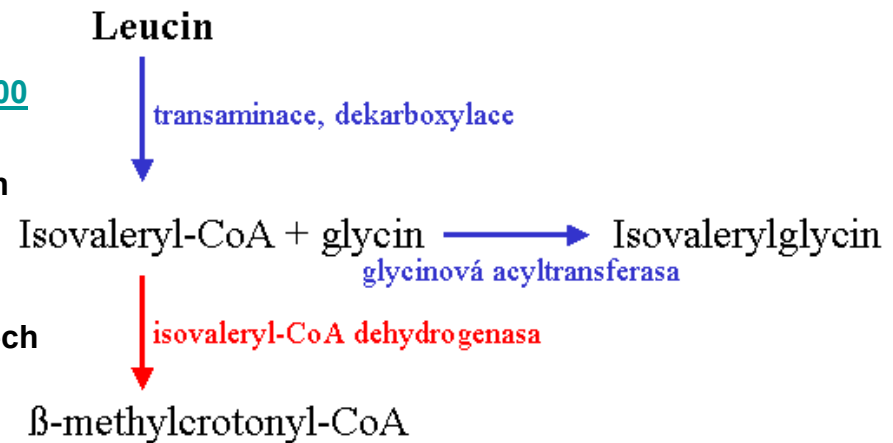


IVA je **AR dědičná** nemoc (gen 15q14-q15-IVD, OMIM #243500)

Od 1. 10. 2009 je součástí celoplošného **novorozeneckého screeningu** v ČR. Pro výskyt IVA svědčí zvýšený C5 karnitin (isovalerylkarnitin). Při podezření na IVA se ihned provádí analýza acylkarnitinů v plazmě (potvrzuje zvýšený C5) a analýza organických kyselin v moči (prokáže isovalerylglycin) k potvrzení diagnózy. V některých případech se IVA dalšími vyšetřeními neprokáže, protože první screeningový test ji není schopen odlišit od neškodné laboratorní odchylky – 2-methylbutyrylglycinurie.^[1]

LÉČBA: prevence katabolických stavů pacienta a hladovění

- nízkoproteinová dieta s restrikcí leucinu (Dieta s omezením bílkovin spočívá v konzumaci povoleného množství speciálních nízkobílkovinných potravin, které si pro svou výživu zajišťuje každý pacient sám a zdravotní pojišťovny je nehradí.)
- suplementace **glycinem** a **karnitinem** (glycin umožňuje tvorbu isovaleryl-glicinu, který není tak toxický a lze s jeho pomocí odbourat toxicitější isovaleryl-CoA)
- při každé běžné virové nebo bakteriální infekci je nutné v raném stádiu nemoci krátkodobě ještě více omezit příjem bílkovin a poskytnout více energie ve formě glukózy s inzulínem pomocí nitrožilní infuze^[1]
- v době akutních atak je nutné použít eliminační metody, které z těla vyfiltrují toxické metabolity



- Deficit IVA-CoA DH
- Perakutní/intermitentní průběh
- Kóma s acidosou a ketonurií, zápach zpocených nohou
- Léčba akut. dekompenací-eliminace
- Léčba dlouhodobá-dieta, karnitin, glycin
- Novorozenecký screening

zápach „zpocených nohou“ či „zpocených ponožek“ (díky akumulaci izovalerové kyseliny),

5) Metylmalonová acidurie

vzniká při **avitaminóze B12**, B12 je kofaktorem enzymu měnícího metylmalonyl-CoA na sukcinyl-CoA (radikálová isomerace), metabolická acidóza, patří do skupiny **organických acidurií**.

- porucha metylmalonyl-CoA mutázy (přeměňuje izoleucin, valin, methionin a threonin, podílí se na syntéze CHOL a MK). **AR dědičná**.
- **Klinický obraz**: krátké bezpříznakové období po narození; pak zvracení; letargie; progredující porucha vědomí; **edém mozku**; selhání jater a ledvin; děti umírají pod obrazem **sepsy**, krvácení nebo **šokového stavu**;
- **v akutním stádiu** - ketoacidóza a laboratorní známky jaterního a ledvinného selhání;
- **v krvi i moči** je vyšší glycin, valin, methionin a některé organické kyseliny, hlavně **metylmalonová**.

Diagnóza

- vyšetření organických kyselin a AMK v moči a krvi;
- přesný typ defektu určí enzymatické vyšetření kultivovaných fibroblastů.
- **Terapie** při podezření by měl být zastaven **přísun bílkovin** a musí se zabránit katabolismu - koncentrovaná glc infúze; při včasné léčbě může být prognóza dobrá;
- u kriticky nemocných musíme k detoxikaci užít eliminační metody;
- se sestupnou účinností: **hemodialýza**, **hemodiafiltrace**, **peritoneální dialýza** a **výměnná transfúze**; nutná je celoživotní dieta s omezením příjmu přirozených bílkovin s přidavkem směsi eseciálních AMK bez **izoleucinu**, **valinu**, **methioninu** a **threoninu**.



- novorozenecká forma: ataky ketoacidózy s hyperamonémií a kómatem
- mírnější formy-intermitentní ataky encefalopatie
- chronické problémy: nefropatie progredující do renálního selhání a různá míra postižení CNS (pac.na obrázku-hluchota, němá), infekce Candida sp.
- léčba: restrikce IMTV, sterilizace střeva, u části pacientů B12, agresivní léčba akutních atak

<http://images.google.com/images?imgurl=http://www.toby-churchill.com/files/images/lynn5.jpg>

Poruchy metabolismu sirných AMK

Homocystinurie

porucha aktivity β -*cystathionin syntetasy* (transsulfurace methioninu na cystin)
projevy jsou celkem rozmanité a postihují různé tkáně a orgány -
porucha duševního vývoje, **marfanoidní fenotyp**
(vysoká štíhlá postava, arachnodaktylie, kyfosa, skoliosa, osteoporóza),
ektopie čoček, glaukom a centrální i periferní trombembolické příhody

Cystinóza

je důsledkem **deficitu lyzozomů** buněk uvolňovat **cystin**,
který se v nich pak hromadí

hromaděním je postižen RES (slezina, játra, uzliny a kostní dřeň
poškození ledvin - glykosurie, fosfaturie, albuminurie, hyperaminoacidurie,
chronická acidóza a uremie

Cystinurie

AR porucha **transportu AMK - cystinu, lysinu, ornitinu a argininu** v ledvinách a ve střevě, renální a střevní problémy, cystin v moči krystalizuje



Poruchy metabolismu Tryptofanu a Tyrozinu

Hartnupova choroba -AR porucha **transportérů neutrálních AMK** v ledvinových tubulech
a tenkém střevě, deficit tryptofanu - kožní změny

1) Homocystinurie

porucha aktivity β -cystathionin syntetasy (transsulfurace methioninu na cystin), může vést ke zvýšené hladině **homocysteinu** v krvi. Projevy jsou celkem rozmanité a postihují různé tkáně a orgány - porucha duševního vývoje, marfanoidní fenotyp (vysoká štíhlá postava, arachnodaktylie, kyfosa, skoliosa, osteoporóza), ektopie čoček, glaukom a centrální i periferní trombembolické příhody

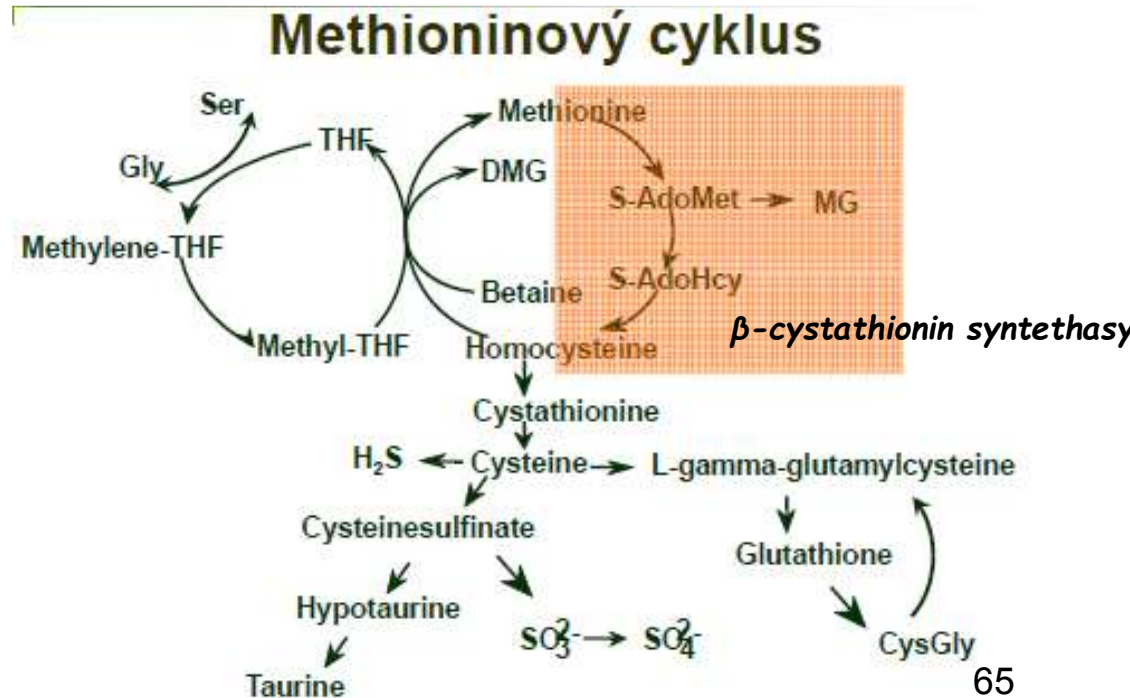
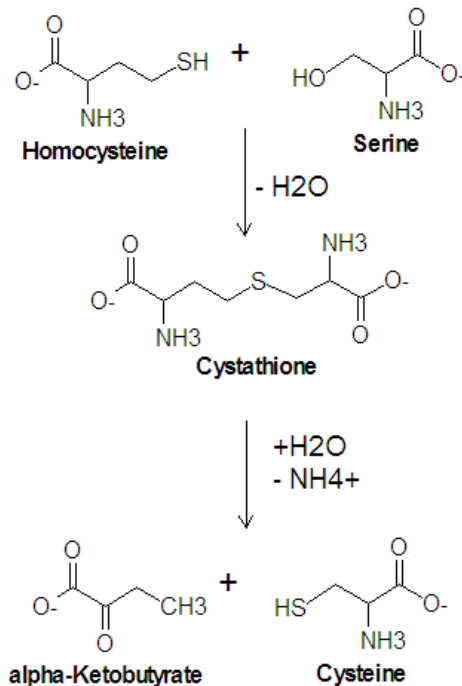
AR dědičná četnost 1 : 200 000

klinický obraz: projevy nejsou zřetelné hned po narození, ale v dalším vývoji dochází k symptomům postihujícím různé tkáně a orgány

- objevují se v batolecím nebo předškolním věku - porucha duševního vývoje (psychomotorická retardace v 60% případů^[4]), marfanoidní fenotyp (vysoká štíhlá postava, arachnodaktylie, kyfosa, skoliosa, osteoporóza), ektopie čoček, glaukom a centrální i periferní trombembolické příhody
- luxace čoček způsobují silnou myopii, trombózy vznikají nejčastěji na bazi lební a ohrožují na životě, dochází ke gangrénám orgánů, které zpravidla ukončí život nemocného v 20.-30. roce
- atrofie zrakového nervu, cor pulmonale, hypertenze
- **laboratoř:** zvýšení homocysteinu v krvi, častá metabolická osteopatie
 - nutno potvrdit na enzymatické a molekulární úrovni
- **dif. dg:** homocysteinémie je i při - poruše metabolismu metylmalonové kys., kobalaminu nebo při nedostatku B12
- **terapie:** část pacientů (cca 50%^[4]) příznivě reaguje na vysoké dávky pyridoxinu (vit B6) (v množství 300-900 mg/d^[4]), který reguluje činnost β -cystathionin syntetasy
 - je nutné zahájit dietní léčbu s omezeným přísunem methioninu
 - je dostupná prenatální diagnostika

Homocystein

- Homocystein (systematický název **2-amino-4-sulfanylbutanová kyselina**) je aminokyselina, která vzniká při normálním metabolismu u lidí a jiných savců z aminokyseliny methioninu. Normálně se odbourává na potřebnou aminokyselinu cystein pod vlivem vitaminů B (zvláště B₆, B₁₂, kyseliny listové).
- Nedostatek těchto vitaminů, například ve stravě vegetariánů, anebo vzácná dědičná choroba „**homozygotní homocystinurie**“^[1] může vést ke zvýšené hladině homocysteinu v krvi.



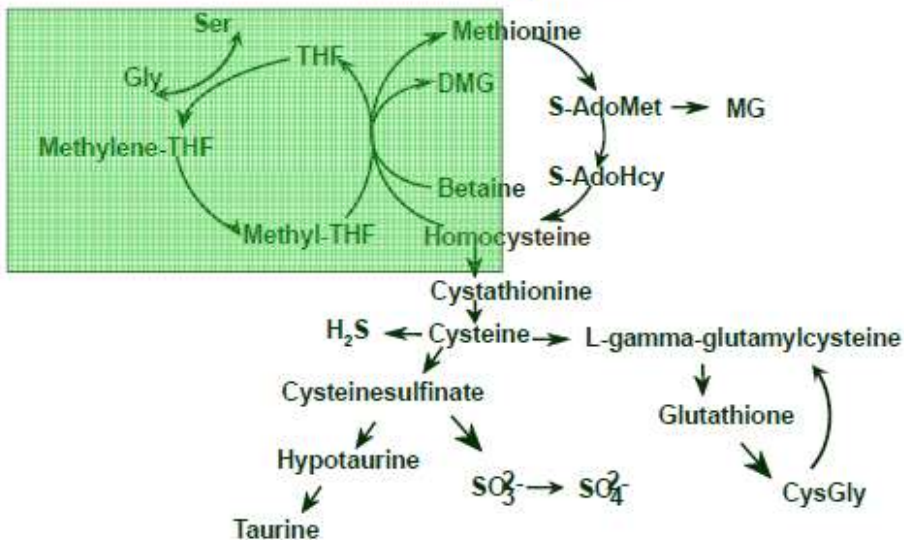


Fig. 21.2 M.G., a 6-year-old boy with homocystinuria. He had short stature and genu valgum.

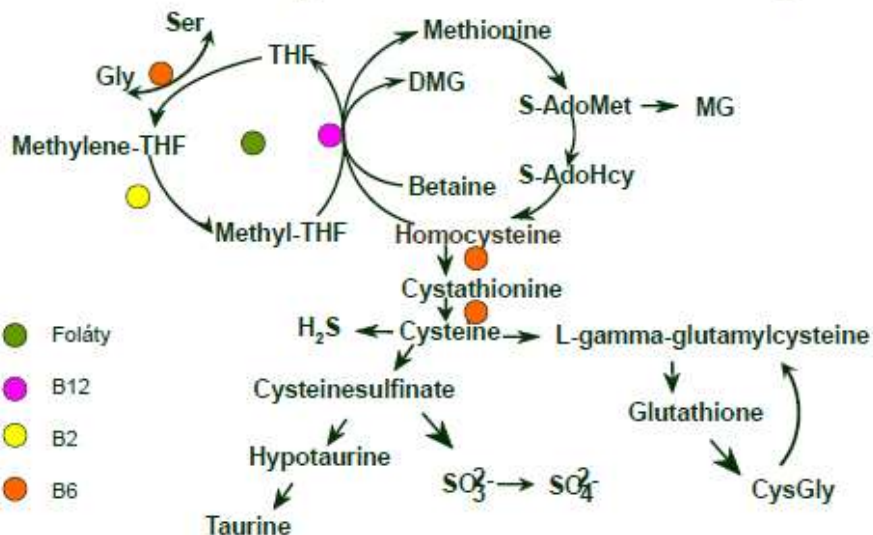


Fig. 21.3 Closer view illustrates M.G.'s eyes. Subluxated lenses had previously been removed bilaterally, after which he developed glaucoma in the left eye. He had fair skin and hair and a pronounced malar flush.

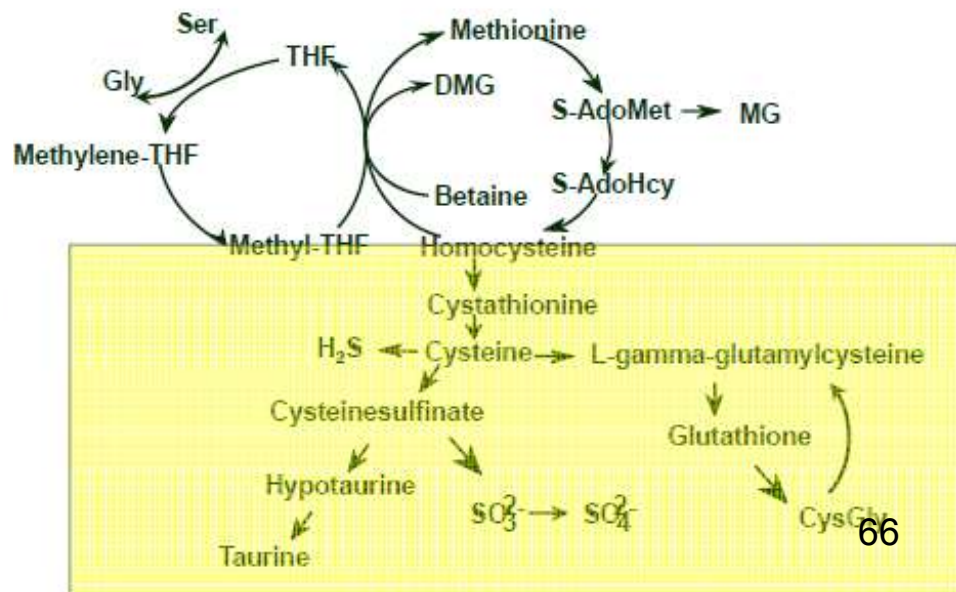


Fig. 21.4 The dislocated lens in homocystinuria is usually downward, while in Marfan syndrome it is upward.

Vitamins a metabolismus Hcy



Transsulfurace



2) Cystinóza

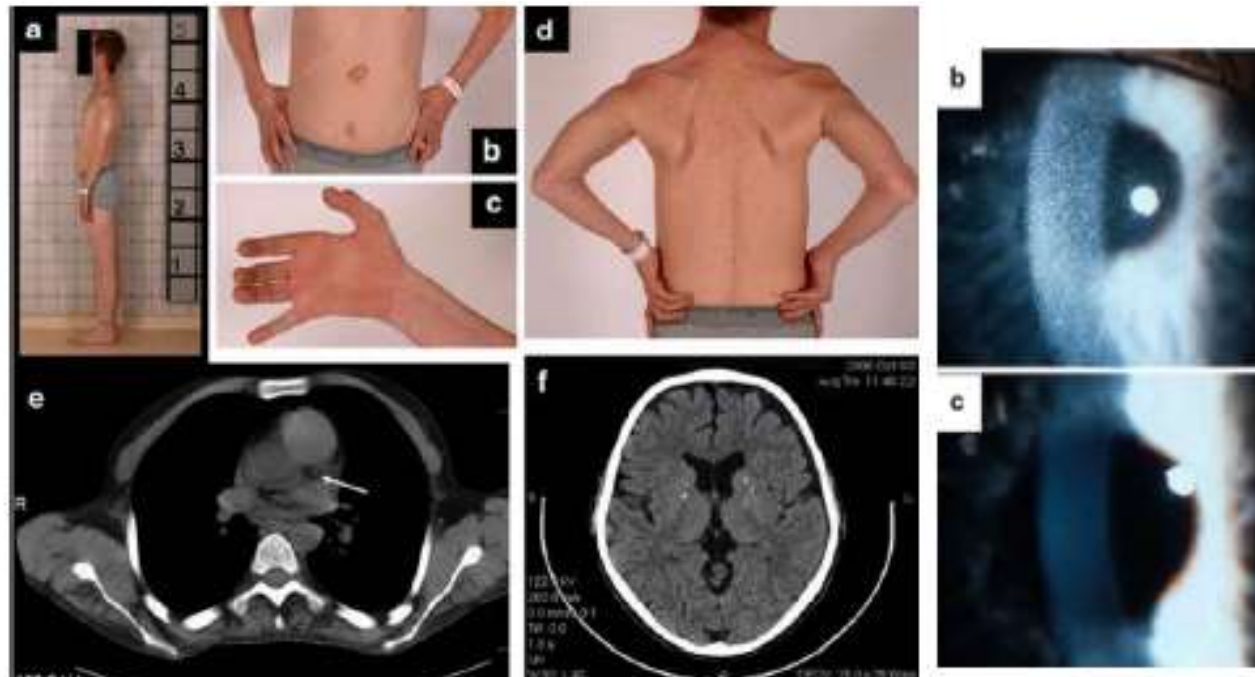
- [AR dědičná](#)
- četnost 1 : 50 000 - 1 : 1 000 000^[4] (neuropatická, ne neuropatická-adultní)
- jedná se o **defekt lyzozomálních transportu cystinu (Cys2)**, který vede k jeho ukládání
- hromaděním je postižen RES (slezina, játra, uzliny a kostní dřeň), depozita lze prokázat i v buňkách tubulů ledvin a spojivek

klinické projevy jsou patrné pouze v ledvinách, kde dochází k těžkému porušení jejich funkce

laboratoř: projevy poškození ledvin - [glykosurie](#), fosfaturie, [albuminurie](#), hyperaminoacidurie, chronická [acidóza](#) a [uremie](#)

- povšechná aminoacidurie je dána poklesem GF, což brzy vyústí v selhání ledvin

terapie: symptomatická léčba tubulární dysfunkce, většinou jsou nutné vysoké dávky vitamínu D^[4], podáváním **cysteaminu**, který účinkuje dvojím způsobem, vazbou na cystin vytváří cystein, který může být vylučovaný z lyzozomu pomocí cysteintransporteru^[4] vazbou na cystin se vytváří disulfid cystein-cysteamin, který může být vylučovaný z lyzozomu pomocí lyzintransporteru^[4]

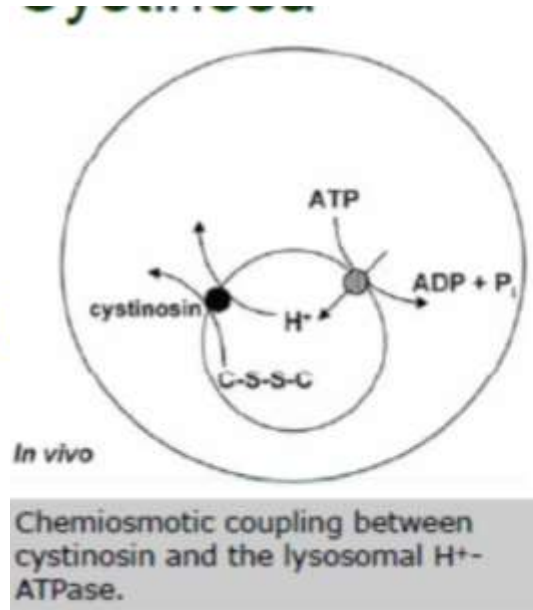


cystinóza

Cystin



cystinosa



- defekt lysosomálního transporteru cystinosinu
- infantilní forma: Fanconiho syndrom-závažná tubulopathie
- neprospívání v dětství
- adultní formy: příznaky oční, myopathie, hypothyreosa
- léčba- cysteamin lokálně a systémově

- **cystinóza** - vrozená porucha metabolismu cystinu s autozomálně-recesivní dědičností; volný cystin se hromadí v lyzozomech buněk celého organismu, zejm. v **retikuloendotelovém systému**, kostech, ledvinách a sítnici.
- V popředí je tubulární atrofie ledvin a různě rozsáhlé postižení kostí, dochází-li také k hromadění feritinu v lyzozomech, vyvíjí se retinopathia retinitis pigmentosa.
- **Infantilní c.** - těžká forma s renální rachitidou rezistentní k vitaminu D s trpasličím vzrůstem, postižení ledvin se projevuje tubulární acidózou s hypokalemií a aminoacidurií, dále je retinopatie.
- **Juvenilní c.** - v popředí je postižení ledvin zejm. glomerulů s proteinurií a postupným selháním ledvin, je retinopatie. C. dospělých - benigní forma, poruchu lze prokázat laboratorně a histologicky krystaly cystinu, funkce ledvin není výrazně narušena. Syn. Abderhaldenův-Kaufmannův-Lignacův syndrom, Lignacův-Fanconiho syndrom, Fanconiho-Abderhaldenův syndrom speciálně typ I

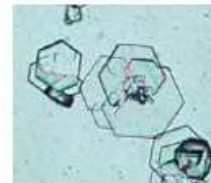
3) Cystinurie

AR porucha **transportu AMK** - cystinu, lyzinu, ornitinu a argininu v ledvinách a ve střevě, renální a střevní problémy, cystin v moči krystalizuje

- AR dědičná
- četnost 1 : 2000 - 1 : 7000^[4]
- vrozená porucha transportu dibázických AMK - cystinu, lyzinu, ornitinu a argininu v tubulech ledvin a ve střevě
- **klinický obraz:** cystinová nefrolitiáza, která je způsobená špatnou rozpustností cystinu ve vodě a dále jeho *krystalizací v kyselém prostředí*
- **diagnostika:** zvýšené hladiny cystinu, ornitinu, argininu, lyzinu v moči; sono ledvin a vylučovacího systému^[4]
- **terapie:** cílem je zabránění vzniku nefrolitiázy a doporučuje se tedy vysoký příjem tekutin spojený i s nočním pitím
 - u těžkých případů je možné uvažovat o medikamentózní terapii D-penicilaminem nebo merkaptopropionylglycinem, které způsobí tvorbu lépe rozpustných bisulfidů s cystinem^[4]

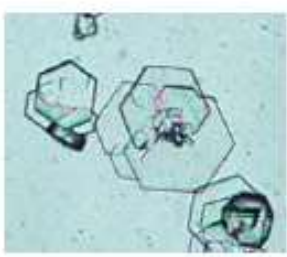
Terapie: Pomoci mohou látky zvyšující pH moči, příkladem takové sloučeniny je citrát draselný. Při vyšším pH se zlepšuje rozpustnost cystinu a snižuje tvorba kamenů. Tato terapie by měla být podporována dostatečným přísunem tekutin. V případě těžších případů se podává sloučenina penicilamin, který se váže na molekuly cystinu a taktéž výrazně zvyšuje jejich rozpustnost.

Komplikace v podobě již vzniklých močových kamenů řeší urologové. Cílem je pochopitelně odstranit kameny, které způsobují poruchu odtoku moči, případně zajistit odtok moči jinými metodami.

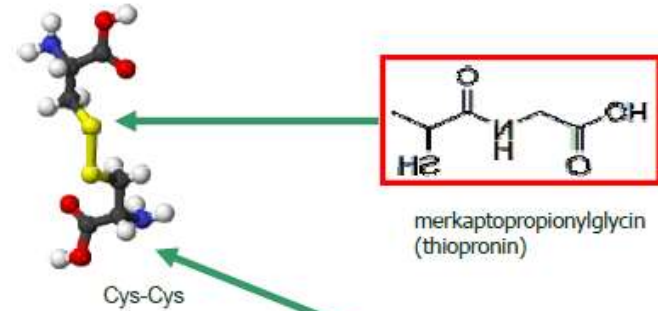


1810 Wollaston- nový druh kamene v moč. měchýři (ř. cystos)- „cystic oxid“

1817 Marcet- stejný druh látky se vyskytuje i v ledvinných kamenech, možný rodinný výskyt (2 sourozenecké dvojice)



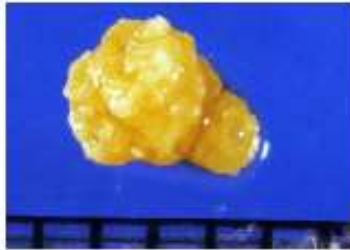
Léčba cystinurie = zvýšit rozpustnost



pitný režim 4-5 L/den
alkalinizace moči

1810 Wollaston- nový druh kamene v moč.měchýři (ř. cystos)- „cystic oxid“

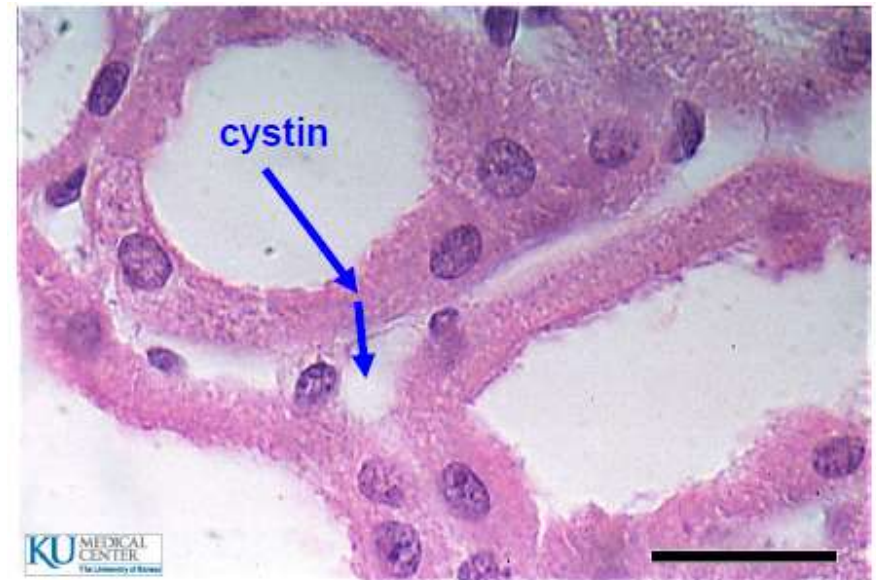
1817 Marcet- stejný druh látky se vyskytuje i v ledvinných kamenech, možný rodinný výskyt (2 sourozenecké dvojice)



<http://www.acvs.org/AnimalOwners/HealthConditions/SmallAnimalTopics/Urolithiasis/UrinaryStones/>
http://content.revolutionhealth.com/content/images/images-image_popup-ww5rm52.jpg

Historie cystinurie

- 1908 Garrod- jedna z 5 DMP
- léčba pitným režimem, penicilaminem, thioproninem
- 1994 popsán gen SLCA1, v 1999 SLC7A9
- známy stovky mutací
- výskyt cca 1: 10 000



<http://www.kumc.edu/instruction/medicine/anatomy/histoweb/urinary/large/Ren13.JPG>

Poruchy metabolismu Tryptofanu a Tyrozinu

esenciální AMK, mj. na tvorbu kyseliny nikotinové a serotoninu.

Hartnupova choroba je způsobena mutacemi v nově objeveném genu, který kóduje přenašeč neutrálních aminokyselin SLC6A19 na chromozomu 5p15.33.

Hartnupova choroba -AR porucha *transportérů neutrálních AMK* v ledvinových tubulech a tenkém střevě

deficit tryptofanu - kožní změny

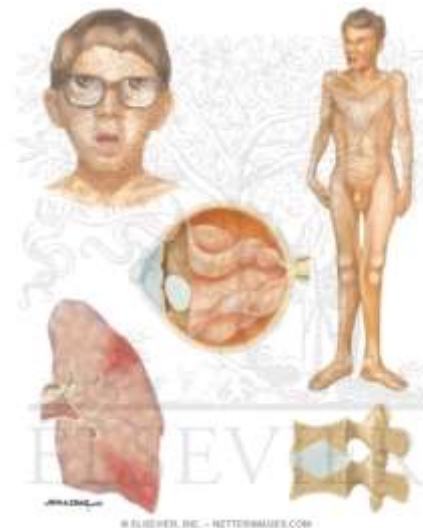
- AR dědičná.
- podkladem je abnormální resorpce neutrálních AMK ve střevě a v ledvinách.
- obvykle nevyvolává žádné klinické příznaky.
- příp. je v popředí fotosenzitivita kůže.

Diagnostické testy: Charakteristické masivní vylučování neutrálních aminokyselin močí a jejich normální nebo nízké normální koncentrace v plazmě potvrdí diagnózu. Vylučování indolových sloučenin močí může být v normálním rozmezí, má-li pacient normální nebo nízké množství bílkoviny ve stravě, ale p.o. zátěž L-tryptofanem vede u většiny případů ke zvýšenému vylučování indolů.

Léčba a prognóza: Dermatitida a neurologické symptomy obvykle, ale ne vždy, mizí po p.o. podání nikotinamidu (50 - 300 mg/den). Přiměřená suplementace vysoce kvalitní bílkoviny je pravděpodobně důležitá pro prevenci symptomů. Tryptofanetylester byl úspěšně použit k překlenutí transportní poruchy. Podání neomycinu p.o. snižuje degradaci tryptofanu ve střevě a zvýšenou tvorbu indolu, ale role indolových sloučenin u choroby dosud nebyla vysvětlena.

Časná diagnostika poruchy v novorozeneckých screenigových programech umožňuje přiměřené sledování a prevenci symptomů.

Bylo popsáno nejméně 14 těhotenství u žen s Hartnupovou chorobou a zdá se, že maternální Hartnupova choroba nepoškozuje plod.



Organické acidurie

Organické acidurie jsou skupina několika desítek onemocnění se společnou charakteristikou: **vyučování karboxylových kyselin v moči.**

Organické kyseliny se v těle hromadí při poruše metabolismu zejména **aminokyselin**, dále pak mastných kyselin a sacharidů, vzácně jiných látek.

Dědičnost:

• AR

Patogenese:

• porucha **cytosolové**, mitochondriální či peroxisomální **metabolické dráhy** (deficit enzymu, deficit kofaktorů)

• hromadění substrátu před poruchou

•

• http://www.wikiskripta.eu/index.php/D%C4%9Bdi%C4%8Dn%C3%A9_po_ruchy_metabolismu_aminokyselin

Příznaky:

- jsou různé podle typu acidurie, mnohokrát nespecifické
- vysoce suspektní je zvláštní zápach
- často metabolická acidóza
- často hyperamonémie

Formy:

1. Akutní novorozenecká

- závažná porucha intermediárního metabolismu
- projeví se v prvních dnech či týdnech života

2. Intermittentně probíhající

- částečný deficit enzymu, který postačuje pro intermediární metabolismus za normálních podmínek
- vyvolávající podnět je zvýšený katabolismus (např. operace), zvýšený přívod bílkovin, dlouhé hladovění
- projevují se atakami akutní encefalopatie, acidózou, hypoglykemií

3. Chronicky probíhající

- méně běžná, progresivní, těžko ovlivnitelná
- poruchy CNS

Mezi organické acidurie vyšetřované v rámci celoplošného novorozeneckého screeningu v ČR patří:

- glutarová acidurie typ I (GA I)
- izovalerová acidurie (IVA)
- leucinóza (MSUD)

Glutarová acidurie typ I (GA I)

patří mezi [organické acidurie](#), je způsobená neschopností organismu zpracovávat aminokyseliny [lysin](#) a [tryptofan](#) díky deficitu [glutaryl-CoA dehydrogenázy](#).

Enzym [glutaryl-koenzym A dehydrogenasa](#) je uložen v [mitochondriích](#). V játrech, ledvinách, ve fibroblastech a leukocytech katalyzuje oxidativní dekarboxylaci glutaryl-CoA na [krotonyl-CoA](#). Při deficitu tohoto enzymu dochází ke zvýšení hladiny **toxické kyseliny glutarové a jejích metabolitů**.^[1]

K zaplavení organismu toxickými metabolity dochází při každém zatížení zvýšeným množstvím lysinu a tryptofanu (např. při běžném úbytku váhy v [novorozeneckém období](#), při odbourávání tělesných bílkovin dítěte při horečce a hladovění, při běžných infekcích, po operacích a za podobných zátěžových situacích).^[1]

GA I je [AR dědičná](#) nemoc ([gen](#) GCDH- na 19p13.2, [OMIM #231670](#)). Od 1. 10. 2009 je součástí celoplošného [novorozeneckého screeningu](#) v ČR.

Pro výskyt GA I svědčí zvýšený C5-DC acylkarnitin. Při podezření na GA I se ihned provádí analýza organických kyselin v moči prokáže zvýšenou hladinu kyseliny glutarové a kyseliny 3-hydroxyglutarové k potvrzení diagnózy. Pokud analýza diagnózu nepotvrdí, specialista na DMP zváží analýzu glutarylkarnitinu v moči a kyseliny 3-hydroxyglutarové v krvi a mozkomíšním moku, analýzu enzymů ve fibroblastech a molekulární analýzu GCDH genu.^[1]

Incidence GA I: 1:40 000 u bělošských populací a 1:30 000 ve Švédsku.^[1]

- léčba riboflavinem a dietní restrikce lysinu a tryptofanu (Dieta s omezením bílkovin spočívá v konzumaci povoleného množství speciálních nízkobílkovinných potravin, které si pro svou výživu zajišťuje každý pacient sám a zdravotní pojišťovny je nehradí.)

- při každé běžné virové nebo bakteriální infekci je nutné v raném stádiu nemoci krátkodobě ještě více omezit příjem bílkovin a poskytnout více energie ve formě glukózy s inzulínem pomocí nitrožilní infuze

- okamžitá léčba katabolických stavů s agresivní léčbou horečky

- [glukóza](#), [inzulín](#) a [karnitin](#) mohou být prevencí neurologického postižení u pacientů bez poškození bazálních ganglií

- přijetí do nemocnice je nutné při jakékoliv nemoci doprovázené zvracením^[1]

deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem (deficit **MCAD**)

- Incidence: 1:6000
- Věk: 4.měs-3 roky
- 25% nepřežije 1.atak, neurologické změny
- Patogeneze produkce energie, deficit mitochondriálního CoA, hromadění toxických acyl-karnitinů
- Vyvolávací faktor: hladovění 8-16h, nemoc, operace

hydroxy-methylglutarová acidurie (**HMG**), deficit mitochondriálního enzymu HMG-CoA lyázy, prekursor pro vznik ketoláték

Poruchy cyklu močoviny

skupina enzymatických poruch, jejichž důsledkem je **nahromadění dusíku ve formě amoniaku**, který je pro organismus velice **toxický a způsobuje ireverzibilní poškození mozku**

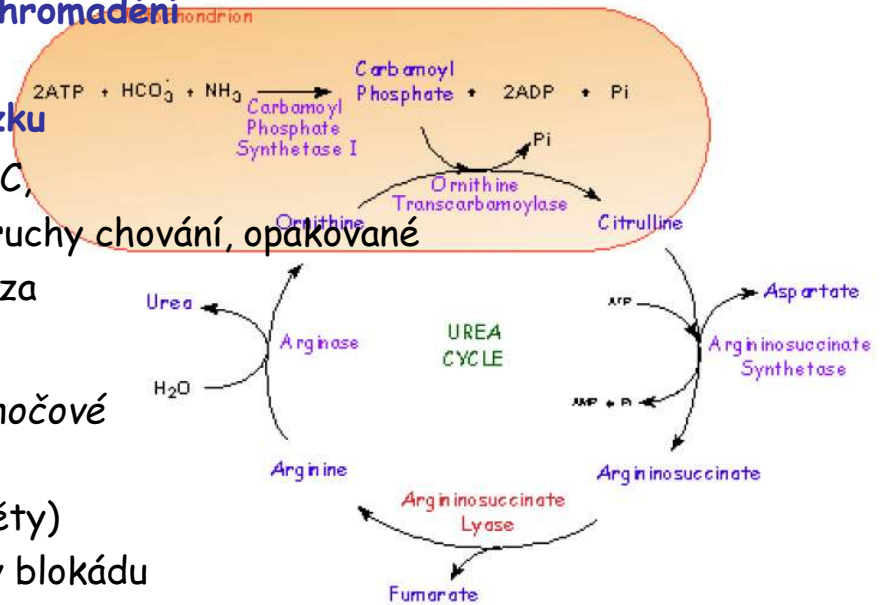
1) Hyperamonemie - deficit kteréhokoliv enzymu MC, křeče, zvracení, koma, psychomotorickou retardací, poruchy chování, opakované mozečkovými ataxiemi, bolesti hlavy, metabolická acidóza

2) Dna (arthritis urika)

defekt v odbourávání purinů - nadměrná tvorba kys. močové

Vysoká koncentrace kyseliny močové v krvi způsobuje krystalizaci této látky v kloubech a jiných tkáních (záněty) může způsobit dnavé záchvaty kloubů, ledvinové kameny blokádu vývodných cest močových. Krystaly kyseliny močové mohou zablokovat i tubuly ledviny a způsobit k ledvinou nedostatečnost.

3) Hyperurikémie - průmyslové země (vysoký příjem purinů v potravě, alkohol, obezita, olovo v potravě)



	poškozený enzym	umístění	typ dědičnosti
Hyperamonémie I	karbamoylfosfátsyntetáza (CPS1)	mitochondrie	AR dědičná
Hyperamonémie II	ornitinkarbamoyltransferáza (OTC)	mitochondrie	X vázaná projevy také u heterozygotních dívek
Citrulinémie	argininsukcinátsyntetáza (ASS)	cytosol	AR dědičná
Argininsukcináurie	argininsukcináza (ASL)	cytosol	AR dědičná
Argininémie	argináza (ARG1)	cytosol	AR dědičná

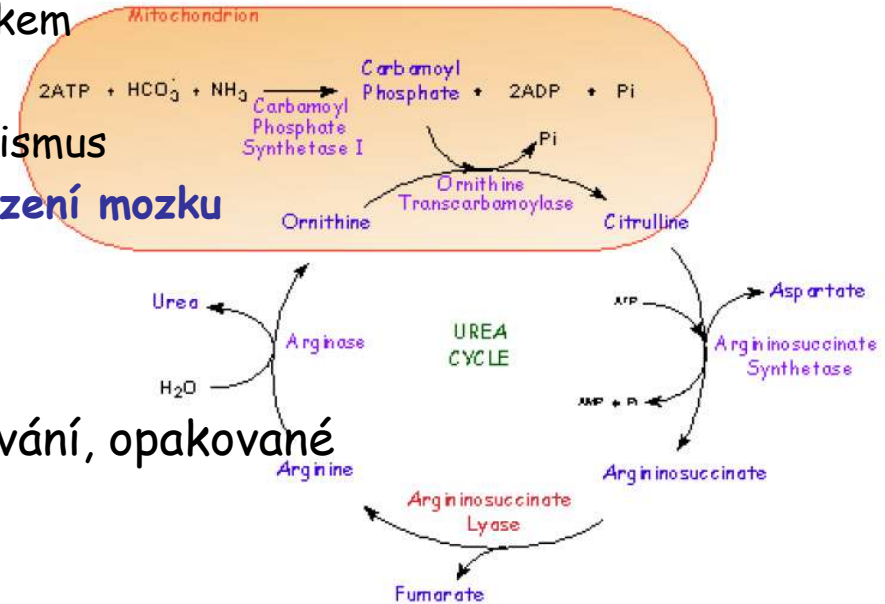
poruchy cyklu močoviny

-skupina enzymatických poruch, jejichž důsledkem je nahromadění

dušíku ve formě amoniaku, který je pro organismus velice toxický a způsobuje ireverzibilní poškození mozku

-závažnější deficity prvních enzymů

Hyperamonemie - křeče, zvracení, koma, psychomotorickou retardací, poruchy chování, opakované mozečkovými ataxiemi, bolesti hlavy, **metabolická acidóza**



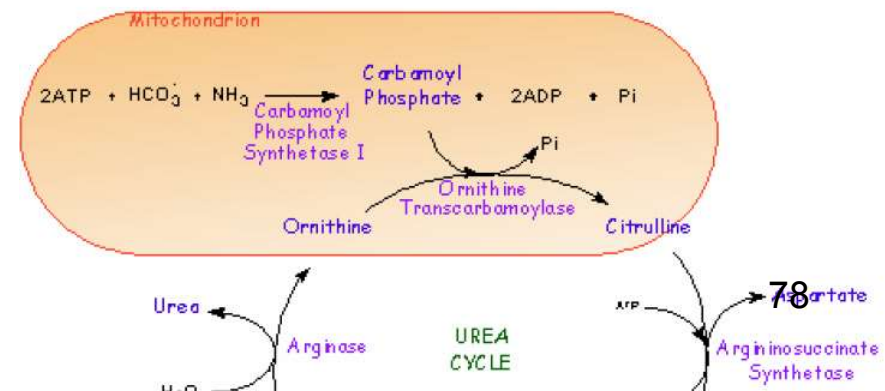
	poškozený enzym	umístění	typ dědičnosti
Hyper amonémie I	Karbamoylfosfátsyntetáza I (CPS1)	mitochondrie	AR dědičná, vzácné, mentální retardace
Hyper amonémie II	ornitinkarbamoyltransferáza (OTC)	mitochondrie	X vázaná projevy také u heterozygotních dívek
Citrulinémie	argininsukcinátsyntetáza (ASS)	cytosol	AR dědičná
Argininsukcináurie	argininsukcináza (ASL)	cytosol	AR dědičná
Argininémie	argináza (ARG1)	cytosol	AR dědičná

Hyperamonémie (typ I)

- Jedná se o defekt **karbamoylfosfátsynthetázy**,
- 2 formy: letální neonatální (těžké poškození mozku, hyperamonemické kóma, ketoacidóza) a mírnější forma s pozdějším nástupem (hyperamonemické kóma, Reye-like syndrom, zvracení, hypotonie, neprospívání, psychomotorická retardace)[3],
- laboratorně nacházíme nízké koncentrace argininu a citrulinu a vysoké koncentrace glutaminu,
- uracil a kyselina orotová jsou v normě.

Citrulinémie (typ I)

- jedná se o defekt **argininosukcinátsyntházy**,
- 2 formy: neonatální (krátce po narození hyperamonemické kóma, laktátová acidóza) a chronická juvenilní forma (nechutenství, zvracení, hypotonie, růstová a psychomotorická retardace, křeče),
- typ II - deficit mitochondriálního přenašeče aspartátu a glutamátu (citrinu) → intramitochondriální deficit aspartátu,
- typ III - částečný deficit argininsukcinátsynthetázy s vysokou reziduální aktivitou enzymu^[4]
- laboratorně nacházíme nízké koncentrace argininu, ale vysoké koncentrace citrulinu i glutaminu,
- uracil a kyselina orotová jsou zvýšené.



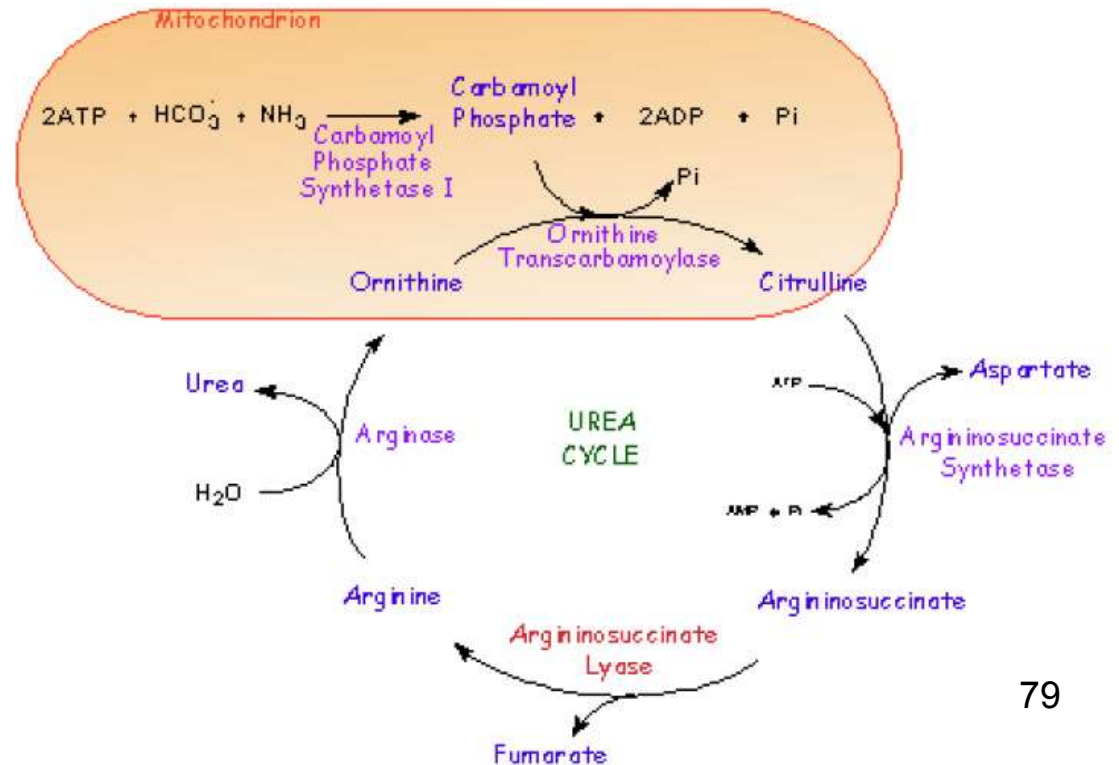
Cyklus močoviny: 1 – L-ornitin, 2 – karbamoylfosfát, 3 – L-citrullin, 4 – argininsukcinát, 5 – fumarát, 6 – L-arginin, 7 – urea (močovina), L-Asp – L-aspartát, CPS-1 – karbamoylfosfátsynthetáza I, OTC – ornitintraskarbamyláza, ASS – argininsukcinátsynthetáza, ASL – argininsukcinátlyáza, ARG1 – argináza 1

Argininsukcináurie

- Jedná se o defekt **argininsukcinát lyázy**,
- 2 formy: časná (těžké hyperamonemické kóma krátce po narození, často fatální) a pozdní (během dětství hypotonie, neprospívání, nechutenství, chronické zvracení a poruchy chování); hepatomegalie a lomivost vlasů (trichorrhexis nodosa)[5],
- laboratorně nacházíme nízkou koncentraci argininu a zvýšené koncentrace glutaminu a citrulinu,
- v moči prokážeme zvýšení koncentrace kyseliny orotové a uracilu.

Argininémie

- Jedná se o **defekt arginázy I**,
- mezi příznaky patří spastická diplegie, epilepsie, psychomotorická retardace, hyperaktivita, iritabilita, neutižitelný pláč, anorexie, zvracení a zřídka se vyskytující symptomatická hyperamonémie přecházející do kómatu,
- laboratorně prokážeme hyperargininaemii a zvýšené vylučování kyseliny orotové močí.



hyperamonemie; ABR - nejprve respirační alkalóza, později metabolická acidóza

• Diagnostika

- hyperamonemie; ABR - nejprve respirační alkalóza, později metabolická acidóza
- chromatografie aminokyselin v plazmě: zvýšená koncentrace glutaminu a kyseliny glutamové, snížená hladina argininu; zvýšená koncentrace aminokyselin před enzymatickým defektem a snížené koncentrace aminokyselin za defektem orotová kyselina v moči: zvýšena při poruchách všech enzymů kromě CPS1 biopsie jater: stanovení enzymatické aktivity z jaterní tkáně
- analýza mutací^[2]

• Terapie

- první pomoc: přeměna katabolismu na anabolismus (i.v. vysoké dávky glukózy s inzulinem, vysokokalorická parenterální výživa) a detoxikace (benzoát sodný, fenylbutyrát, ev. hemodialýza, hemofiltrace)
- substituce chybějících aminokyselin (obvykle argininu a citrulinu)
- celoživotně snížení příjmu bílkovin a jejich substituce směsí esenciálních aminokyselin
- při těžkém postižení transplantace jater^[2]

Hyperlysinemie -(hyperamonemie) -vysoké konc. Lys v krvi, séru -blok enzymu arginasy (v ornitinovém, močovinovém cyklu) - vysoké koncentrace NH_3 a arginin - onemocnění, mentální postižení. Souvisí s příjmem proteinů, potíže se zmírňují při omezení prot.

Hyperprolinemie I -vysoké hodnoty Pro (nízká aktivita Pro-dehydrogenasy) - způsobuje renální malformace, hematurii, renální insuficienci = selhávání ledvin, snížení sluchových funkcí, huchota - tyto poruchy = tzv. Alportův syndrom

Hyperprolinemia II - nepostihuje ledviny, zpomalení růstu a dušev. vývoje

1. vrozená snížená funkce štítné žlázy (**kongenitální hypotyreóza - CH**)
2. vrozená nedostatečnost tvorby hormonů v nadledvinách (**kongenitální adrenální hyperplazie - CAH**)
3. vrozená porucha tvorby hlenu (**cystická fibróza - CF**)
4. **dědičné poruchy látkové výměny aminokyselin***
 1. vrozená porucha látkové výměny aminokyseliny fenylalaninu (**fenylketonurie - PKU a hyperfenylalaninémie - HPA**)
 2. **argininémie (ARG)**
 3. **citrulinémie I. typu (CIT)**
 4. vrozená porucha látkové výměny větvených aminokyselin (leucinóza, nemoc javorového sirupu - **MSUD**)
 5. **homocystinurie z deficitu cystathionin beta-syntázy (CBS)**, pyridoxin non-responzivní forma
 6. **homocystinurie z deficitu methylenetetrahydrofolátreduktázy (MTHFR)**
 7. **glutarová acidurie typ I (GA I)**
 8. **izovalerová acidurie (IVA)**
5. dědičné poruchy látkové výměny mastných kyselin*
 1. deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem (deficit MCAD)
 2. deficit 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin s dlouhým řetězcem (deficit LCHAD)
 3. deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem (deficit VLCAD)
 4. deficit karnitinpalmitoyltransferázy I (deficit CPT I)
 5. deficit karnitinpalmitoyltransferázy II (deficit CPT II)
 6. deficit karnitinacylkarnitintranslokázy (deficit CACT)
6. dědičná porucha přeměny vitamínů*
 1. **deficit biotinidázy (BTD)**

*Metodika tandemové hmotnostní spektrometrie použitá pro vyšetřování dědičných metabolických poruch může zachytit dalších přibližně 20 onemocnění.

- **Novorozenecký screening je aktivní a celoplošné (=celostátní) vyhledávání chorob v jejich časném, preklinickém stadiu tak, aby se tyto choroby diagnostikovaly a léčily dříve, než se stačí projevit a způsobit novorozenci nevratné poškození zdraví.**
- **Novorozeneckým screeningem se rozumí vyhledávání onemocnění na základě stanovení koncentrace specifické látky (event. i průkazu genové mutace) v suché kapce krve odebírané všem novorozencům.**
- **Kapka krve se odebírá novorozencům za stanovených podmínek z patičky na filtrační papír - tzv. novorozeneckou screeningovou kartičku, který je po zaschnutí odeslán do příslušné laboratoře.**

