

# Poremećaji u metabolizmu aminokiselina

---

**Hamzić, Arijana**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:182:991047>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-03-11**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište J.J.Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Preddiplomski studij kemije

Arijana Hamzić

Poremećaji u metabolizmu aminokiselina

Završni rad

Mentor: doc. dr. sc. Martina Šrajer Gajdošik

Osijek, 2022.

## SAŽETAK

Aminokiseline su osnovne građevne jedinice proteina. Građene su od središnjeg ugljikovog atoma na kojeg su vezane četiri skupine, amino-skupina, vodikov atom, karboksilna-skupina i bočni ogranak koji čini svaku aminokiselinu jedinstvenom po svojoj strukturi. Svakodnevno organizam razgrađuje i sintetizira aminokiseline stoga u njihovom metabolizmu može doći do pogrešaka koje dovode do raznih poremećaja. Najčešća pogreška koja dovodi do razvitka poremećaja je nedostatak bitnih enzima koji prevode aminokiseline iz jedne u drugu. Zbog toga u organizmu dolazi do nakupljanja štetnih međuprodukata u krvi ili urinu i zbog kojih dolazi do razvitka raznih bolesti. Najčešći poremećaj u metabolizmu aminokiselina je fenilketonurija do koje dolazi zbog nedostatka enzima koji katalizira pretvorbu fenilalanina u tirozin, a karakteriziraju ju ponajviše poteškoće u mentalnom razvoju. Uz fenilketonuriju u poremećaje metabolizma aminokiselina ubrajaju se i bolest urina mirisa javorovog sirupa, homocistinurija, tirozinemija, neketotička hiperglicinemija, te poremećaji u ciklusu uree koji su jednako učestali ali i opasni.

**Ključne riječi:** aminokiseline, poremećaji, katabolizam, biosinteza, bolesti

## ABSTRACT

Amino acids are the basic building blocks of proteins. They are built of a central carbon atom to which four groups are attached, an amino group, a hydrogen atom, a carboxyl group and a side branch that makes each amino acid unique in its structure. Every day, the body breaks down and synthesizes amino acids, therefore mistakes can occur in their metabolism that lead to various disorders. The most common mistake that leads to the development of disorders is the lack of essential enzymes that convert amino acids from one to another. Because of this, the body accumulates harmful intermediate products in the blood or urine, which leads to the development of various diseases. The most common disorder in the metabolism of amino acids is phenylketonuria, which occurs due to the lack of an enzyme that catalyzes the conversion of phenylalanine to tyrosine, and is characterized mainly by difficulties in mental development. In addition to phenylketonuria, disorders of amino acid metabolism include maple syrup urine disease, homocystinuria, tyrosinemia, non-ketotic hyperglycinemia, and disorders in the urea cycle, which are equally frequent but also dangerous.

**Key words:** amino acids, disorders, catabolism, biosynthesis, diseases

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. AMINOKISELINE</b> .....	2
<b>3. BIOSINTEZA AMINOKISELINA</b> .....	7
<b>4. KATABOLIZAM AMINOKISELINA</b> .....	8
<b>5. POREMEĆAJI U METABOLIZMU AMINOKISELINA</b> .....	11
5.1. FENILKETONURIJA.....	12
5.2. BOLEST URINA MIRISA JAVOROVOG SIRUPA .....	15
5.3. HOMOCISTINURIJA.....	17
5.4. TIROZINEMIJA .....	19
5.5. NEKETOTIČKA HIPERGLICINEMIJA .....	20
5.6. POREMEĆAJI CIKLUSA UREE.....	21
5.6.1. Nedostatak karbamoil-fosfat-sintetaze.....	22
5.6.2. Nedostatak N-acetilglutamat sintetaze.....	22
5.6.3. Nedostatak ornitin-transkarbamoilaze .....	23
5.6.4. Citrulinemija.....	23
<b>6. ZAKLJUČAK</b> .....	24
<b>7. POPIS KRATICA</b> .....	25
<b>8. LITERATURA</b> .....	26

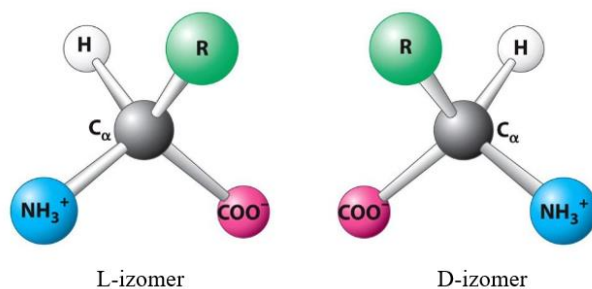
## 1. UVOD

Proteini su spojevi koji su vrlo rano prepoznati kao važni za funkcioniranje ljudskog organizma. Kao i ostale bitne makromolekule u organizmu, poput ugljikohidrata i masti, proteini su organske tvari, ali se izdvajaju od ugljikohidrata i masti jer u sebi sadrže i atome dušika. Proteini obavljaju bitne zadaće u organizmu, oni ubrzavaju kemijske reakcije kao katalizatori, reguliraju hormone, prenose tvari između tkiva i stanica, ali i unutar stanica, pretvaraju energiju, mogu biti i rezerva osnovnih nutrijenata, štite organizam, stežu mišiće, potiču gibanje kromosoma i spermija, izgrađuju tkivne i stanične strukture te još mnogo toga. Proteini su polimeri građeni od monomernih jedinica koje nazivamo aminokiseline. Aminokiseline su građene od središnjeg ugljikovog atoma na kojeg su vezani vodikov atom, amino-skupina, karboksilna skupina i bočni ogranak. Proteini u bakterijskim, arhejskim i eukariotskim vrstama su izgrađeni od 20 aminokiselina koje su podijeljene u pet skupina, a razlikuju se pobočnim ograncima. Aminokiseline također možemo podijeliti i na esencijalne i neesencijalne aminokiseline. Esencijalne aminokiseline su aminokiseline koje naš organizam ne može sam sintetizirati, nego ih moramo unositi prehranom, dok neesencijalne aminokiseline tijelo može sintetizirati. Svakodnevno naš organizam sintetizira i razlaže proteine, ali također isto tako organizam mora sintetizirati i razlagati i aminokiseline. U sintezi aminokiselina važan je proces fiksacije dušika u kojem se atmosferski dušik pretvara u amonijak pomoću kompleksa nitrogenaze. Početni korak u sintezi aminokiselina je ugradnja amonijaka u  $\alpha$ -ketoglutarat pri čemu nastaje glutamat, a kasnije i glutamin. Kod razgradnje aminokiselina prvi korak je uklanjanje amino-skupine, a zatim se preostala ugljikova okosnica razgrađuje u bitne metaboličke međuprodukte koji mogu ulaziti u druge puteve. Sinteza i razgradnja aminokiselina su vrlo bitni procesi i potrebno ih je strogo regulirati. Kada regulacija zakaže dolazi do pogrešaka u metabolizmu aminokiselina te do pojave bolesti. Poremećaji u metabolizmu aminokiselina dovode do razvitka bolesti kao što su fenilketonurija, karakterizirana smanjenjem aktivnosti enzima fenilalanin hidroksilaze pri čemu dolazi do povećane koncentracije fenilalanina, bolest urina s mirisom javorovog sirupa koja je naziv dobila po mirisu urina koji podsjeća na javorov sirup ili zagoreni šećer, a kod koje su povećane koncentracije aminokiselina razgranatog lanca, homocistinurija pri kojoj su povećane koncentracije homocisteina i metionina u urinu i plazmi, tirozinemija uzrokovana nedostatkom enzima fumarilacetoacetat hidrolaze, neketotička hiperglicinemija koja se javlja zbog poremećaja metabolizma glicina, te bolesti zbog poremećaja ciklusa uree.

## 2. AMINOKISELINE

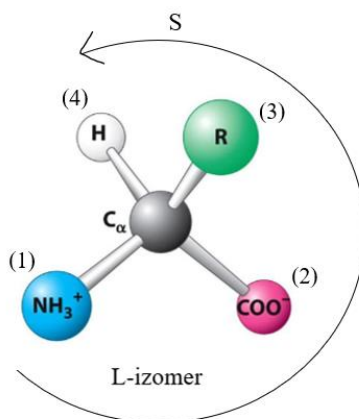
Protein je bio prva tvar koja je prepoznata kao esencijalni dio ljudskog zdravlja. Naziv „protein“ izveden je iz grčke riječi značenja „od prvotne važnosti“. Proteine se, kao i ugljikohidrate i masti, smatra organskim tvarima jer se sastoje od ugljika, kisika i vodika. Proteine smatramo jedinstvenima jer su, za razliku od ugljikohidrata i masti, građeni i od atoma dušika [1]. Prema tome to su molekule svestrane prirode koje obavljaju bitne zadaće u raznim biološkim procesima. Proteini mogu biti katalizatori i svojim djelovanjem ubrzavati određene reakcije u organizmu, mogu imati funkciju prijenosnika molekula ili živčanih impulsa, mogu osigurati imunološku zaštitu organizma ili pak kontrolirati rast i diferencijaciju. Proteini su polimeri linearne strukture koji su građeni od jedinica koje nazivamo aminokiselinama. Proteini sadrže razne funkcionalne skupine kao što su alkoholi, tioli, karboksamidi, tioeteri i karboksilne kiseline. Sve im te funkcionalne skupine daju mogućnost da djeluju u vrlo širokom spektru. Oni mogu biti kruti ili fleksibilni, a međusobno mogu djelovati s drugim makromolekulama i tako stvarati složene nakupine, dajući aktivnosti koje neki proteini sami po sebi nemaju [2].

Proučavanje prirodnih aminokiselina započeli su europski kemičari u 19. stoljeću. U proteklih 200 godina ta proučavanja su visoko napredovala zahvaljujući biokemičarima, nutricionistima, medicinskim stručnjacima i drugim znanstvenicima diljem svijeta. Godine 1806. otkrivena je prva aminokiselina koja je dobila ime asparagin, izolirali su je znanstvenici Louis-Nicolas Vauquelin i Pierre Jean Robiquet. Glicin je prva aminokiselina izolirana iz proteina hidrolizom pomoću sumporne kiseline, a izolirao ju je 1820. godine francuski kemičar Henri Braconnot. Upotreba pojma aminokiselina u engleskom jeziku započela je tek 1898. godine, a tek 25 godina kasnije, 1925. godine, otkrivena je aminokiselina treonin. Treonin je posljednji dodatak dugačkoj listi od 20 aminokiselina koje su potrebne za biosintezu proteina [3]. Svaka  $\alpha$ -aminokiselina je građena od  $\alpha$ -ugljkovog atoma kojeg nazivamo i središnjim ugljikovim atomom. Na središnji ugljikov atom vezane su amino-skupina, vodikov atom, karboksilna skupina i bočni ogranak kojeg označavamo slovom R. Bočni ogranci se jedan od drugog razlikuju svojim oblicima, nabojima, reaktivnošću, mogućnošću stvaranja vodikovih veza i hidrofobnošću. Kako su na središnji ugljikov atom vezane četiri različite skupine kažemo da su  $\alpha$ -aminokiseline kiralne. To znači da one mogu biti u dva zrcalno simetrična oblika koji se nazivaju L-izomeri i D-izomeri i prikazani su na slici 1. [2].



Slika 1. L-izomer i D-izomer aminokiselina [2].

Proteini u svojoj strukturi sadržavaju samo L-aminokiseline. L-izomer kod gotovo svih aminokiselina ima apsolutnu konfiguraciju S, a ne konfiguraciju R. Konfiguracija ugljikovog atoma može se označiti kao S kada je niz supstituenata, koji su vezani na ugljikov atom, od najvišeg do najnižeg prioriteta suprotan smjeru kazaljke na satu. Konfiguraciju ugljikovog atoma označava se sa R kada je niz supstituenata od najvišeg do najnižeg prioriteta u smjeru kazaljke na satu. Prioriteti se dodjeljuju na temelju atomskog broja, a supstituent s najmanjim prioritetom je najčešće vodik koji se okrene od promatrača [2]. Slika 2. prikazuje kako L-aminokiseline imaju apsolutnu S konfiguraciju. Smjer strelice na slici kreće se od supstituenta s najvećim prioritetom prema supstituentu s najmanjim prioritetom u smjeru suprotnom od smjera kazaljke na satu [2].

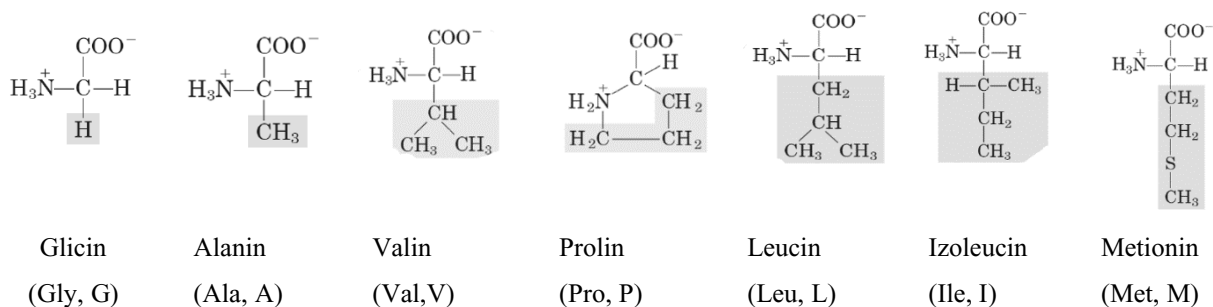


Slika 2. L-aminokiselina sa S konfiguracijom [2].

Svi proteini u bakterijskim, arhejskim i eukariotskim vrstama sastavljeni su od skupa od 20 aminokiselina. Aminokiseline s obzirom na polarnost bočnih ogranaka dijelimo na nepolarne alifatske, nepolarne aromatske, polarne s nenabijenim bočnim ogranakom, polarne s pozitivno nabijenim bočnim ogranakom i polarne s negativno

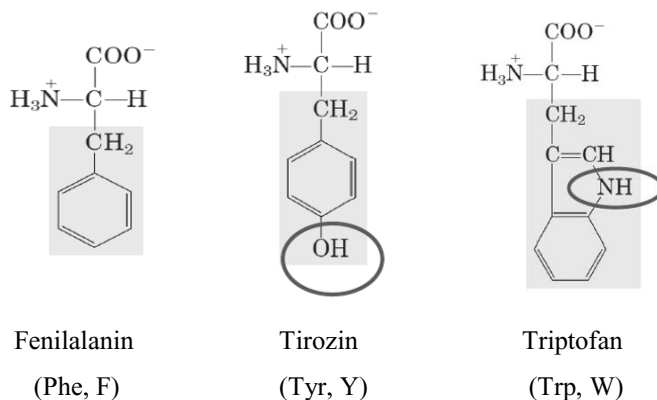


nabijenim bočnim ogrankom. U skupinu nepolarnih alifatskih aminokiselina pripadaju glicin, koji je najjednostavnija aminokiselina, a bočni ogranak mu je jedan vodikov atom, alanin kojemu je bočni ogranak metilna skupina. Aminokiseline valin, leucin i izoleucin imaju veće bočne ogranke, metionin ima bočni ogranak koji sadržava tioestersku skupinu i prolin koji ima alifatski bočni ogranak ali se razlikuje po tome što je njegov bočni ogranak vezan i za atom dušika. Slika 3. prikazuje nepolarne alifatske aminokiseline [2].



Slika 3. Nepolarne alifatske aminokiseline [2].

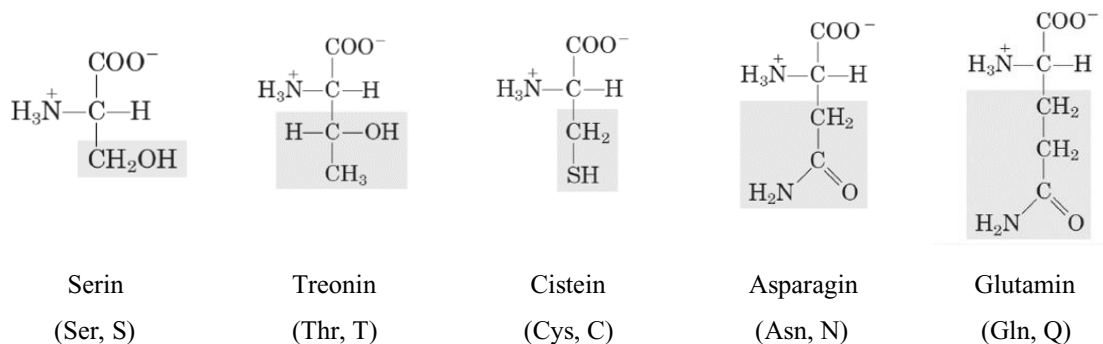
U skupinu nepolarnih aromatskih aminokiselina pripadaju tri aminokiseline. Prva od njih je fenilalanin, a to je ime dobio jer sadrži aromatski prsten umjesto vodikovog atoma u aminokiselini alaninu. Sljedeća aminokiselina je tirozin koji u svojoj strukturi sadržava reaktivnu hidroksilnu skupinu. Posljednja aminokiselina ove skupine je triptofan u kojemu je indolska skupina vezana na metilensku skupinu. Slika 4. prikazuje nepolarne aromatske aminokiseline [2].



Slika 4. Nepolarne aromatske aminokiseline [2].

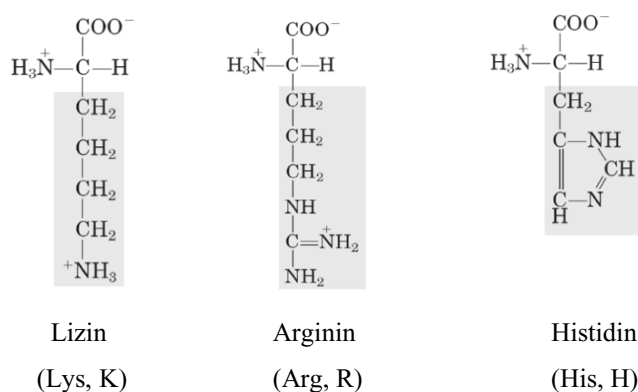
Sljedeća skupina je skupina polarnih, ali nenabijenih aminokiselina. U ovu skupinu pripada pet aminokiselina: serin i treonin, koji u svojoj strukturi sadrže hidroksilnu skupinu,

asparagin i glutamin koji su nenabijeni derivati aminokiselina aspartata i glutamata i na kraju bočnog ogranka sadrže amidnu skupinu umjesto karboksilne skupine te cistein koji u svom bočnom ogranku umjesto hidroksilne skupine sadrži tiolnu skupinu. Slika 5. prikazuje polarne aminokiseline s nenabijenim bočnim ograncima [2].



Slika 5. Polarne aminokiseline s nenabijenim bočnim ogrankom [2].

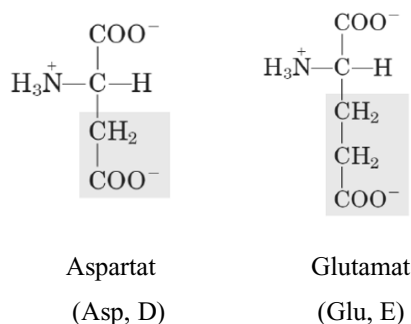
Skupina polarnih aminokiselina s pozitivno nabijenim bočnim ogrankom je izrazito hidrofilna i u nju se svrstavaju tri aminokiseline. Prva od njih je histidin koji sadržava imidazolsku skupinu, te se često nalazi u aktivnom mjestu enzima gdje imidazolska skupina može vezati i otpuštati protone. Ostale dvije aminokiseline su lizin, koji ima dugi bočni ogranak i nosi primarnu amino-skupinu, i arginin koji također ima dugi bočni ogranak i nosi gvanidinijsku skupinu. Slika 6. prikazuje polarne aminokiseline s pozitivno nabijenim bočnim ogrankom [2].



Slika 6. Polarne aminokiseline s pozitivno nabijenim bočnim ogrankom [2].

Posljednja skupina aminokiselina je skupina polarnih aminokiselina s negativno nabijenim bočnim ograncima. U ovu se skupinu ubrajaju dvije aminokiseline,

asparaginska i glutaminska kiselina, odnosno aspartat i glutamat. Ove dvije aminokiseline sadrže kiseli bočni ogranak i kod fizioloških vrijednosti pH njihovi ogranci ne nose protone i zato su negativno nabijeni. Slika 7. prikazuje dvije aminokiseline koje pripadaju skupini polarnih aminokiselina s negativno nabijenim bočnim ogranakom [2].



Slika 7. Polarne aminokiseline s negativno nabijenim bočnim ogranakom [2].

Svakodnevno naš organizam stvara, ali i razlaže proteine. Nusprodukti koji nastaju razlaganjem iskorištavaju se za proizvodnju novih aminokiselina. Neesencijalne aminokiseline su aminokiseline koje organizam može sam sintetizirati. Te aminokiseline nije potrebno ishranom unositi u organizam. Deset aminokiselina su neesencijalne i mogu se sintetizirati u tijelu, a to su alanin, asparagin, aspartat, cistein, glutamat, glutamin, glicin, prolin, serin i tirozin. Nasuprot tomu, esencijalne aminokiseline su one koje tijelo ne može sintetizirati. Jedini način da se one dobiju je kroz ishranu. Esencijalnih aminokiselina ima osam a to su izoleucin, leucin, lizin, metionin, fenilalanin, treonin, triptofan i valin. Uz esencijalne i neesencijalne aminokiseline postoje i dvije poluesencijalne aminokiseline, to su arginin i histidin. One se mogu proizvesti u organizmu u određenoj mjeri, ali mogu postati esencijalne za neke pojedince kada se potrebe organizma povećaju. Esencijalne su za djecu tijekom razdoblja rasta, kao što je razdoblje trudnoće, dojenja i puberteta [1].

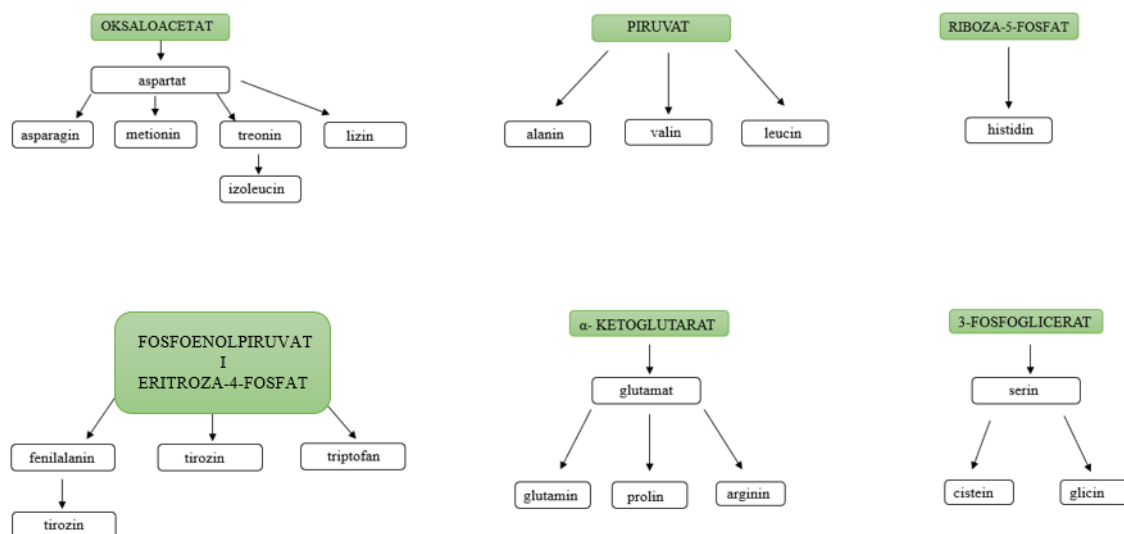
### 3. BIOSINTEZA AMINOKISELINA

Bitan element u strukturi aminokiselina je dušik, ali dušik se u atmosferi nalazi u inertnom obliku pri čemu se nailazi na problem bioloških sustava da pretvore atmosferski dušik u oblik koji mogu koristiti. Amonijak je izvor molekula dušika za aminokiseline, a mikroorganizmi mogu reducirati molekulu atmosferskog dušika i prevesti ga u dvije iskoristive molekule amonijaka. Taj proces nazivamo fiksacijom dušika, a provode ga arheje i bakterije. Za proces fiksacije dušika potreban je enzim s mnogostrukim redoks-centrima tzv. kompleks nitrogenaze. Kompleks nitrogenaze se sastoji od dva proteina, reduktaze i nitrogenaze, koji su proteini željezo-sumpor. Klasteri željezo-sumpor prenose elektrone. Reduktaza je dimer identičnih podjedinica s klasterom 4Fe-4S i donosi elektrone velike redukcijske moći s reduciranog feredoksina na nitrogenazu. Pomoću hidrolize molekule adenozin-trifosfata (ATP) elektroni se mogu prenositi s reduktaze na nitrogenazu. Nitrogenaza je tetramer ( $\alpha_2\beta_2$ ), naziva se i protein molibden-željezo i služi se elektronima kako bi reducirala dušik u amonijak. Redukcija dušika se zbiva u FeMo-kofaktoru odnosno tu se fiksira molekula dušika [2].

Proizvedeni amonijak primarno se asimilira ugradnjom u aminokiseline, a najčešća reakcija ove vrste je stvaranje glutamata iz  $\alpha$ -ketoglutarata. Glutamat je ključna supstanca u stvaranju drugih aminokiselina i proteina. Enzim odgovoran za ovu reakciju je glutamat-dehidrogenaza i reakcija je reverzibilna. Važna stvar je da enzim ima dosta nizak afinitet za amonijak. Glutamat-dehidrogenaza je relativno neučinkovita u prikupljanju molekula amonijaka. U okolnostima manjka amonijaka mogu se koristiti različiti načini za asimilaciju malo dostupnog amonijaka, za što su potrebna dva enzima. Prvi je glutamin-sintetaza, on veže postojeću molekulu glutamata pri čemu nastaje glutamin. Glutamin-sintetaza je vrlo učinkovit enzim za skupljanje molekula amonijaka, ali ima nedostatak, a taj je da se pri nastanku svake molekule glutamina troši i jedna molekula ATP, odnosno organizam mora iskoristiti energiju kako bi glutamin-sintetaza mogla funkcionirati. Tako nastali glutamin može reagirati s  $\alpha$ -ketoglutaratom pomoću drugog enzima, glutamat-sintaze. Tom reakcijom nastaju dvije molekule glutamata. Nakon što je glutamat stvoren anorganski dušik je ušao u organsku sastavnicu koja je na putu ugradnje u živi organizam [4].

Aminokiseline se mogu sintetizirati na različite načine, ali zajednička značajka im je da ugljikove okosnice aminokiselina dolaze iz međuprodukata glikolize, citratnog ciklusa i puta pentoza-fosfata. Postoji šest biosintetski obitelji aminokiselina kao što se može vidjeti na slici 8. Dodatkom amino-skupine na  $\alpha$ -ketokiseline,  $\alpha$ -ketoglutarat, oksaloacetat i piruvat,

nastaju aspartat, alanin i glutamat. Reduktivnim aminiranjem  $\alpha$ -ketoglutarat prelazi u glutamat, a amino-skupina sa glutamata se reakcijama transaminacije prenosi na druge  $\alpha$ -ketokiseline i tako dodavanjem amino-skupine na oksaloacetat ili piruvat mogu nastati aspartat ili alanin. Te reakcije kataliziraju enzimi transaminaze koje ovise o piridoksal-fosfatu. Kao što je rečeno, aspartat se sintetizira iz oksaloacetata, te je preteča za sintezu aminokiselina asparagina, metionina, treonina i lizina, dok iz treonina može nastati izoleucin. Glutamat nastaje iz  $\alpha$ -ketoglutarata i preteča je aminokiselina glutamina, prolina i arginina. Aminokiselina serin se sintetizira iz 3-fosfoglicerata, koji je preteča glicina i serina. Iz piruvata se sintetiziraju alanin, valin i leucin. Pomoću riboza-5-fosfata može se sintetizirati histidin, a pomoću fosfoenolpiruvata i eritroza-4-fosfata fenilalanin, tirozin i triptofan, dok je fenilalanin iz ove biosintetske obitelji i preteča aminokiseline tirozina [2].



Slika 8. Biosintetske obitelji aminokiselina. [2]

## 4. KATABOLIZAM AMINOKISELINA

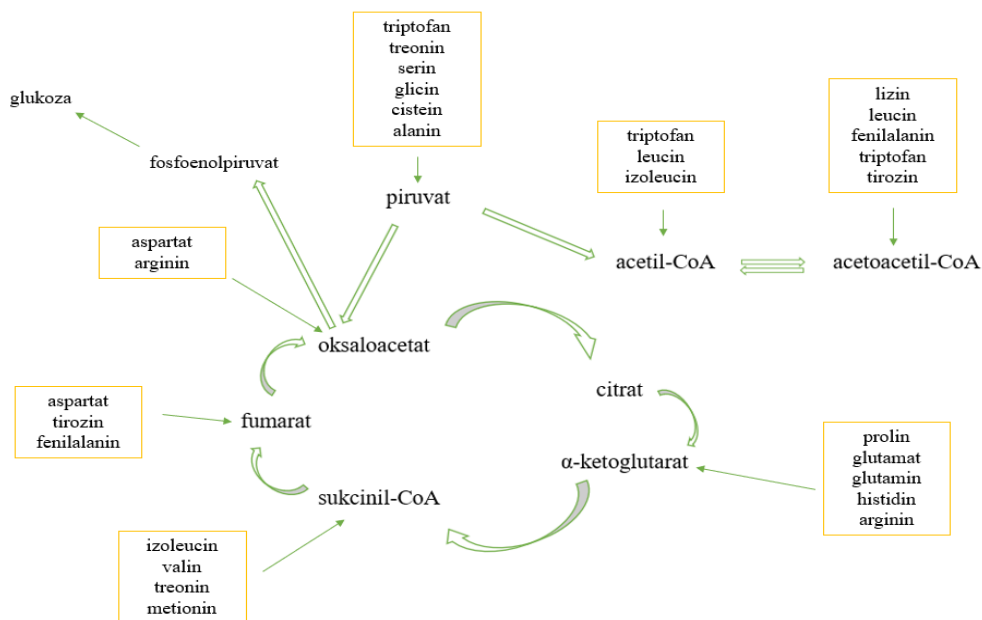
Razgradnjom proteina u crijevu stvaraju se aminokiseline koje se prenose unutar organizma. Prvotna uloga aminokiselina je da služe kao gradivni blokovi, ali kada se ne mogu koristiti za tu svrhu mogu se razgraditi u spojeve koji se mogu iskoristiti za druge metaboličke puteve. Razgradnja aminokiselina se glavnim dijelom odvija u jetrima, ali se aminokiseline s alifatskim bočnim ogrankom, mogu razgrađivati i u mišićima. Prvi korak u razgradnji je uklanjanje dušika. U ovom koraku se  $\alpha$ -amino-skupina prenosi s  $\alpha$ -aminokiseline na  $\alpha$ -ketokiselinu i tu reakciju kataliziraju enzimi aminotransferaze koje nazivamo i transaminazama [2].

Ovom reakcijom nastaje glutamat koji se oksidacijski deaminira i daje amonijev ion. Glavni predstavnici aminotransferaza su aspartat-aminotrasferaza, koji katalizira prijenos amino-skupine s aspartata na  $\alpha$ -ketoglutarat pri čemu nastaju oksaloacetat i glutamat, i alanin-aminotransferaza, koji katalizira prijenos amino-skupine s alanina na  $\alpha$ -ketoglutarat pri čemu nastaju piruvat i glutamat. Reakcije koje kataliziraju ovi enzimi zbivaju se u citoplazmi. Sljedeći bitan enzim je glutamat-dehidrogenaza koji katalizira reakciju u kojoj se dušikov atom na glutamatu oksidacijskom aminacijom prevodi u amonijev ion. Enzim može koristiti i  $\text{NAD}^+$  i  $\text{NADP}^+$  i nalazi se u mitohondrijima. Nastali amonijev ion se može iskoristiti za biosintezu spojeva s dušikom, a višak se pretvara u ureu u ciklusu uree i izlučuje se iz organizma [2].

Nakon uklanjanja amino-skupine s aminokiselina preostaju ugljikove okosnice. Glavna bit razgradnje aminokiselina je da se njihovom razgradnjom dobiju glavni metabolički međuprodukti. Ti se međuprodukti mogu pretvoriti u glukozu ili oksidirati u ciklusu limunske kiseline. Svih dvadeset aminokiselina se mogu metabolizirati do sedam glavnih molekula: acetil-CoA, acetoacetil-CoA, piruvat,  $\alpha$ -ketoglutarat, oksaloacetat, fumarat i sukcinil-CoA. Ovisno na koje se metaboličke produkte aminokiseline razgrađuju možemo ih podijeliti na ketogene i na glukogene aminokiseline. Ketogene aminokiseline daju ketonska tijela i masne kiseline, a razgrađuju se na acetil-CoA ili acetoacetil-CoA. Glukogene aminokiseline su one koje se razgrađuju na ostale međuprodukte, odnosno na piruvat, fumarat, oksaloacetat, sukcinil-CoA ili  $\alpha$ -ketoglutarat. Oni su međuprodukti ciklusa limunske kiseline i iz njih je moguće sintetizirati glukozu [2].

Na slici 9. prikazani su putevi u koje mogu ići ugljikove okosnice aminokiselina i koji će nadalje biti ukratko opisani. Piruvat može nastati iz šest aminokiselina a to su alanin, serin, cistein, glicin, treonin i triptofan. Alanin transaminacijom izravno daje piruvat, deaminacijom serina uz pomoć enzima serin-dehidrataze također nastaje piruvat, a cistein na čak nekoliko načina može dati piruvat. Sve navedene aminokiseline imaju po tri ugljikova atoma. Glicin se prevodi u serin, koji može dati piruvat, enzimskom adicijom hidroksimetilne skupine ili se cijepa i daje ugljikov dioksid, amonijev ion i jedinice s jednim ugljikovim atomom. Tri ugljikova atoma iz triptofana se pojavljuju u alaninu koji se prevodi u piruvat, a treonin preko 2-amino-3-ketobutirata daje piruvat. Nadalje, oksaloacetat može nastati iz dvije aminokiseline, aspartata i asparagina. Aspartat se izravno transaminira u oksaloacetat, ali se može prevesti i u fumarat. Asparagin se hidrolizira uz pomoć enzima asparaginaze pri čemu nastaje amonijev ion i aspartat koji se transaminira i daje oksaloacetat. Aminokiseline s pet ugljikovih atoma ulaze u metabolizam kao  $\alpha$ -ketoglutarat na način da

se najprije prevedu u glutamat. Glutamat će se oksidacijski deaminirati i nastat će  $\alpha$ -ketoglutarat. Te aminokiseline su arginin, glutamin, histidin, prolin kao i sam glutamat. Za nekoliko nepolarnih aminokiselina kao što su metionin, izoleucin i valin, sukcinil-CoA je ulazna točka u metabolički put. U razgradnji ovih aminokiselina međuprodukti su propionil-CoA i metilmalonil-CoA. Aminokiseline s razgranatim ugljikovim okosnicama daju tri produkta, acetil-CoA, acetoacetat i propionil-CoA. Leucin se transaminira u  $\alpha$ -ketokiselinu koja se nadalje oksidacijski dekarboksilira u izovaleril-CoA. Izovaleril-CoA se dehidrogenira i kroz daljnje reakcije na kraju daje acetil-CoA i acetoacetat. Oksidacijska dekarboksilacija valina i izoleucina je analogna pretvorbi piruvata u acetil-CoA ili  $\alpha$ -ketoglutarata u sukcinil-CoA. I na kraju razgradnjom aromatskih aminokiselina nastaju fumarat, acetoacetat i piruvat. Njihov put razgradnje nije izravan i za cijepanje aromatskog prstena u ovim se reakcijama koristi molekularni kisik. Primjer ovakvih razgradnja je razgradnja fenilalanina i triptofana. Razgradnja fenilalanina započinje hidroksiliranjem tirozina, a za krajnji produkt daje fumarat i acetoacetat, dok je za razgradnju triptofana potrebno nekoliko oksigenaza, a konačni produkt je acetoacetat [2].



Slika 9. Sudbine ugljikovih okosnica aminokiselina. [2]

## 5. POREMEĆAJI U METABOLIZMU AMINOKISELINA

Kao što je rečeno, aminokiseline su gradivni blokovi proteina i enzima, one grade okosnice spojeva na bazi dušika kao što su hormoni, melanin, citokromi, neurotransmiteri, nukleotidi i ostali spojevi. Tijelo koristi aminokiseline u višestrukim mehanizmima kao što su recikliranje, transaminacija i proizvodnja energije. Proteini ne služe samo kao gradivne jedinice, već se mogu i metabolizirati u svrhu proizvodnje energije. Kada je potrebno, ugljikove se okosnice mogu iskoristiti za proizvodnju glukoze i drugih derivata kako bi se osigurala dovoljna količina glukoze i dovoljna količina energije [5].

Urođene pogreške metabolizma aminokiselina rezultiraju abnormalijama u razgradnji aminokiselina u tijelu. Abnormalije se pojavljuju pri crijevnoj apsorpciji, bubrežnom izlučivanju i reapsorpciji, sintezi funkcionalnih proteina i metabolizmu. Kao rezultat toga, aminokiseline i metabolički intermedijeri se nakupljaju u krvi i tkivima. Simptomi bolesti manifestiraju se kao rezultat toksičnosti nakupljenih međuprodukata ili nedostatka metaboličkih produkata. Na aminoacidopatije (poremećaji metabolizma aminokiselina), i druge urođene pogreške metabolizma može se posumnjati na temelju nespecifičnih simptoma dojenčadi i djece, a rjeđe kod odraslih, uključujući abnormalnu pospanost, poteškoće u razvoju, probavne i neurološke probleme, poremećaje kretanja i povijest metaboličkih poremećaja [6].

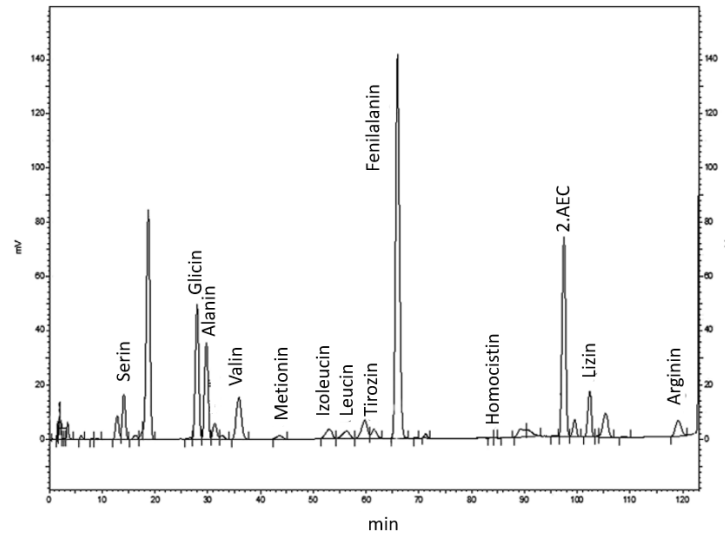
Mjerenje organskih kiselina u mokraći, aminokiselina u plazmi i acilkarnitina prikladni su testovi probira za početnu procjenu poremećaja u metabolizmu aminokiselina. Čimbenici koji utječu na rezultate testova uključuju lijekove, istodobnu bolest i stanje uhranjenosti. Na primjer, smanjeni unos proteina ili povećani katabolizam zbog produljenog povraćanja ili gladovanja može rezultirati povećanjem aminokiselina razgranatog lanca, oponašajući bolest urina javorovog sirupa. Određeni lijekovi, antidepresivi i antiepileptici, mogu izazvati povišenje glicina, što se može pogrešno dijagnosticirati kao nekatotička hiperglicinemija. Zatajenje jetara može uzrokovati nespecifične poremećaje brojnih aminokiselina. Uzorci urina posebno su sklони utjecaju prehrane i lijekova, što se može netočno protumačiti kao klinički značajno povećanje aminokiselina [6]. Poremećaji u metabolizmu aminokiselina su brojni i vrlo često problematični i zato ih je vrlo bitno kontrolirati, a neki od njih će biti opisani u nastavku.



## 5.1. FENILKETONURIJA

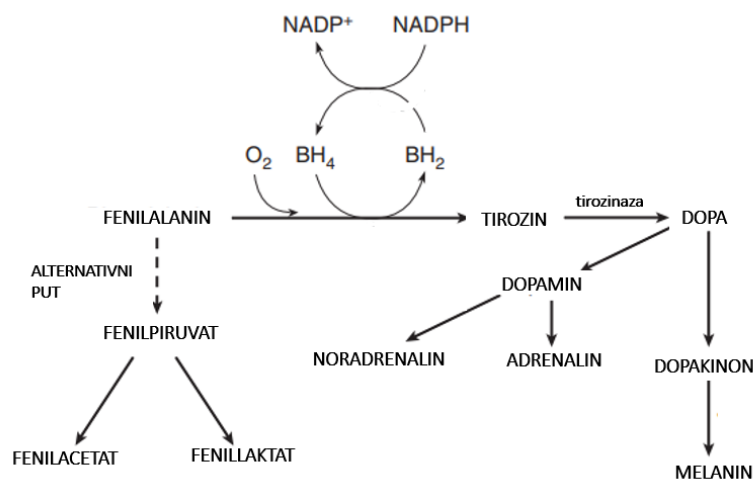
Fenilketonurija (PKU) ili hiperfenilalaninemija (HPA) je nasljedna autosomno recesivna metabolička bolest koju karakterizira smanjenje aktivnosti enzima fenilalanin-hidroksilaze (PAH). Norveški biokemičar i liječnik Asbjorn Folling otkrio je fenilketonuriju 1934. godine otkrivši fenilketone u urinu braće i sestara s mentalnom retardacijom, a naknadno je promjena metabolizma fenilalanina identificirana kao uzrok ove bolesti. Fenilalanin-hidroksilaza je enzim koji pretvara fenilalanin u tirozin u prisutnosti kofaktora tetrahidrobiopterina (BH<sub>4</sub>) i molekularnog kisika. Gubitak aktivnosti fenilalanin-hidroksilaze rezultira povišenim koncentracijama fenilalanina u krvi. [7].

Fenilketonurija je primjer učinkovitosti probira kod novorođenčadi jer je to bila prva nasljedna metabolička bolest u kojoj su pojedinci identificirani probirom novorođenčadi i liječeni određenom prehranom prije razvoja intelektualnog invaliditeta povezanog s neliječenom fenilketonurijom. Ako se ne liječi ili neučinkovito liječi, fenilketonurija može uzrokovati teške intelektualne teškoće, kao i složene neurološke poremećaje i poremećaje ponašanja. Teško pogođeni pacijenti ne mogu živjeti samostalno, često im je potrebna specijalizirana i kontinuirana skrb pod nadzorom. Suprotno tome, rano i kontinuirano liječeni pacijenti obično imaju normalan ili gotovo normalan kognitivni razvoj. Fenilalanin je nezamjenjiva aminokiselina koju ljudsko tijelo ne može sintetizirati. Nalazi se u 3-7 % svih proteina u prehrani. Nakon unosa proteina i probave, fenilalanin se apsorbira iz gastrointestinalnog trakta u jetru putem portalne vene. Fenilalanin se ili hidroksilira u tirozin putem fenilalanin-hidroksilaze u jetri ili se ugrađuje u nove proteine u tkivima. Fenilketonurija se, zbog smanjene aktivnosti fenilalanin-hidroksilaze, manifestira spektrom poremećaja. Nedostaci u aktivnosti kofaktora tetrahidrobiopterina predstavljaju skupinu metaboličkih poremećaja koji rezultiraju ne samo fenilketonurijom, već i promjenama u metabolizmu tirozina (Tyr) i triptofana (Trp). Stoga je pravilan rad BH<sub>4</sub> neophodan za sintezu dopamina, kateholamina, serotonina, melanina i dušikovog oksida. Fenilalanin se također može transaminirati u fenilpirogroždanu kiselinu kao alternativa hidroksilaciji pomoću fenilalanin-hidroksilaze. Fenilpirogroždana kiselina se, zajedno s drugim ketonima, izlučuje u urinu kao feniloktenu kiselina, acetilglutamin i fenilaktična kiselina. Ovaj put metabolizma fenilalanina mnogo je manje učinkovit od hidroksilacije [7]. Slika 10. prikazuje profil aminokiselina u plazmi bolesnika s fenilketonurijom, i iz profila se vidi da su vrijednosti fenilalanina jako visoke.



Slika 10. Profil aminokiselina u plazmi osobe s fenilketonurijom [6].

Enzim fenilalanin-hidroksilaza ima kompliciranu strukturu koja se sastoji od tri domene: regulatorne, katalitičke i C-terminalne domene. Regulacijska domena sadrži serinski ostatak koji je uključen u aktivaciju fosforilacijom. Katalitička domena odgovorna je za vezanje kofaktora i feri željeza, dok C-terminalna domena ima ulogu u međupodjedinичnom vezanju. Jetra je primarno mjesto aktivnosti fenilalanin-hidroksilaze, ali se enzim također sintetizira u bubrezima, gušterači i mozgu. Slika 11. prikazuje metabolizam fenilalanina. Fenilalanin-hidroksilaza i tetrahidrobiopterin u prisutnosti molekularnog kisika ( $O_2$ ) pretvaraju fenilalanin u tirozin. Alternativni put metabolizma fenilalanina rezultira nakupljanjem fenilalanina, kao i fenilpirogroždane kiseline i drugih fenilketona koji se izlučuju urinom [7].



Slika 11. Metabolizam fenilalanina (preuzeto i adaptirano [8])

Najvažnija, a ponekad i jedina manifestacija fenilketonurije je mentalno oštećenje. Inteligencija neliječenih pacijenata je vrlo niska (izuzetak je svega 1 %), s IQ-om obično ispod 50. Nekoliko pacijenata s neliječenom fenilketonurijom imalo je graničnu inteligenciju. Novorođenčad s fenilketonurijom izgleda normalno pri rođenju. Poremećaj mentalnog razvoja možda neće biti vidljiv mjesecima. Povraćanje može biti istaknuti rani simptom. Ekcematoidni osip i neobičan miris na feniloctenu kiselinu, opisan kao pljesniv, također se mogu primijetiti vrlo rano u životu. Bolesnici su svijetle kose, svijetle puti i plavih očiju u preko 90 % slučajeva. Neurološke manifestacije obično nisu izražene, no neki od bolesnika imaju sve znakove cerebralne paralize. Napadi se javljaju u četvrtine bolesnika. Obično nisu istaknuti niti ih je teško kontrolirati. Ipak, oko 80 % ima abnormalnosti u moždanoj aktivnosti. Hiperaktivnost i problemi u ponašanju su česti. Urođene srčane bolesti vrlo su česte i neki pacijenti imaju manje malformacije kao što su široko razmaknuti sjekutići, epikantus, okomiti kožni nabor uz korijen nosa pokriva unutarnji očni kut, i djelomična sindaktilija, stanje u kojemu su dva prsta spojena [9].

Temelj upravljanja prehranom kod fenilketonurije je ograničavanje konzumacije štetne aminokiseline, fenilalanina. Općenito, terapijska dijeta je ograničena na svu hranu bogatu proteinima, kao što su meso, riba, jaja, orašasti plodovi, mliječni proizvodi, mahunarke, kruh i tjestenina. Količina fenilalanina koju pacijent može konzumirati dnevno ovisi o rezidualnoj aktivnosti fenilalanin-hidroksilaze i drugim čimbenicima uključujući dob pacijenta i brzinu rasta [7].

Koncept ograničavanja fenilalanina u prehrani prvi su put demonstrirali Bickel i sur. u ranim 50-ima jer su pokazali pozitivne učinke na ponašanje mladog bolesnika s fenilketonurijom. Razvoj formula koje su imale malo fenilalanina, ali su sadržavale druge aminokiseline, omogućile su dijetetsko liječenje fenilketonurije. Tijekom ranih godina liječenja fenilketonurije općenito se vjerovalo da se dijeta s niskim unosom fenilalanina može prekinuti oko 6. godine života bez nuspojava; no novije studije pokazuju da je za najbolji ishod "dijeta za cijeli život" optimalan način liječenja. Prema nedavnim preporukama Nacionalnog instituta za zdravlje iz 2012., liječenje treba započeti kod svih bolesnika s hiperfenilalaninemijom tj. s koncentracijom fenilalanina u krvi većom ili jednakom 360  $\mu\text{mol/L}$ . Trenutne prakse liječenja u Europi uvelike se razlikuju, ali većina centara također koristi vrijednost od  $\geq 360 \mu\text{mol/L}$  kao indikaciju za dijetetsko liječenje [7].

## 5.2. BOLEST URINA MIRISA JAVOROVOG SIRUPA

Bolest urina mirisa javorovog sirupa (MSUD) je poremećaj metabolizma aminokiselina razgranatog lanca. Povećane količine leucina, izoleucina i valina te njihovih odgovarajućih ketokiselina se nakupljaju u tjelesnim tekućinama. Bolest su prvu opisali 1954. godine Menkes i suradnici. Oni su primjetili neobičan miris koji je vrlo sličan mirisu javorovog sirupa u urinu četvero dojenčadi koja su preminula od progresivne encefalopatske bolesti u prvim tjednima života. Visoke koncentracije razgranatih aminokiselina su otkrili Westall i suradnici, a izolirane su i identificirane ketokiseline izdvojene iz svake aminokiseline [9].

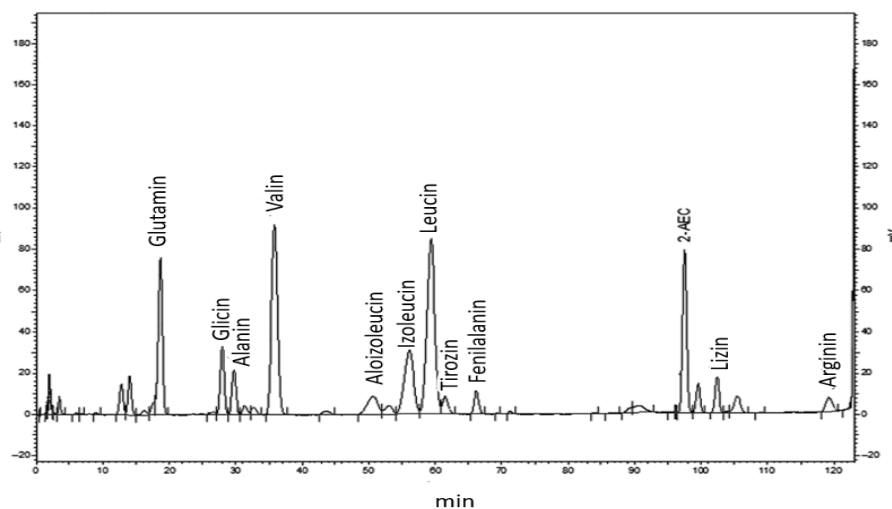
Ketokiseline se slobodno reaminiraju u roditeljske aminokiseline. Karakterističan miris ketokiselina razgranatog lanca daje urinu miris koji podsjeća na javorov sirup ili pregoreni šećer. Bolest urina mirisa javorovog sirupa uzrokovana je nedostatkom kompleksa dekarboksilaze koji je uključen u metabolizam aminokiselina razgranatog lanca. Dekarboksilaza se sastoji od četiri podjedinice: E1-a, E1-b, E2 i E3. Specifična kinaza i fosfataza aktiviraju i deaktiviraju enzimski kompleks. Većina pacijenata s ovom bolesti ima mutacije koje uključuju podjedinicu E1-a koja dekarboksilira ketokiselinu, iako su opisani defekti proteina E1-b. Mutacija E1-a obično uzrokuje neispravno sastavljanje heterotetramernog (a<sub>2</sub>b<sub>2</sub>) proteina E1. Mutacije E2 ili E3 ostataka izuzetno su rijetke. Podjedinica E3 zajednička je drugim dekarboksilacijskim sustavima, uključujući piruvat dehidrogenazu i 2-okso-glutarat dehidrogenazu. Stoga, mutacije u ovom proteinu mogu uzrokovati mliječnu acidozu i poremećenu aktivnost ciklusa trikarboksilne kiseline, kao i nakupljanje aminokiselina razgranatog lanca [10].

Postoje različiti oblici bolesti javorovog sirupa, koji se razlikuju po težini i opsegu nedostatka dekarboksilaze. Što je niža aktivnost enzima, simptomi su teži. Klasični oblik bolesti ima vrlo nisku aktivnost enzima. Simptomi se razvijaju u novorođenčadi nekoliko dana nakon rođenja, a uključuju sladak miris urina, znoja i ušnog voska, slabo hranjenje, povraćanje, nepravilno disanje, epizode ukočenosti mišića (hipertonija) s kontrastnim epizodama mlitavosti (hipotonija), letargija, visoka razine kiseline u krvi (metabolička acidoza), napadaji i koma. Poteškoće u učenju i problemi u ponašanju mogu biti vidljivi kod starije djece. U sljedećem obliku postoji aktivnost enzima koja je otprilike 3-8 % normalne razine. Simptomi se obično razvijaju unutar prvih nekoliko mjeseci života, kada je dijete bolesno ili gladuje. Simptomi su isti kao i kod klasičnog oblika, ali obično blaži. U intermitentnom obliku postoji aktivnost enzima koja je otprilike 8-15 % normalne razine .

U ovom obliku poremećaj se obično javlja čak i kasnije u djetinjstvu. Ta su djeca obično zdrava, ali simptome izaziva infekcija, gladovanje ili operacija. Simptomi su slični onima koji se javljaju u klasičnom obliku, a oboljele osobe također mogu biti nesposobne koordinirati voljne pokrete (ataksija). Djeca s oblikom koji reagira na tiamin imaju blage ili povremene simptome, koji se popravljaju uzimanjem tiamina. To je zato što u ovom obliku tiamin povećava aktivnost dekarboksilaze. Ovaj oblik je vrlo rijedak [11].

Klasični oblik bolesti stoga se klinički očituje tek nakon nekoliko dana nakon rođenja. Početna faza naizmjenične razdražljivosti i letargije napreduje tijekom nekoliko dana do otvorene kome i respiratorne neugodnosti. Ireverzibilna oštećenja mozga česta su kod beba koje prežive, osobito kod onih čije je liječenje odgođeno nakon prvog tjedna života. Preživjeli mogu pretrpjeti metabolički recidiv u bilo kojem trenutku. Kao posljedica toga, ograničena sposobnost pacijenta da oksidira aminokiseline razgranatog lanca je nadjačana i ti se spojevi, zajedno sa svojim srodnim ketokiselinama, nakupljaju do toksične razine. Bolesnici s djelomičnim nedostatkom enzima mogu kasnije u životu imati intermitentnu ketoacidozu, krajnju iscrpljenost i rekurentnu ataksiju. Koncentracije aminokiselina razgranatog lanca u plazmi su povišene tijekom ovih epizoda, ali mogu biti normalne ili blizu njih normalno u razdobljima kada su pacijenti metabolički nadoknađeno. Rijetki bolesnici reagiraju na primjenu velikih doza tiamina (10-30 mg/dan). Tiamin je kofaktor za ketoacid-dehidrogenazu razgranatog lanca. Pretpostavlja se da do mutacija dolazi zbog pogrešnog vezanja apoproteina na ovaj vitamin [10].

Dijagnoza bolesti urina mirisa javorovog sirupa temelji se na značajnom povećanju aminokiselina razgranatog lanca, osobito leucina, kvantitativnom analizom aminokiselina u plazmi. Povišenje aloizoleucina je karakteristično za ovu bolest, iako se ne mora otkriti svim metodama analize aminokiselina. Nedostatak podjedinice E3 također dovodi do povećanja alanina, piruvata i laktata u plazmi, kao i  $\alpha$ -ketoglutarata u mokraći. Slika 12. prikazuje da je kod bolesnika s poznatim MSUD-om i akutnom bolešću prisutan aloizoleucin; leucin iznosi 911  $\mu\text{mol/L}$  (3,4 puta gornja granica normale), valin 858  $\mu\text{mol/L}$  (2,8 puta gornja granica normale), a izoleucin 430  $\mu\text{mol/L}$  (3,6 puta gornja granica normale) [6].



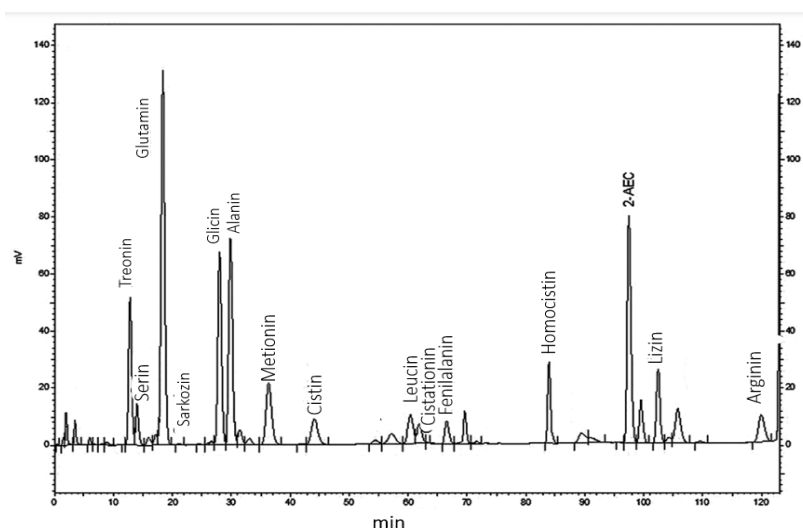
Slika 12. Profil aminokiselina u plazmi bolesnika s MSUD [6].

Dugotrajno liječenje podrazumijeva ograničenje unosa aminokiselina s razgranatim lancem. To se postiže davanjem posebne formule iz koje su te aminokiseline uklonjene. Izgledi za intelektualni razvoj su povoljni u mladima kod kojih je dijagnoza rano postavljena i koji ne pate od ponavljajućih, teških epizoda metaboličke dekompenzacije. Genska terapija za ovaj metabolički defekt mogla bi postati dostupna u sljedećih nekoliko godina [10].

### 5.3. HOMOCISTINURIJA

Homocistinurija je nasljedni poremećaj u kojem tijelo ne može pravilno obraditi određene aminokiseline. Najčešći oblik stanja uzrokovan je nedostatkom enzima koji se zove cistationin- $\beta$ -sintaza (CBS). Ovaj oblik homocistinurije karakteriziran je dislokacijom leće u oku, povećanim rizikom od abnormalnih krvnih ugrušaka i abnormalnostima kostura. Problemi s razvojem i učenjem također su očiti u nekim slučajevima. Manje uobičajeni oblici homocistinurije uzrokovani su nedostatkom drugih enzima uključenih u preradu aminokiselina. Ovi poremećaji mogu uzrokovati mentalnu retardaciju, napadaje, probleme s kretanjem i poremećaj krvi koji se naziva megaloblastična anemija. Homocistinurija uzrokovana nedostatkom CBS pogađa najmanje 1 od 200 000 do 335 000 ljudi diljem svijeta. Enzim CBS kodira CBS gen. Ovaj je enzim odgovoran za jedan korak u kemijskom putu koji razgrađuje aminokiselinu metionin. Druge aminokiseline, uključujući homocistein, također su uključene u ovaj put. Mutacije u CBS genu ometaju funkciju CBS, sprječavajući pravilnu upotrebu homocisteina. Kao rezultat, ova aminokiselina i druge potencijalno toksične tvari nakupljaju se u krvi, a dio viška homocisteina izlučuje se urinom [12].

Biomarkeri za dijagnozu nedostatka CBS-a uključuju povećane razine homocisteina i metionina u plazmi i urinu, kao i snižene razine cisteina, cistationina i normalne do niske razine metilmalonske kiseline. Klasična homocistinurija često se dijagnosticira na temelju abnormalnog rezultata pregleda krvnih mrlja novorođenčadi (eng. *Newborn bloodspot screening*, NBS). Pacijentima se ističe povišena razina metionina. Preporuča se naknadno testiranje aminokiselina i ukupnog homocisteina u plazmi. Povišeni homocistein zajedno s povišenim metioninom pokazatelj je homocistinurije. Ovaj profil aminokiselina na slici 13. potječe od pacijenta sa slabo kontroliranim nedostatkom CBS-a. Ukupni homocistein je 227  $\mu\text{mol/L}$  (111 puta gornja granica normale), metionin 91  $\mu\text{mol/L}$  (1,7 puta gornja granica normale), a cistin 11  $\mu\text{mol/L}$  (normalni raspon: 7–54  $\mu\text{mol/L}$ ) [6].



Slika 13. Profil aminokiselina u plazmi pacijenta s nedostatkom CBS-a [6].

Cilj liječenja je smanjiti koncentraciju homocistina u tijelu, a time i mogućnost daljnjeg sistemskog oštećenja. Dostupna su tri glavna načina liječenja. Prva intervencija obično je davanje dodatnih vitamina. Otprilike polovica pacijenata reagira na piridoksin (vitamin B6) u dozama do 500 mg/dan. To povećava pretvorbu homocistina u cistin. Strahovi o rizicima od senzorne neuropatije tijekom dugotrajnog liječenja piridoksinom su otklonjeni, ali se preporučuje korištenje najmanje doze koja je kompatibilna s odsutnošću homocistina u plazmi. Potrebno je unositi dodatni folat i vitamin B2 kako bi se postigao odgovarajući odgovor na piridoksin [13].

Ako pacijent ne reagira, potrebno je razmotriti ograničenje metionina u prehrani - između 10 i 40 mg/dan. Treći terapijski pristup je smanjenje koncentracije homocistina poticanjem njegove pretvorbe natrag u metionin pomoću metilnog donora, betaina, ili njegovog prekursora, kolina. Dijetetsko liječenje potrebno je popratiti liječenjem specifičnih sustavnih problema [13].

#### 5.4. TIROZINEMIJA

Nasljedna tirozinemija tipa I je recesivna nasljedna bolest uzrokovana nedostatkom jetrenog enzima fumarilacetoacetat-hidrolaze (FAH), koji sudjeluje u katabolizmu tirozina. Nedostatak uzrokuje nakupljanje visokotoksičnih metaboličkih proizvoda u jetri, bubrezima i perifernim živcima. Tirozin je aminokiselina prisutna u životinjskim proteinima i manjim dijelom u biljnim proteinima. Nedostatak FAH izvorno je bio povezan s povišenim razinama jetrenih transaminaza, kao i s povišenim razinama tirozina, metionina i fenilalanina u plazmi te s povišenim koncentracijama metabolita tirozina u urinu (*p*-hidroksifenilpiruvat, *p*-hidroksifenillaktat i *p*-hidroksifenilacetat) [15].

Hipertirozinemija može biti uzrokovana brojnim drugim stanjima koja utječu na jetru, a također je i značajka prolazne tirozinemije novorođenčeta, stanja koje se spontano povlači bez značajnih oštećenja. Pacijenti s nasljednom tirozinemijom tipa 1 (HT1) obično imaju visoke razine  $\alpha$ -fetoproteina (AFP) u plazmi i visoke razine sukcinilacetona u plazmi i urinu. [13]. Neliječena tirozinemija tipa I obično se javlja kod male dojenčadi s teškim oštećenjem jetre ili kasnije u prvoj godini s disfunkcijom jetre i bubrežnih tubula povezanih sa zatajenjem rasta i rahitisom. Neliječena djeca mogu imati ponovljene, često neprepoznate, neurološke krize u trajanju od sedam dana koje mogu uključivati promjenu mentalnog statusa, bolove u trbuhu, perifernu neuropatiju i/ili respiratorno zatajenje koje zahtijeva mehaničku ventilaciju. Smrt u neliječenog djeteta obično nastupa prije desete godine života, obično zbog zatajenja jetre, neurološke krize ili hepatocelularnog karcinoma. Kombinirano liječenje nitizinsonom i dijetom s niskim udjelom tirozina rezultiralo je stopom preživljavanja većom od 90 %, normalnim rastom, poboljšanom funkcijom jetre, prevencijom ciroze, korekcijom bubrežne tubularne acidoze i poboljšanjem kod sekundarnog rahitisa [15].

Do 1992. godine liječenje nasljedne tirozinemije tipa 1 sastojalo se samo od dijete koja je bila ograničena na fenilalanin i tirozin. Isključivo ograničavanje tirozina u prehrani nije dovoljno jer se prekursora fenilalanina velikim dijelom pretvaraju u tirozin.

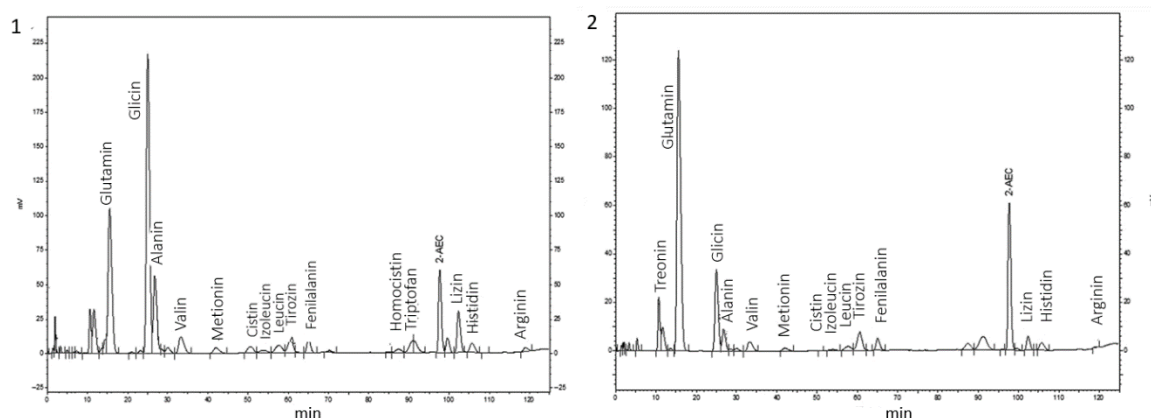
Dijeta je ponekad dovodila do privremene kliničke stabilizacije, ali nije spriječila razvoj raka



jetre, bubrežne tubulopatije i drugih ozbiljnih posljedica. Dakle, prije 2-(2 nitro-4-3 trifluorometilbenzoil)-1,3-cikloheksandiona (NTBC) transplantacija jetre bila je prije ili kasnije neophodna kod svakog bolesnika. NTBC inhibira aktivnost enzima 4-hidroksifenilpiruvat-dioksigenaze (HPPD), koji katalizira pretvorbu 4-hidroksifenilpiruvata (HPP) u homogenizat. NTBC dovodi do visokih koncentracija tirozina koje mogu ugroziti neurokognitivni razvoj, stoga je dijeta s niskim sadržajem fenilalanina i tirozina neophodna kod svih pacijenata koji se liječe NTBC-om [16].

## 5.5. NEKETOTIČKA HIPERGLICINEMIJA

Neketotička hiperglicinemija (NKH) je autosomno recesivni poremećaj metabolizma glicina, karakteriziran abnormalno visokim koncentracijama glicina u plazmi i cerebrospinalnoj tekućini, kao što se može vidjeti na slici 14. Na slici 14. prvi prikaz pokazuje povišenu razinu glicina u plazmi, dok drugi prikaz pokazuje povišenu razinu glicina u cerebrospinalnoj tekućini [17].



Slika 14. Profili aminokiselina u plazmi (1) i cerebrospiralnoj tekućini (2) [6].

Primarna lezija u neketotičkoj hiperglicinemiji nalazi se u sustavu cijepanja glicina (GCS) s mitohondrijskim multienzimskim komponentama. Studije NKH-a razjasnile su fiziološki značaj sustava za cijepanje glicina: djeluje kao glavni put razgradnje glicina u kralješnjaka. Kod pacijenata s neketotičkom hiperglicinemijom utvrđen je nedostatak P-proteina, komponente sustava za cijepanje glicina. GCS katalizira pretvorbu glicina i tetrahidrofolata u  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$  i metilen-tetrahidrofolat. GCS je mitohondrijski multienzimski sustav s četiri pojedinačne komponente: P-protein (glicin dehidrogenaza (dekarboksilacija)), H-protein (protein nosač vodika), T-protein (aminometiltransferaza) i L-protein (dihidrolipoamid dehidrogenaza). U razgradnji glicina pomoću GCS-a, P-protein i H-protein

doprinosu početnom koraku dekarboksilacije. GCS je specifično izražen u jetri, bubrezima i mozgu [17].

Neonatalni oblik NKH karakterizira pojava, već u prvim danima života, letargije, miokloničkih trzaja i karakterističnog "štucanja". Brzo napredovanje može dovesti do teško izlječivih napadaja, kome i respiratornog zatajenja koji zahtijevaju mehaničku ventilaciju. Ishod je obično loš, neki pacijenti umiru kao novorođenčad; preživjeli obično pokazuju ozbiljnu mentalnu retardaciju i napadaje. Nedostatna aktivnost sustava cijepanja glicina dovodi do nakupljanja velikih količina ove aminokiseline u središnjem živčanom sustavu, koja alosterički aktivira *N*-metil-D-aspartatne (NMDA) receptore hipokampusa, cerebralnog korteksa, olfaktornog bulbosa i cerebeluma, s ekscitotoksičnim učinkom, uzrokujući teške napadaje. Nasuprot tome, nakupljanje velikih količina glicina u moždanom deblu i leđnoj moždini proizvodi inhibitorni učinak na NMDA, uzrokujući apneju, štucanje i difuznu hipotoniju. Neurološka oštećenja povezana s NKH uglavnom se pripisuju pretjeranoj stimulaciji NMDA receptora. NKH se dijagnosticira na temelju povišene razine glicina u krvi, urinu i cerebrospinalnoj tekućini (likvoru), nakon isključenja organske acidurije. Postoje neki klinički izvještaji o upotrebi lijekova za čišćenje koji smanjuju razinu glicina, kao što je visoka doza natrijevog benzoata, ili lijekova koji smanjuju ekscitatorna svojstva NMDA receptora, kao što su ketamin i deksmetorfan, ali ishod nije pokazao nikakvo značajno poboljšanje, pa čak i kada se liječenje započne rano, ono je nezadovoljavajuće, s bolešću koja slijedi svoj prirodni tijek. Ketogena dijeta uspješno je isprobana za napadaje koji ne odgovaraju na liječenje kod pedijatrijskih pacijenata koji pate od različitih epileptičkih sindroma; oponaša biokemijski odgovor na gladovanje kada ketonska tijela, a ne glukoza, postaju glavno gorivo u opskrbi mozga energijom. Smatra se terapijom izbora za nekoliko specifičnih patologija i treba je uzeti u obzir u svakom slučaju dječje epilepsije s tešku rezistenciju na lijekove, čak i ako je njegov točan mehanizam djelovanja na epileptičke napadaje još uvijek slabo poznat [18].

## 5.6. POREMEĆAJI CIKLUSA UREE

Ciklus uree je metabolički put koji eliminira višak endogenog i egzogenog dušika iz tijela prevođenjem amonijaka u ureu. Ovaj ciklus se sastoji od šest različitih enzima, tri se nalaze u mitohondrijskom matriksu (*N*-acetilglutamat sintaza, NAGS; karbamoil-fosfat-sintetaza 1, CPS 1 i ornitin-transkarbamoilaza, OTC), a ostala se tri nalaze u citosolu (argininosukcinat-sintetaza, ASS; argininosukcinat-liaza, ASL i arginaza). Od primarnih

defekata u ciklusu ureje najčešći je nedostatak ornitin-transkarbamoilaze [19].

Ciklus započinje u jetrenim mitohondrijima, gdje  $\text{NH}_3$ ,  $\text{HCO}_3^-$  i ATP tvore karbamoil-fosfat u reakciji koju katalizira karbamoil-fosfat-sintetaza. N-acetilglutamat (NAG), nastao iz glutamata i acetil-CoA putem N-acetilglutamat sintetaze, obavezan je efektor CPS-a i važan regulator ureageneze. Razni utjecaji, uključujući prehrambene proteine, arginin i kortikosteroide, povećavaju koncentraciju NAG. Karbamoil-fosfat se kondenzira s ornitinom da bi se dobio citrulin u reakciji ornitin-transkarbamoilaze. Aktivnost ovog enzima izravno je povezana s proteinima u prehrani. U jetrenom citosolu, citrulin reagira s aspartatom i formira argininosukcinat, kataliziran argininosukcinat-sintetazom (AS). Koncentracija mRNA za ovaj enzim povećava se gladovanjem, kortikosteroidima ili cikličkim AMP-om. Sam citrulin snažno inducira koncentraciju mRNA. Argininosukcinat-liaza cijepa argininosukcinat u fumarat, koji se oksidira u ciklusu trikarboksilne kiseline, i arginin, koji se hidrolizira u ureu i ornitin putem jetrene arginaze. I argininosukcinat-liaza i arginaza inducirane su gladovanjem, dibutiril cikličkim AMP-om i kortikosteroidima [10].

#### 5.6.1. Nedostatak karbamoil-fosfat-sintetaze

Nedostatak karbamoil-fosfat-sintetaze je rijedak. Novorođenčad brzo razvija letargiju, hipotermiju, povraćanje i razdražljivost. Hiperamonijemija je obično teška. Povremeni pacijenti s djelomičnim nedostatkom enzima imali su ponovni sindrom letargije i razdražljivosti nakon izlaganja proteinu. Oštećenje mozga može se pojaviti i kod novorođenčadi i kod osoba starije životne dobi [10].

#### 5.6.2. Nedostatak N-acetilglutamat sintetaze

Nedostatak CPS-a se također može se pojaviti neposredno nakon rođenja zbog odsutnosti N-acetilglutamat sintetaze, koja katalizira stvaranje N-acetilglutamata iz glutamata i acetil-CoA. N-acetilglutamat je obavezan efektor CPS-a. [10].

### 5.6.3. Nedostatak ornitin-transkarbamoilaze

Nedostatak ornitin-transkarbamoilaze je nasljedni poremećaj koji uzrokuje nakupljanje amonijaka u krvi. Amonijak, koji nastaje kada se proteini razgrađuju u tijelu, toksičan je pri visokim koncentracijama. Živčani sustav je posebno osjetljiv na učinke viška amonijaka. Nedostatak ornitin-transkarbamoilaze često postaje vidljiv u prvih nekoliko dana života. Dojenče s nedostatkom ornitin-transkarbamilaze može imati nedostatak energije (letargično) ili je nespremno jesti, sa slabom kontrolom brzine disanja ili tjelesne temperature. Neke bebe s ovim poremećajem mogu imati napadaje ili neobične pokrete tijela ili pasti u komu. Komplikacije nedostatka ornitin-transkarbamoilaze mogu uključivati kašnjenje u razvoju i mentalnu retardaciju. Također se mogu vidjeti progresivna oštećenja jetre, kožne lezije i lomljiva kosa. Kod nekih oboljelih osoba, znakovi i simptomi ornitin-transkarbamoilaze mogu biti manje ozbiljni i mogu se pojaviti tek kasnije u životu [10].

Nedostatak ornitin-transkarbamoilaze je genetska bolest. Kod nedostatka ornitin-transkarbamoilaze, enzim koji započinje specifičnu reakciju unutar ciklusa uree je oštećen ili nedostaje. Ciklus uree se ne može odvijati normalno, a dušik se nakuplja u krvotoku u obliku amonijaka. Amonijak posebno šteti živčanom sustavu, pa nedostatak ornitin-transkarbamoilaze uzrokuje neurološke probleme, ali i eventualno oštećenje jetre [20].

Nedostatak ornitin-transkarbamilaze je X-vezan poremećaj. Stanje se smatra X-vezanim ako se mutirani gen koji uzrokuje poremećaj nalazi na X kromosomu, jednom od dva spolna kromosoma. Kod muškaraca (koji imaju samo jedan X kromosom), jedna promijenjena kopija gena u svakoj stanici dovoljna je da izazove stanje. Kod žena (koje imaju dva X kromosoma), mutacije u obje kopije gena uzrokovat će poremećaj. Neke žene sa samo jednom promijenjenom kopijom OTC gena također pokazuju znakove i simptome nedostatka ornitin-transkarbamoilaze [20].

### 5.6.4. Citrulinemija

Citrulinemija je autosomno recesivna bolest uzrokovana nedostatkom argininosukcinat sintetaze. Argininosukcinat sintetaze je enzim ciklusa uree koji se eksprimira u visokim razinama u jetri. Enzim katalizira pretvorbu citrulina, aspartata i ATP-a da bi se dobio argininosukcinat, AMP i pirofosfat. Argininosukcinat sintetaza pročišćena iz ljudske jetre je citoplazmatski homotetramer. Klasični neonatalni oblik karakterizira hiperamonijemija, mentalna retardacija i rana smrt ako se ne liječi. Većina bolesnika s neonatalnom citrulinemijom ima potpuni ili gotovo potpuni nedostatak enzima i razvija

simptome tijekom prvih nekoliko dana života. Rijetki pacijenti imaju blaže stupnjeve nedostatka enzima i kasniju pojavu simptoma [21].

## 6. ZAKLJUČAK

Aminokiseline su gradivni blokovi koji grade proteine, vrlo su važan izvori dušika za prostetičke skupine, nukleotide i neurotransmitore, a mogu biti čak i izvor energije. Kako su aminokiseline važne molekule s višestrukim ulogama, njihov metabolizam je potrebno strogo regulirati da bi se osiguralo ispravno odvijanje svih reakcija. Međutim, ponekad kod urođenih pogrešaka u metabolizmu aminokiselina dolazi do poremećaja. Prilikom takvih pogrešaka aminokiseline se ne mogu pravilno apsorbirati, ne mogu sintetizirati funkcionalne proteine ili se pak izlučiti putem bubrega. Zbog toga se u organizmu aminokiseline i njihovi međuprodukti nakupljaju u krvi i tkivima i postaju štetni za ljudsko zdravlje. Pojava ovakvih bolesti je vrlo rijetka, ali prema raznim istraživanjima dokazano je kako su vrlo opasne za ljudski život. Bolesti metabolizma aminokiselina sprječavaju rast, razvoj, napredak, te normalno funkcioniranje bolesnika u svakodnevnom životu. Neki od tih poremećaja mogu dovesti i do smrti pojedinaca ako se ne primjenjuje ciljana terapija. Danas postoji veliki broj testova koji pridonose otkrivanju poremećaja u metabolizmu aminokiselina u ranom stadiju. Testovi se mogu provoditi i na djeci prije rođenja kako bi se na vrijeme ustanovila dijagnoza. Većina ovih bolesti imaju vrlo negativan utjecaj na mentalno zdravlje, mozak, jetru i ostale bitne organe. Oboljeli koji ne primaju adekvatnu terapiju imaju velikih poteškoća u svakodnevnom životu te im je potrebna cjelodnevna njega i skrb. Liječenje ovih poremećaja najviše se oslanja na regulaciju prehrane te ukidanje kritičnih aminokiselina iz svakodневnih obroka. Također, u današnje vrijeme postoje i medicinske terapije koje su u većini slučajeva vrlo efikasne, a ljudi kojima su dijagnosticirani poremećaji metabolizma aminokiselina mogu živjeti normalan život s tim da se svakodnevno pridržavaju preporuka za prehranu te svakodnevno uzimaju određene terapije.

## 7. POPIS KRATICA

NAD<sup>+</sup> - nikotinamid adenin dinukleotid

NADP<sup>+</sup> - nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

ATP – adenzin trifosfat

AMP – adenzin monofosfat

PKU – fenilketonurija

PAH - fenilalanin-hidroksilaza

BH<sub>4</sub> – tetrahidrobiopterin

HPA – hiperfenilalaninemija

MSUD- bolest urina mirisa javorovog sirupa

CBS - cistationin-β-sintaza

NBS - pregled krvnih mrlja novorođenčadi (eng. newborn bloodspot screening)

FAH - fumarilacetoacetat-hidrolaza

HT1 – nasljedna tirozinemija tipa 1

AFP - α-fetoprotein

NTBC - 2-(2 nitro-4-3 trifluorometilbenzoil)-1,3-cikloheksandion

HPPD - 4-hidroksifenilpiruvat-dioksidgenaza

NKH - neketotička hiperglicinemija

GCS – sustav cijepanja glicina

NMDA - *N*-metil-D-aspartatni receptori

NAGS - *N*-acetilglutamat sintaza

CPS - karbamoil-fosfat-sintetaza

OTC - ornitin-transkarbamoilaza

ASS - argininosukcinat-sintetaza

ASL - argininosukcinat-liaza

## 8. LITERATURA

- [1] K. Marshall, *User's Guide to Protein and Amino Acids*, Basic Health Publications, SAD, 2006.
- [2] J.M. Berg, J.L. Tymoczko, L. Stryer, *Biokemija*, Školska knjiga, Zagreb, 2013.
- [3] G. Wu, *Functional amino acids in nutrition and health*, CRC Press, SAD, 2013.
- [4] J. Postgate, *Nitrogen fixation*, Cambridge University Press, Ujedinjeno Kraljevstvo, 1998.
- [5] E. Aliu, S. Kanungo, G.L. Arnold, Amino acid disorders, *Annals of Translational Medicine*, **6** (2018), 1-10
- [6] U. Garg, L.D. Smith, *Biomarkers in Inborn Errors of Metabolism: Clinical Aspects and Laboratory Determination*, Elsevier, Amsterdam, 2017.
- [7] L.E. Bernstein, F. Rohr, J.R. Helm, *Nutrition Management of Inherited Metabolic Diseases*, Springer International Publishing, SAD, 2015.
- [8] J.W. Pelley, Synthesis of catecholamines, 3,4- dihydroxyphenylalanine (DOPA), and melanin from phenylalanine and tyrosine, *Elsevier's Integrated Review Biochemistry*, Elsevir Books, 2012., str. 105
- [9] W.L. Nyhan, G.F. Hoffmann, *Atlas of inherited metabolic diseases*, CRC Press, SAD, 2020.
- [10] M. Yudkoff, "Disorders of amino acid metabolism" (737-754), *Basic neurochemistry*, Academic Press, SAD, 2012.
- [11] S. Hannigan, *Inherited metabolic diseases: a guide to 100 conditions*, Radcliffe Publishing, London, 2007.
- [12] J.N. Parker, P.M. Parker, *Homocystinuria - A Bibliography and Dictionary for Physicians, Patients, and Genome Researchers*, ICON Group International, Inc, SAD, 2007.
- [13] D.M. Isherwood, Homocystinuria, *British medical journal*, **313**(1996), 1025-1026.
- [14] R.M. Tanguay, *Hereditary tyrosinemia: Pathogenesis, screening and management*, Springer, SAD, 2017.
- [15] L.S. King, C. Trahms, C.R. Scott, Tyrosinemia type I. *GeneReviews*, 2017.
- [16] F.J. van Spronsen, M. van Rijn, U. Meyer, A.M. Das, Dietary considerations in tyrosinemia type I. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **959** (2017), 197–204
- [17] S. Kure, K. Tada, K. Narisawa, Nonketotic hyperglycinemia: biochemical, molecular, and neurological aspects, *Japanese Journal of Human Genetics*, **42** (1997), 13-22
- [18] R. Cusmai, D. Martinelli, R. Moavero, C.D. Vici, F. Vigevano, C. Castana, M. Elia, S.

Bernabei, E. Bevivino, Ketogenic diet in early myoclonic encephalopathy due to non ketotic hyperglycinemia, *European Journal of Paediatric Neurology*, **16** (2012), 509-513.

[19] M.C. Nassogne, B. Heron, G. Touati, D. Rabier, J.M. Saudubray, Urea cycle defects: management and outcome, *Journal of inherited metabolic disease*, **28** (2005), 407-414

[20] J.N. Parker, P.M. Parker, *Ornithine Transcarbamylase Deficiency - A Bibliography and Dictionary for Physicians, Patients, and Genome Researchers*, CON Group International, SAD, 2007.

[21] K. Kobayashi, M.J. Jackson, D.B. Tick, W.E. O'Brien, A.L. Beaudet, Heterogeneity of mutations in argininosuccinate synthetase causing human citrullinemia, *Journal of Biological Chemistry*, **265** (1990), 11361-11367.