

Dědičné poruchy metabolismu aminokyselin

Autoři

Doc. PharmDr. Iva Boušová, Ph.D., prof. MUDr. Jaroslav Dršata, CSc.

(bousova@faf.cuni.cz)

Katedra biochemických věd

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Aminokyseliny jsou základními stavebními prvky proteinů a zároveň produkty jejich degradace, výchozími látkami pro syntézu celé řady biologicky aktivních sloučenin (např. hormonů, neurotransmiterů, purinů, hemu, kreatinu, polyaminů) a zdrojem energie. Amoniak, který vzniká při jejich odbourávání, je toxický a musí být vyloučen v nějaké netoxické formě. Takovou formou je močovina syntetizovaná v močovinovém cyklu, kterou tělo snadno vyloučí močí. Enzymový defekt, defekt přenašeče, nebo poruchy syntézy močoviny jsou příčinou vzniku závažných onemocnění. Cílem této lekce je popsat nejvýznamnější poruchy metabolismu aminokyselin, které jsou součástí novorozeneckého screeningu.

Přehled metabolismu aminokyselin

Aminokyseliny jsou v organismu převážně vázány v proteinech. Volné aminokyseliny vytvářejí **aminokyselinovou hotovost** („pool“), která je využívána k syntéze proteinů a dalších biologicky aktivních molekul (např. hormonů, neurotransmiterů, hemu, kreatinu, purinů; viz. Kapitola 11). Pokud příjem aminokyselin do poolu převáží potřeby organismu, jsou nadbytečné aminokyseliny zpracovány v intermediárním metabolismu až na vodu, oxid uhličitý a močovinu.

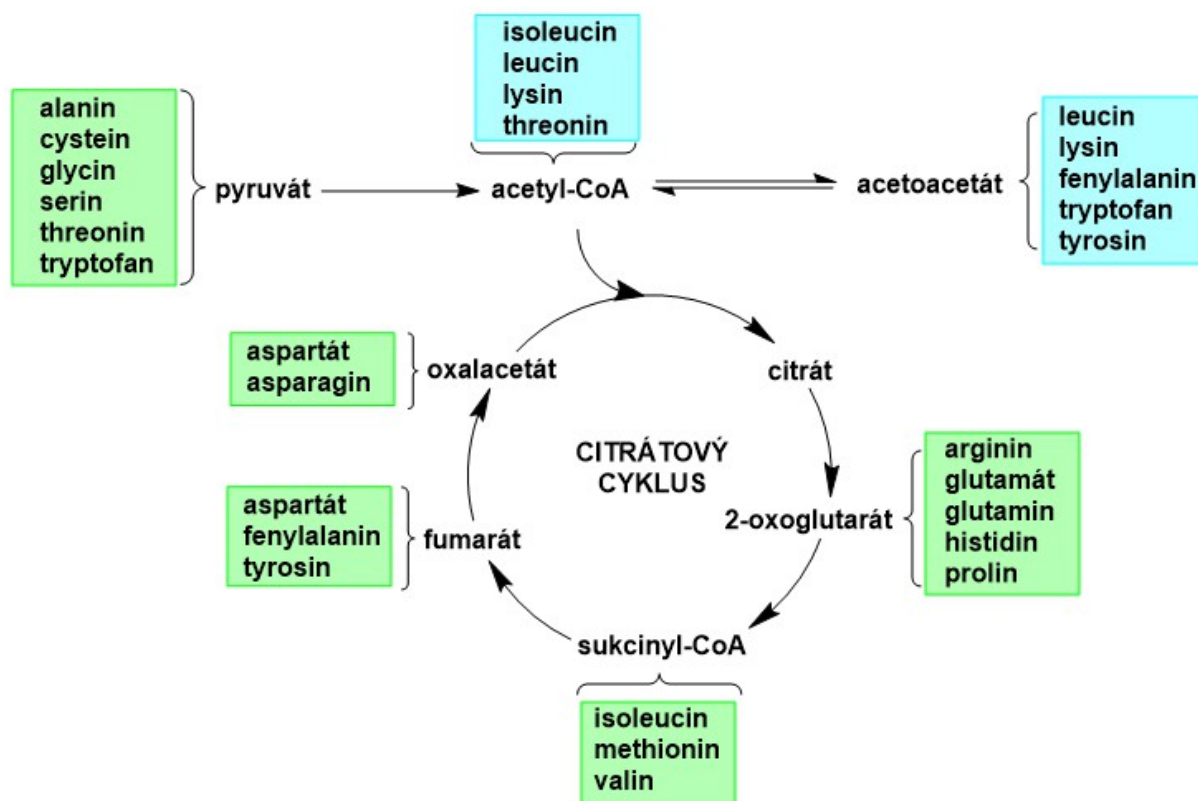
Katabolismus aminokyselin téměř vždy začíná **odstraněním aminoskupiny**. Ta se buď uvolní ve formě amoniaku, nebo se přenesou na vhodný akceptor, kterým je 2-oxokyselina (např. pyruvát, oxalacetát, oxoglutarát). Druhá reakce (transaminace) se týká většího počtu aminokyselin. **Transaminace** je katalyzována aminotransferasami, které využívají jako koenzym pyridoxal-5'-fosfát, derivát vitamínu B₆ pyridoxinu. Reakce probíhá ping-pongovým mechanismem, kdy je nejprve z transaminované aminokyseliny přenesena aminoskupina na koenzym a vzniká oxokyselina. Ve druhé fázi reakce je aminoskupina z koenzymu přenesena na akceptor (2-oxokyselinu) a vzniká nová aminokyselina. Příkladem může být transaminace aminokyseliny aspartátu, při které vzniká oxalacetát a aminoskupina je připojena na akceptor 2-oxoglutarát, z něhož vzniká glutamát. Díky tomu, že rovnovážná konstanta transaminační reakce je blízká jedné, je reakce vratná a může sloužit i k syntéze aminokyselin.

V organismu je transaminace často spojena s **oxidační deaminací**, a pak se tento proces označuje jako transdeaminace. Při oxidační deaminaci je aminoskupina aminokyseliny uvolněna ve formě amoniaku. Reakci katalyzuje mitochondriální glutamátdehydrogenasa

s koenzymem NAD^+ . Tento enzym deaminuje glutamát na 2-oxoglutarát a amoniak, glutamátdehydrogenasa však může katalyzovat i syntézu glutamátu, ale v tomto případě použije jako koenzym NADPH . Deaminační reakce se výrazně urychlují při dlouhodobém hladovění a mohou vznikat až toxické koncentrace amoniaku. Dalším enzymem schopným katalyzovat oxidační deaminaci je oxidasa L-aminokyselin, která je přítomná jen v peroxisomech buněk jater a ledvin.

Amoniak je pro buňky toxický a musí být proto **detoxikován**. Nejcitlivější k jeho působení jsou buňky mozku. Lidský organismus přeměňuje toxický amoniak převážně v **močovinovém cyklu** (pouze játra) na netoxickou **močovinu**, která je dobře rozpustná ve vodě a snadno difunduje (viz. dále). Některé buňky, zejména mozkové, detoxikují amoniak okamžitě. **Glutaminsyntetasa** v těchto buňkách připojuje vznikající amoniak k molekule glutamátu za vzniku **glutaminu** a spotřeby ATP. Glutamin je netoxickým nosičem amoniaku a v játrech a ledvinách je z něj amoniak **glutaminasou** odštěpen. V ledvinách je amoniak vyloučen ve formě NH_4^+ močí, zatímco v játrech je detoxikován v močovinovém cyklu.

Uhlíková kostra aminokyselin se zapojuje do **intermediárního metabolismu** prostřednictvím společných intermediátů, které jsou součástí citrátového cyklu (Obr. 1). Tyto intermediáty se mohou napojovat na metabolismus ostatních živin i na syntézu neesenciálních aminokyselin. Uhlíková kostra aminokyselin může sloužit k **syntéze glukosy** (glukogenní aminokyseliny), nebo **ketolátek a mastných kyselin** (ketogenní aminokyseliny – poskytují acetoacetát, nebo acetyl-CoA).



Obr. 1. Zapojení aminokyselin do intermediárního metabolismu

V dalším textu se zaměříme jen na vybrané poruchy močovinového cyklu, poruchy metabolismu či transportu aromatických, větvených a sírných aminokyselin a krátce se zmíníme o poruchách metabolismu lysinu a tryptofanu, které jsou sledovány v rámci novorozeneckého screeningu v ČR.

Močovinový cyklus a jeho poruchy

Amoniak a jeho detoxikace v močovinovém cyklu

Nejvýznamnějším zdrojem amoniaku jsou aminokyseliny (zejm. oxidační deaminace glutamátu a přeměna glutaminu glutamínem). Amoniak vzniká také při degradaci purinů a pyrimidinů, v průběhu syntézy hemu, degradaci monoaminů monoaminoxidasou a činností bakterií tlustého střeva, které metabolizují zbytky proteinů potravy. Uvolněný amoniak se z tlustého střeva vstřebává a významně přispívá k celkovému množství amoniaku v organismu. Bez ohledu na způsob vzniku je amoniak pro buňku/organismus toxický.

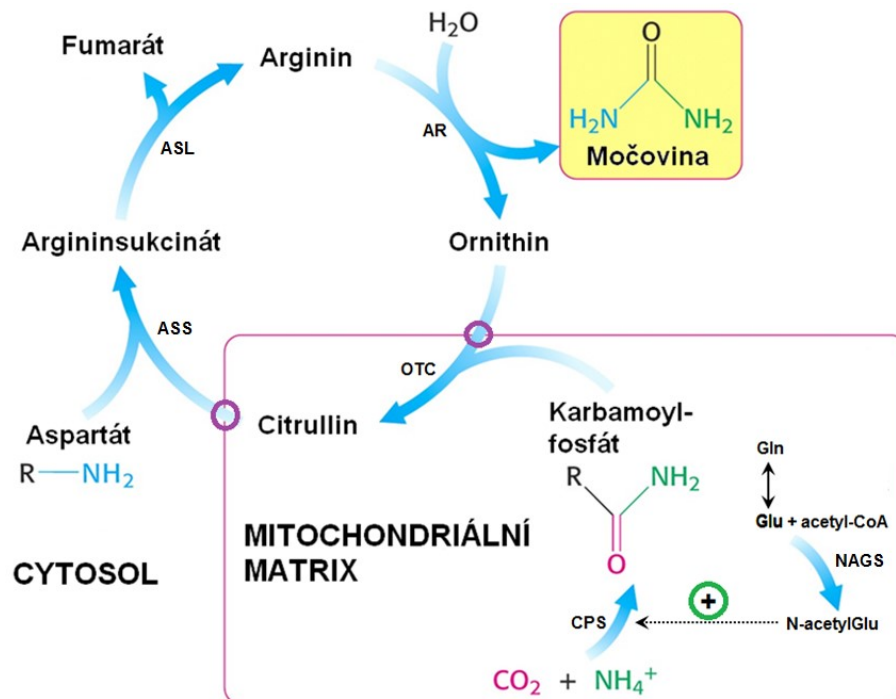
Amoniak se v tělních tekutinách vyskytuje jako NH_3 a jeho protonizovaná forma NH_4^+ . Poměr mezi oběma formami je závislý na pH. Při fyziologickém pH 7,40 je v těle 98-99 % amoniaku ve formě NH_4^+ , která není toxická. Při vzestupu pH (alkalosa) se zvyšuje množství NH_3 , který je toxický a rychle difunduje, zatímco při poklesu pH (acidosa) se urychluje tvorba netoxického NH_4^+ . Při vysokých koncentracích NH_3 v krvi dochází k intoxikaci organismu amoniakem, která se projevuje třesem, smazanou řečí a viděním (encefalopatie), a v těžkých případech končí bezvědomím a smrtí.

Hlavní cestou detoxikace amoniaku v lidském těle je močovinový cyklus. Tento cyklus je lokalizován pouze v játrech. Jedná se o energeticky náročný proces (3 moly ATP/1 mol močoviny), jehož produktem je nejedovatá, ve vodě výborně rozpustná a snadno difundující močovina. S energetickou náročností cyklu močoviny souvisí zvýšení koncentrace amoniaku v krvi jako projev jaterního selhávání. Dieta s nízkým obsahem proteinů je za tohoto stavu proto jedním z terapeutických opatření.

Močovina je hlavní organickou složkou moči a denně se jí vyloučí 20-40 g. Organismus také využívá reakce močovinového cyklu k syntéze semiesenciální aminokyseliny argininu (i v jiných tkáních).

Močovinový cyklus tvoří pět reakcí, které jsou katalyzovány pěti různými enzymy, které se nacházejí částečně v matrix mitochondrií a částečně v cytosolu (Obr. 2). V prvním kroku je z amoniaku a bikarbonátu vytvořen za spotřeby 2 molů ATP karbamoylfosfát. Tato reakce probíhající v mitochondrii je nevratná a je katalyzována **karbamoylfosfátsynthetasou 1** (CPS), která je alostericky aktivována *N*-acetylglutamátem (syntéza z glutamátu a acetyl-CoA je katalyzována *N*-acetylglutamátsynthetasou; NAGS). Tento enzym je v dostatečném množství exprimován pouze v játrech, zatímco ostatní enzymy cyklu jsou přítomny i v jiných tkáních a mohou tedy sloužit k syntéze argininu, polyaminů, NO, pyrimidinů a kreatinu. Ve druhém kroku se karbamoylfosfát sloučí s aminokyselinou ornithinem za vzniku citrulinu a

uvolnění jedné fosfátové skupiny. Tuto reakci katalyzuje **ornithintranskarbamoylasy** (OTC). Citrulin je transportován z mitochondrie do cytosolu, kde se váže na aspartát (zdroj druhého dusíku) za vzniku argininosukcinátu. Reakci katalyzuje **argininosukcinátsynthetasy** (ASS). **Argininosukcinátlyasy** (ASL) následně rozštěpí argininosukcinát na arginin a fumarát, který představuje spojení mezi močovinovým a citrátovým cyklem. Arginin je v posledním kroku reakce rozštěpen **arginasou** (AR) na močovinu a ornithin, který se vrací do mitochondrie. Močovina difunduje do krve a z ní glomerulární filtrací do moči. Detoxikace amoniaku má pro organismus klíčový význam, proto je močovinový cyklus pouze pozitivně regulován hned v prvním kroku a nedochází v něm k negativní zpětné vazbě (např. k inhibici některého enzymu močovinou) jako u většiny ostatních metabolických drah.



Obr. 2. Močovinový cyklus (upraveno z Berg et al. 2006).

Poruchy močovinového cyklu

Nejčastější příčinou poruchy močovinového cyklu a tím zvýšené koncentrace amoniaku v tělních tekutinách je výše zmíněné jaterní selhávání. Tato porucha ovšem nepatří mezi dědičné poruchy, proto se jí v této kapitole nezabýváme.

U každého enzymu močovinového cyklu byla prokázána **genetická porucha**. Pokud je defekt některého enzymu z cyklu kompletní (např. karbamoyl-fosfátsynthetasy), je tento stav neslučitelný se životem a postižení novorozenci brzy umírají. V případě částečného deficitu jsou příznaky onemocnění závislé na tom, který enzym je postižen. Bylo popsáno šest dědičných poruch močovinového cyklu: **deficit karbamoyl-fosfátsynthetasy**, **deficit ornithintranskarbamoylasy**, **citrulinemie** (deficit argininosukcinátsynthetasy), **argininsukcináturie** (deficit argininosukcinátlyasy), **argininemie** (deficit arginasy) a **deficit N-acetylglutamátsynthetasy**. Kromě deficitu ornithintranskarbamoylasy, jehož dědičnost je

vázána na X-chromosom, jsou ostatní defekty děděny autosomálně recesivně. V rámci novorozeneckého screeningu se v ČR od roku 2016 sledují deficiency argininosukcinátsynthetasy a arginasy. Všechny tyto poruchy jsou charakterizovány **hyperamonemií** a poruchami metabolismu aminokyselin.

Klinické projevy se mohou objevit prakticky kdykoliv během života, ale v některých obdobích (novorozenecké období, pozdní kojenecký věk, puberta) je rozvoj symptomů pravděpodobnější – stres (např. infekce) vyvolá katabolismus proteinů. U pacientů s projevy v **novorozeneckém období** se nejčastěji po prvním bezpříznakovém období (může být kratší než 24 hodin) objeví problémy s krmením, **zvracení**, letargie a/nebo dráždivost a **tachypnoe** (záměna se sepsí). V tomto stadiu se typicky objevuje přechodná mírná respirační alkalosa, která může sloužit jako diagnostické vodítko. Neléčení pacienti se rychle zhoršují, objevují se nápadné **neurologické a autonomní vegetativní potíže** (poruchy svalového tonu, apnoe, vasomotorická nestabilita a hypotermie, ztráta normálních reflexů). Většina neléčených umírá, často se objevují komplikace jako krvácení do mozku, pokud děti novorozeneckou hyperamonemii přežijí, bývají významně handicapované. V **kojeneckém věku** jsou klinické projevy méně akutní a variabilnější. Obvykle zahrnují anorexii, letargii, **zvracení**, **neprospívání** a **opoždění psychomotorického vývoje**, často též poruchy chování. Játra jsou zvětšená, správná diagnosa je obvykle stanovena až po rozvoji **encefalopatie** s poruchou vědomí a s neurologickými symptomy. V **pubertě a dospělém věku** se pacienti projevují nápadnějším neurologickým poškozením. Po metabolickém stresu (infekce, anestezie, katabolismus proteinů) se objevují ataky **akutní metabolické encefalopatie**. Pacienti rovněž trpí **chronickým neurologickým postižením** s poruchami učení či mentální retardací. **Deficit arginasy** se běžně projevuje **spastickou diplegií**.

Hyperamonemie může být způsobena rovněž **poruchou transportu ornithinu z cytosolu do mitochondrie**. Transportér ORNT1 (SLC25A15) zprostředkovává výměnu ornithinu z cytosolu za citrulin z matrix mitochondrie. Tato transportní porucha je provázena **hyperamonemií, hyperornithinemii a homocitrulinurií** (odtud název **HHH syndrom**). V důsledku poruchy vstupu ornithinu do mitochondrie dochází k deficitu aktivit ornithintranskarnbamoylasy a ornithinaminotransferasy. Mitochondriální karbamoylfosfát je metabolizován v alternativních drahách na homocitrulin (z lysinu) a kyselinu orotovou. Klinické projevy souvisí s toxicitou amoniaku, častou pozdní komplikací je progresivní spastická paréza.

Další transportní poruchou, která se projevuje hyperamonemií, je **deficit citrinu** (SLC25A12), což je **mitochondriální antiportér aspartátu/glutamátu**. V důsledku deficitu citrinu je nedostatek aspartátu pro syntézu argininosukcinátu, hromadí se citrulin a amoniak. Rovněž je narušené fungování malát-aspartátového kyvadla.

Patobiochemické změny vyvolané deficitem některého z enzymů močovinového cyklu zahrnují zvýšení koncentrace amoniaku v plasmě a s ním související poruchy, změny v koncentracích aminokyselin a vylučování orotátu a orotidinu močí. Deficit enzymů

močovinového cyklu je provázen **hromaděním amoniaku**. Výsledná koncentrace amoniaku v plasmě závisí na postiženém enzymu a jeho zbytkové aktivitě, příjmu proteinů potravou a na endogenním katabolismu proteinů, který může být zvýšen v důsledku metabolického stresu (např. horečka, infekce). Amoniak snadno přestupuje hematoencefalickou bariéru a způsobuje **poškození mozku** vyčerpáním 2-oxoglutarátu (meziprodukt citrátového cyklu) a **narušením přenosu nervového vzruchu**. Amoniak totiž zvyšuje transport tryptofanu přes hematoencefalickou bariéru, což způsobuje zvýšenou tvorbu a uvolnění serotoninu. V mozku je amoniak detoxikován na glutamin, který se bude v buňkách hromadit ve velkém množství, což způsobí vzestup osmolarity s následným vznikem edému buněk a mozkového edému. Koncentrace amoniaku vyšší než 150 μM způsobují ztrátu vědomí a při koncentracích překračujících 300-400 μM upadá pacient do kómatu. Kromě deficitu karbamoylfosfátsynthetasy jsou ostatní poruchy enzymů močovinového cyklu provázeny **zvýšeným vylučováním orotátu a orotidinu** močí, protože u těchto poruch se v mitochondriích hromadí nezpracovaný karbamoylfosfát. Ten následně přestupuje do cytosolu, kde se zapojuje do *de novo* syntézy pyrimidinových nukleotidů. V důsledku enzymového defektu se **koncentrace aminokyselin** nad enzymovým defektem zvýší, zatímco pod enzymovým defektem se sníží. Kromě toho u všech poruch stoupají plasmatické koncentrace alaninu a glutaminu (Tab. 1).

Tab. 1: Diagnostické testy u poruch močovinového cyklu

Porucha	Koncentrace aminokyselin v plasmě	Orotát	Tkáň pro enzymatickou diagnostiku	Dědičnost
Deficit NAGS	↑ Ala, Gln	N	Játra	AR
Deficit CPS	↑ Ala, Gln ↓ citrulin, Arg	N	Játra	AR
Deficit OTC	↑ Ala, Gln ↓ citrulin, Arg	↑↑	Játra	X-vázaný
Citrulinemie	↑↑ citrulin ↓ Arg	↑	Játra, fibroblasty	AR
Argininsukcináurie	↑ citrulin, argininosukcinát ↓ Arg	↑	Erytrocyty/játra/ fibroblasty	AR
Argininemie	↑ Arg	↑	Erytrocyty/játra	AR

N, normální; AR, autosomálně recesivní

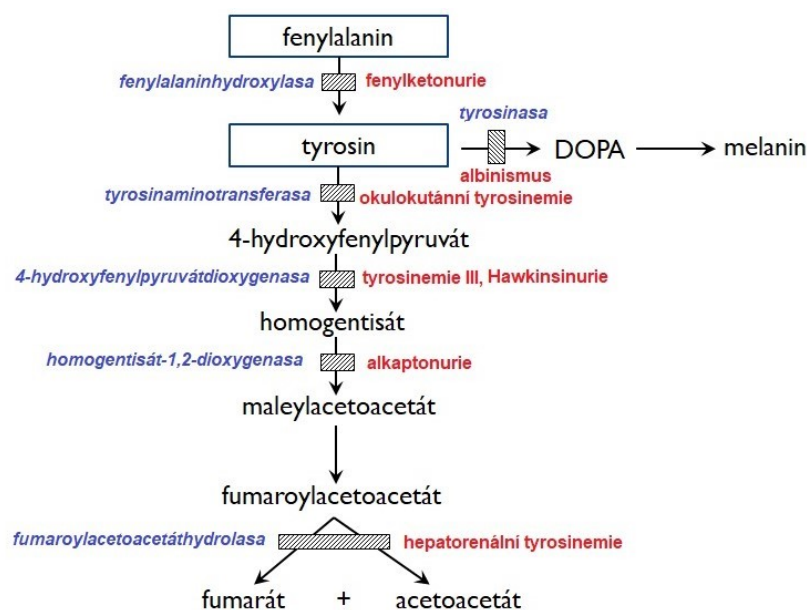
Nejdůležitějším **diagnostickým vyšetřením** u poruch močovinového cyklu je stanovení koncentrace amoniaku v plasmě. Z dalších laboratorních vyšetření by mělo být provedeno stanovení pH krve a krevních plynů, biochemie v plasmě (močovina, elektrolyty, glukosa,

kreatinin), vyšetření jaterních funkcí a srážení krve, hladiny organických kyselin, orotátu a aminokyselin v moči, volný a acylovaný karnitin v plasmě. K potvrzení diagnózy může být provedeno stanovení enzymové aktivity příslušného enzymu v tkáni (játra, erytrocyty, fibroblasty; není možné u deficitu NAGS) nebo molekulárně genetickými metodami. Prenatální diagnostika je možná u všech poruch močovinného cyklu.

Hlavní **léčebné strategie** zahrnují snížení příjmu proteinů (**nízkoproteinová dieta**), využití alternativních metabolických cest pro vyloučení dusíku a doplnění chybějících živin. K **odstranění amoniaku** se podávají metabolity (např. benzoát sodný, fenylbutyrát), které se konjugují s aminokyselinami a rychle se vylučují. Tak dochází k vylučování dusíku v podobě jiných sloučenin, než je močovina. Akutní léčba v nemocnici v případě nezvládnuté hyperamonemie zahrnuje okamžité zahájení hemofiltrace. V rámci **doplnění chybějících živin** je pacientům podáván arginin (u těžkých poruch OTC a CPS by měl být nahrazen citrulinem), u některých pacientů jsou podávány též esenciální aminokyseliny. Ke snížení vzniku a přestupu amoniaku ze střeva mohou být nemocným podávána **antibiotika** a **laktulosa**. Z dalších užívaných léčiv můžeme jmenovat **citrát** u argininsukcináurie, **N-karbamoylglutamát** u deficitu NAGS a **antikonvulziva**.

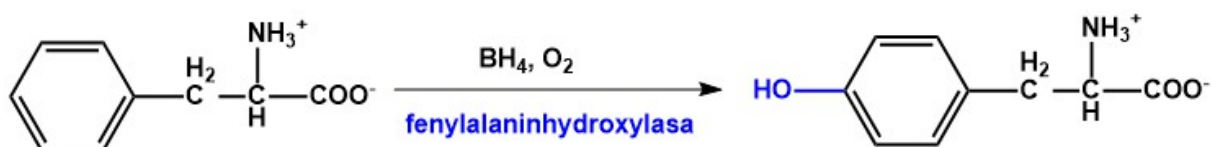
Metabolismus aromatických aminokyselin a jeho poruchy

Katabolismus fenylalaninu a tyrosinu je dobře znát, protože poruchy degradace těchto aminokyselin jsou v této oblasti světa poměrně časté a klinicky závažné (Obr. 3). Katabolismus těchto aminokyselin nelze od sebe oddělovat. Kromě zmíněné degradační dráhy je menší množství fenylalaninu a tyrosinu metabolizováno dalšími drahami na biologicky významné produkty (např. pigment melanin, neurotransmitery dopamin a noradrenalin, hormony adrenalin, thyroxin a trijodtyronin).



Obr. 3. Katabolismus fenylalaninu a tyrosinu a jeho poruchy

Fenylalanin je esenciální aromatická aminokyselina, jejíž metabolismus je v organismu zahájen ireversibilní hydroxylací na tyrosin, která je katalyzována **fenylalaninhydroxylasou** (PAH) (Obr. 4). Tento enzym využívá koenzym **tetrahydrobiopterin** (BH₄), který je v organismu syntetizován třemi kroky z GTP. Během hydroxylace fenylalaninu je přeměněn na pterin-4a-karbinolamin, který je následně regenerován. Deficit PAH nebo poruchy v tvorbě či regeneraci BH₄ způsobují **hyperfenylalaninemii** a deficit tyrosinu. Těžký deficit PAH je příčinou vzniku závažného onemocnění **fenylketonurie** (PKU), která neléčená způsobuje trvalé postižení CNS.



Obr. 4. Hydroxylace fenylalaninu na tyrosin katalyzovaná fenylalaninhydroxylasou

Tyrosin patří mezi nejméně rozpustné aminokyseliny. Zdrojem tyrosinu je jednak potrava, jednak hydroxylace fenylalaninu. Tyrosin je metabolizován na fumarát a acetoacetát. Vzdálené metabolity katabolismu tyrosinu, maleylacetoacetát a fumaroylacetoacetát, mohou být redukovány na sukcinylacetoacetát a následně dekarboxylovány za vzniku sukcinylacetonu, který je nejsilnějším inhibítorem ALA-dehydratasy, enzymu syntézy hemu. Je známo pět dědičných poruch katabolismu tyrosinu a albinismus.

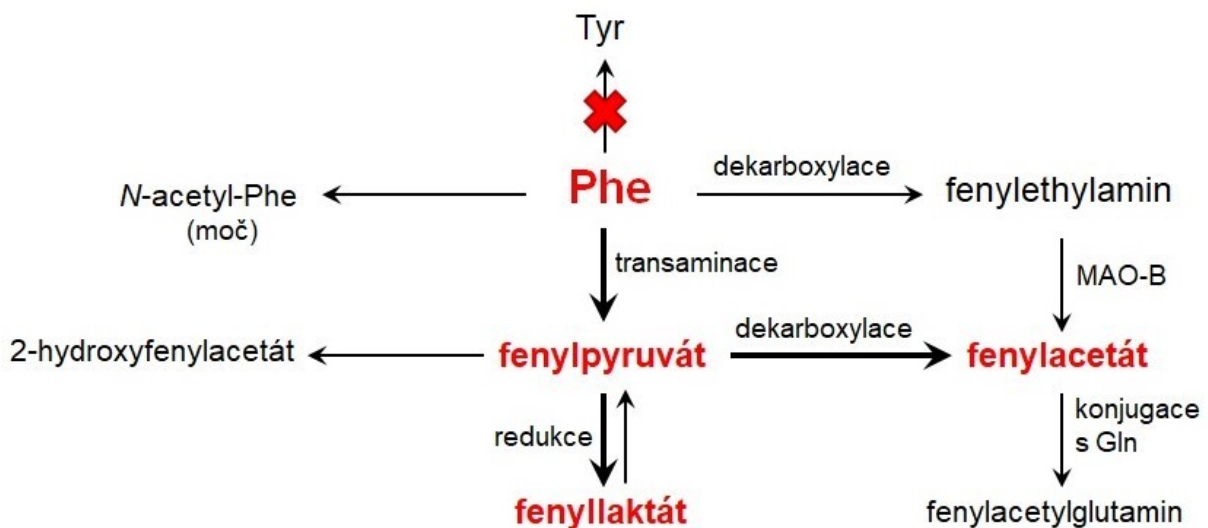
Fenylketonurie

Fenylketonurie je dědičné metabolické onemocnění způsobené **deficitem fenylalaninhydroxylasy**. Jedná se o klinicky nejzávažnější poruchu metabolismu aromatických aminokyselin, která má v naší populaci poměrně vysokou frekvenci výskytu (1 : 6500). Dědičnost je autosomálně recesivní a onemocnění je provázeno hromaděním fenylalaninu a alternativních produktů jeho degradace. **Fenylketonurie** je klasifikována podle hladin fenylalaninu a zbytkové aktivity PAH na klasickou PKU, mírnou PKU a mírnou hyperfenylalaninemii (HPA). U **klasické PKU** jsou hladiny fenylalaninu v krvi při normální stravě vyšší než 1200 μM při normální stravě a zbytková aktivita PAH je menší než 1 %. U **mírné PKU** se hladiny fenylalaninu pohybují v rozmezí 600-1200 μM a zbytková aktivita PAH je 1-5 %. Koncentrace fenylalaninu v krvi u **mírné HPA** se pohybují v rozmezí 120-600 μM a zbytková aktivita PAH je vyšší než 5 %. Toto rozdělení je důležité kvůli indikaci dietní léčby. Kromě deficitu PAH se hyperfenylalaninemie objevuje u lidí s **deficitem některého enzymu syntézy nebo recyklace tetrahydrobiopterinu**, které byly dříve označovány jako **maligní PKU** nebo **maligní HPA**. Maligní PKU/HPA se léčí jiným způsobem než fenylketonurie.

PKU byla poprvé popsána v roce 1934 norským lékařem Ivarem Asbjørnem Føllingem jako „*Imbecillitas phenylpyruvica*“. PKU se projeví až po porodu, kdy začnou hladiny fenylalaninu postupně stoupat, protože již nejsou odstraňovány placentou. Během kojeneckého

a dětského věku dochází k progresivnímu ireverzibilnímu poškození mozku, u neléčených pacientů se rozvine mentální postižení, poruchy chování, neurologické a somatické poškození. Nejčastějšími projevy jsou těžká **mentální retardace** ($IQ \leq 50$), **zápach** připomínající myšinu (díky vylučování alternativních produktů), **hypopigmentace** vlasů, kůže a očí (nedostatek pigmentu melaninu), **křeče**, **kožní vyrážky** (raš, ekzémy) a **poruchy chování** (např. hyperaktivita, agresivita, stereotypie, anxieta, sociální izolace). Klinický fenotyp dobře koreluje s hladinami fenylalaninu v krvi, které odpovídají stupni deficitu PAH.

Deficit PAH způsobí, že je fenylalanin metabolizován **alternativní drahou**, která je za normálních okolností nevýznamná (Obr. 5). Dochází k transaminaci fenylalaninu na **fenylpyruvát**, který se pak vylučuje močí – odtud pochází název tohoto onemocnění. Kromě fenylpyruvátu vznikají touto cestou i další vedlejší produkty, které se vylučují močí (např. **fenylacetát**, **fenyllaktát**). Fenylalanin může podstupovat dekarboxylaci na fenylethylamin nebo acetylaci na *N*-acetylfenylalanin, které jsou rovněž přítomné ve vysoké koncentraci v moči pacientů s PKU. Vznikající fenylketony jsou příčinou zápachu po myšíně, který je pro PKU typický.



Obr. 5. Vznik alternativních produktů u fenylketonurie. Phe, fenylalanin; Tyr, tyrosin; Gln, glutamin; MAO-B, monoaminoxidasa-B

Patogeneze poškození mozku u PKU není ještě zcela objasněna, ale kauzálně souvisí se zvýšenými hladinami fenylalaninu v krvi. Vysoké hladiny Phe kompetitivně brání přenosu dalších dlouhých neutrálních aminokyselin (Trp, Tyr, Val, Leu, Ile, His, Met a Thr) do mozku díky saturaci transportéru LAT1 („*L-Type Amino Acid Transporter*“). V důsledku toho klesají v mozku hladiny těchto aminokyselin a bude tedy omezena syntéza neurotransmiterů dopaminu, noradrenalinu a serotoninu. Fenylalanin navíc působí jako inhibitor tyrosinhydroxylasy a tryptofanhydroxylasy, které se účastní syntézy těchto neurotransmiterů. Nedostatek esenciálních aminokyselin (např. Trp, u PKU i Tyr) způsobí omezení syntézy proteinů v mozku, která je nezbytná pro správný vývoj a fungování mozku. Nejznámějším

specifickým příkladem je myelin, jehož struktura je u pacientů s PKU abnormální. Jeho součástí je bazický protein myelinu, jehož syntéza je narušena, i pokud chybí jen jedna esenciální aminokyselina. Rovněž syntéza dalších proteinů včetně enzymů (např. pyruvátkinasa, HMG-CoA-reduktasa, tyrosin- a tryptofanhydroxylasa) a receptorů je narušena při nízkých koncentracích esenciálních aminokyselin, což může vést ke snížení synaptické plasticity a růstu axonů. Vysoké koncentrace fenylalaninu inhibují aktivitu HMG-CoA-reduktasy, což se projeví sníženou syntézou cholesterolu, který je důležitou součástí myelinu. Fenylalanin pravděpodobně intrferuje s glutamatergní transmisí, synaptogenezí a aktivitou pyruvátkinasy, což vede k útlumu energetického metabolismu, který byl pozorován u pacientů s PKU.

PKU je detekována **novorozeneckým screeningem**, který je prováděn v suché kapce krve pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie. U PKU jsou nalezeny vysoké hladiny fenylalaninu a abnormální poměr fenylalanin/tyrosin. Diagnosa je stanovena analýzou fenylalaninu a tyrosinu a vyloučením defektu pterinů /stanovení pterinů v moči a aktivity enzymu dihydropteridinreduktasy). Potvrzení diagnosy je provedeno DNA mutační analýzou. Je dostupná **prenatální diagnostika**, která se provádí DNA analýzou genu PAH v kultivovaných choriových klcích nebo amniocytech.

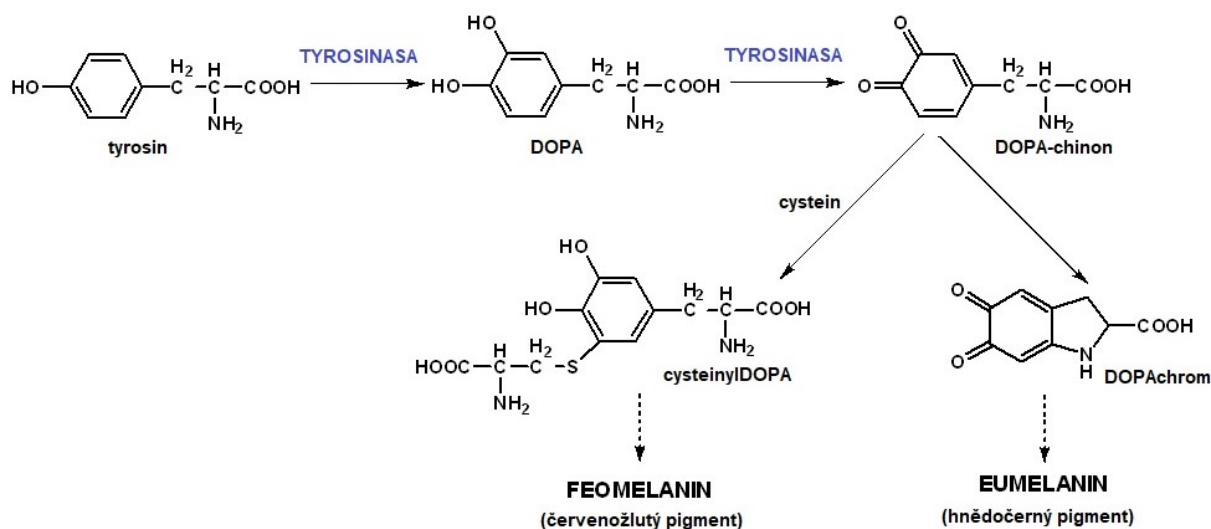
PKU je zatím nevyléčitelná, ale jejím následkům lze bránit **dietou s nízkým obsahem fenylalaninu a podáváním směsi aminokyselin bez fenylalaninu**. Dieta je doporučována po celý život a její dodržování je považováno za nejdůležitější faktor normálního vývoje mozku. Dostupné jsou kojenecké formule s aminokyselinami bez fenylalaninu. Sladidlo aspartam, které ve své molekule obsahuje fenylalanin, je pro dietu pacientů s PKU nevhodné. Mezi nové postupy patří podávání **syntetického derivátu BH₄** sapropterinu, **dlouhých neutrálních aminokyselin**, které kompetitivně blokují transport fenylalaninu do mozku, a **glykomakropeptidu**, což je jediný známý protein v potravě bez obsahu fenylalaninu. Ve fázi klinického zkoušení je ERT s **rekombinantní fenylalaninamoniaklyasou** modifikovanou polyethylenglykolem, která rozkládá fenylalanin na amoniak a kyselinu *trans*-skořicovou. Tento přípravek byl v roce 2018 v USA schválen FDA k užití u dospělých pacientů s PKU s hladinami fenylalaninu přesahujícími 600 μM. Genová terapie je ve stádiu výzkumu.

U matek s PKU musí být během těhotenství hladiny fenylalaninu důkladně monitorovány a udržovány v bezpečných mezích (120-240 μM). Vysoké koncentrace fenylalaninu během těhotenství jsou totiž spojeny s rozvojem specifického syndromu, tzv. **maternální PKU**, který se projevuje faciální dysmorfii, mikrocefalií, psychomotorickou retardací, poruchami učení a vrozenými srdečními vadami. Důvodem je, že koncentrace fenylalaninu jsou v plodu 1,5-2x vyšší než hladiny u matky kvůli aktivnímu transportu látek z matky do plodu. Fenylalanin kompetitivně ovlivňuje transport dalších dlouhých neutrálních aminokyselin a ovlivňuje tak vývoj plodu. Ženy s PKU by měly již 3-6 měsíců před otěhotněním dodržovat nízkobílkovinnou dietu a snažit se o početí až ve chvíli, kdy jsou hladiny fenylalaninu v krvi stabilní a nižší než 240 μM.

Albinismus

Melanin, tmavý pigment zodpovědný za zbarvení kůže, vlasů a očí, je syntetizován z tyrosinu v melanosomech melanocytů. Syntézu zahajuje enzym tyrosinasa (Obr. 6), která je specifická pro melanocyty. Pokud je **syntéza, transport či distribuce melaninu defektní**, vzniká albinismus. Postižení jedinci mají světlou pleť a vlasy a průsvitné modré oční duhovky, což způsobuje snížení zrakové ostroty, nystagmus, strabismus a fotofobii, případně až slepotu. Kůže albínů je citlivá ke slunečnímu záření a náchylná ke vzniku karcinomů kůže.

Onemocnění se vyskytuje v několika základních variantách: okulokutánní (generalizovaná forma postihující vlasy, kůži a oči), okulární (postihuje pouze oči) a parciální (lokální hypopigmentace kůže a vlasů, nepostihuje oči). U **okulokutánního albinismu** byly identifikovány čtyři autosomálně recesivně děděné geny, které jsou zodpovědné za vznik tohoto onemocnění. Jedná se o enzym tyrosinasu a tři proteiny zajišťující transport a distribuci melaninu. Okulokutánní albinismus se vyskytuje ve dvou formách – tyrosinasa-pozitivní a tyrosinasa-negativní. Nejčastější formou albinismu je **tyrosinasa-negativní typ**, který je způsoben **deficitem tyrosinasy v melanocytech**. Postižení jedinci nejsou schopni syntetizovat melanin a mají typické projevy na kůži, vlasech a očních duhovkách. **Tyrosinasa-pozitivní typ** je druhou nejčastější formou albinismu, onemocnění je způsobeno **defektem v distribuci melaninu**. U jedinců s **okulárním albinismem** je postižení omezeno na oční duhovky. Toto onemocnění má dědičnost vázanou na chromosom X a závažnější formy jsou často provázeny hluchotou.



Obr. 6. Syntéza melaninů

Alkaptonurie

Alkaptonurie je způsobena **deficitem homogentisát-1,2-dioxygenasy**, enzymu štěpícího homogentisát na maleylacetoacetát. Tento enzym je exprimován hlavně v játrech a ledvinách. Homogentisát se ve velkém množství vylučuje močí, která na vzduchu vlivem oxidace tmavne díky tvorbě tmavého pigmentu alkaptonu, který je podobný melaninu.

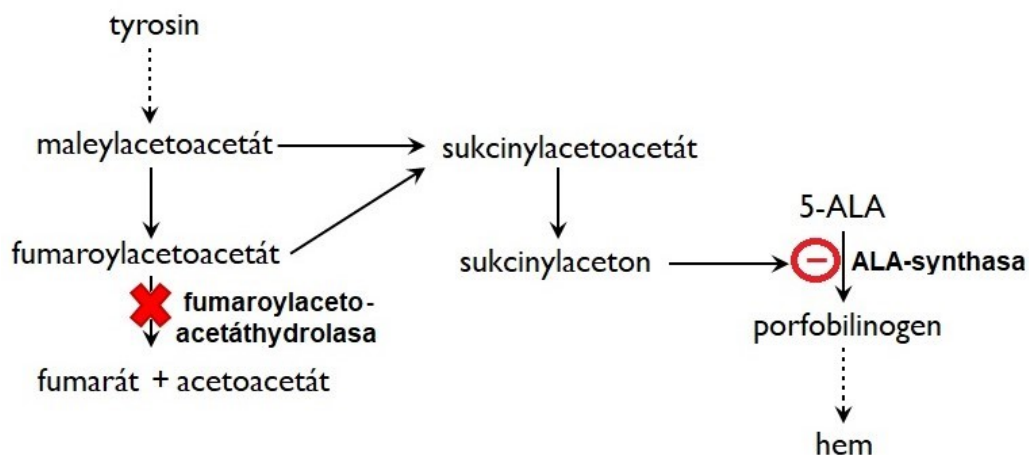
Alkapton a jeho prekurzor benzochinonacetát se ukládají v různých tkáních (zejm. chrupavky, skléry a kosti) a způsobují jejich tmavé zbarvení – **ochronosu** (řec. *ochros* - žlutohnědý, *nosos* – nemoc).

Onemocnění je autosomálně recesivní s frekvencí výskytu 1 : 100-250 000. Zajímavostí je, že nejvyšší prevalenci má alkaptonurie na Slovensku (1 : 19 000). Patří mezi méně závažná metabolická onemocnění, protože nepostihuje nervový systém. Klinické příznaky onemocnění se začínají objevovat až v dospělosti (3. – 4. dekáda) postižením kloubů podobné osteoartritidě, postižením srdce a urolithiasou. Ochronosa vede k **zánětlivým a degenerativním změnám kloubů** s omezením hybnosti a bolestí.

Tyrosinemie

Tyrosinemie je označení vrozených poruch katabolismu tyrosinu, v jejichž důsledku dochází ke zvýšení hladin tyrosinu v krvi nad 200 μM . Dosud byla popsána čtyři onemocnění: tyrosinemie typu I (hepatorenální), tyrosinemie typu II (okulokutánní), tyrosinemie typu III a Hawkinsurie. Kromě Hawkinsurie, která je děděna autosomálně dominantně, jsou ostatní tři onemocnění děděna autosomálně recesivně.

Tyrosinemie typu I je způsobena **deficitem fumaroylacetoacetáthydrolyasy**, která je exprimovaná zejména v játrech a ledvinách. V důsledku deficitu tohoto enzymu dochází k hromadění metabolitů předcházejících tento blok, maleylacetoacetátu a fumaroylacetoacetátu, a jejich derivátů sukcinylacetonu a sukcinylacetoacetátu (Obr. 7). Tyto látky mají významné patogenní účinky. **Sukcinylaceton** působí jako inhibitor 4-hydroxyfenylpyruvát-dioxygenasy, což vede k vzestupu plasmatických hladin tyrosinu. Rovněž inhibuje ALA-dehydratasy v játrech a erytrocytech, což způsobí útlum syntézy hemu, zvýšení hladin δ -aminolevulové kyseliny (ALA) a její zvýšenou exkreci močí. Zvýšené hladiny δ -ALA jsou příčinou akutních neurologických krizí („porfyrická krize“). Hromadění **fumaroylacetoacetátu** a **maleylacetoacetátu** v hepatocytech a buňkách renálních tubulů vyvolává jejich apoptosu nebo významnou alteraci genové exprese (působí jako alkylační činidla). Tyto metabolity narušují metabolismus thiolů (např. glutathionu) a tak činí buňky náchylnější k oxidačnímu stresu.



Obr. 7. Metabolické odchylky u hepatorenální tyrosinemie

Klinicky se tyrosinemie typu I klasifikuje na základě věku, kdy se objevují symptomy, na akutní, subakutní a chronickou formu. Akutní forma se manifestuje do 6 měsíců života dítěte opožděným psychomotorickým vývojem, zvracením, průjmami a následně příznaky akutního selhání jater. Děti umírají na jaterní selhání do 2 let života. Chronická forma se manifestuje po prvním roce života neprospíváním, progresivní cirhózou, Fanconiho syndromem s hypofosfatemickou křivicí a porfyrickými krizemi. Je zde vysoké riziko vzniku hepatocelulárního karcinomu. Děti umírají kolem desátého roku života.

V minulosti bylo toto onemocnění léčeno dietou s nízkým obsahem fenylalaninu a tyrosinu, s nebo bez transplantace jater. V současnosti je transplantace jater omezena na pacienty s akutním selháním jater, kteří nereagují na léčbu nitisinonem, a na pacienty s podezřením na hepatocelulární karcinom. V terapii se nyní používá zejména nitisinon, což je silný inhibitor 4-hydroxyfenylpyruvát-dioxygenasy. Dochází tedy k zastavení katabolismu tyrosinu v časném kroku, takže nevznikají toxické metabolity, současně však stoupají hladiny tyrosinu a 4-hydroxyfenylpyruvátu. Je tedy nutné omezit příjem tyrosinu a fenylalaninu dietou, aby se zabránilo nežádoucím účinkům hypertyrosinemie. Malá část pacientů s akutními projevy na léčbu nitisinonem nereaguje, u nich postižení jater dále progreduje a bez urgentní transplantace ledvin je mortalita velmi vysoká.

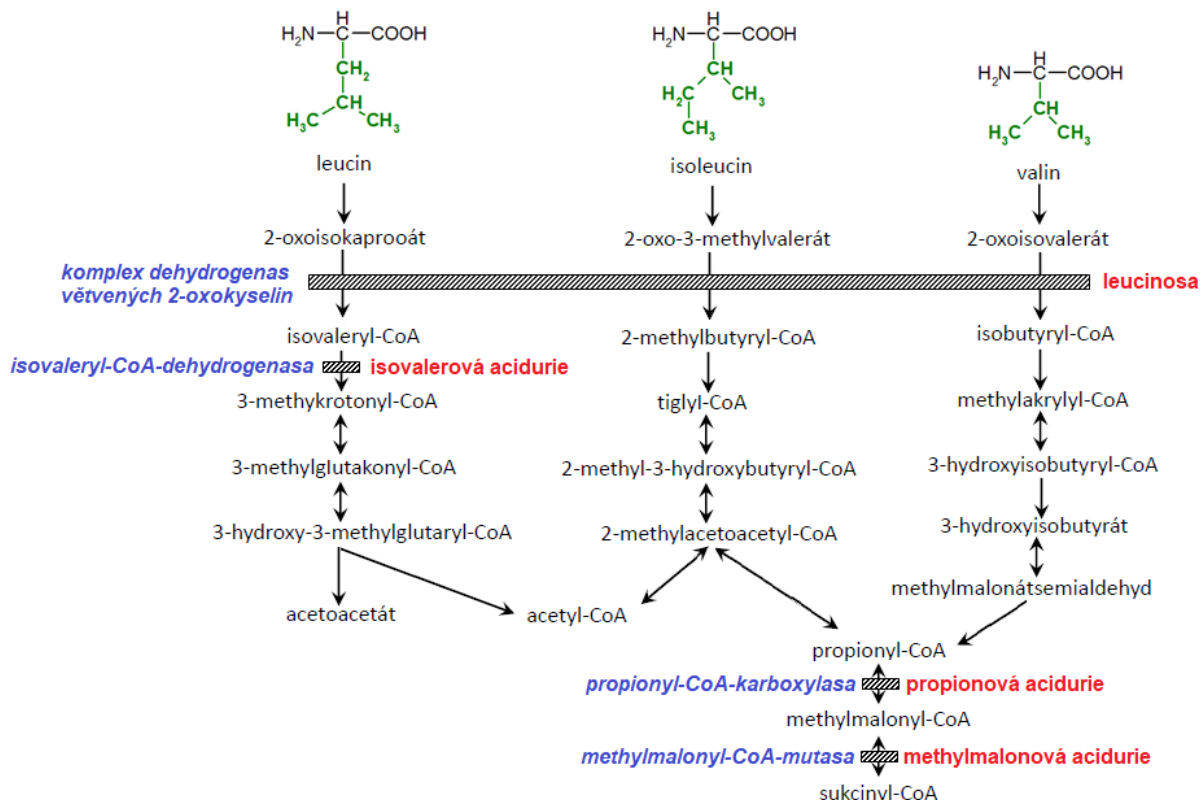
Tyrosinemie typu II je vyvolána **deficitem jaterní tyrosinaminotransferasy**, což vede k výraznému vzestupu koncentrace tyrosinu v krvi ($> 1200 \mu\text{M}$) a likvoru. Onemocnění se projevuje očními lézemi (fotofobie, slzení, bolestivé pálení očí, herpetiformní ulcerace), kožními lézemi (puchýře a bolestivé eroze s krustami na dlaních a ploskách) a neurologickými komplikacemi (variabilní, různý stupeň opoždění vývoje). Příčinou vzniku kožních lézí je pravděpodobně krystalizace tyrosinu v epitelálních buňkách rohovky, která vyvolává zánětlivou odpověď. Léčba sestává z diety s omezením fenylalaninu a tyrosinu.

Tyrosinemie typu III a **Hawkinsinurie** jsou velmi vzácná onemocnění s malým počtem klinicky popsaných případů a obě jsou vyvolána **deficitem 4-hydroxyfenylpyruvát-dioxygenasy**. Tyrosinemie typu III může probíhat asymptoticky nebo je spojená s mentální retardací a je provázena zvýšenými hladinami tyrosinu. Hawkinsinurie může být asymptotická nebo se projevuje v dětském věku neprospíváním a metabolickou acidózou. U této choroby byly popsány abnormální metabolity (např. hawkinsin), které vznikají při nekompletní přeměně 4-hydroxyfenylpyruvátu na homogentisát.

Metabolismus větvených aminokyselin a jeho poruchy

Katabolismus tří esenciálních větvených aminokyselin, leucinu, isoleucinu a valinu, probíhá zpočátku společnou metabolickou drahou (Obr. 8). Tyto aminokyseliny jsou nejprve transaminovány na odpovídající 2-oxokyseliny aminotransferasou větvených aminokyselin, která má vysokou aktivitu zejména ve svalech a myokardu a nízkou v játrech. Vznikající 2-oxokyseliny následně podstupují oxidační dekarboxylaci na acyl-CoA **dehydrogenasou**

větvených 2-oxokyselin (BCKD). Poté se degradační dráha rozděluje. Leucin je degradován na acetoacetát a acetyl-CoA, který vstupuje do citrátového cyklu. Isoleucin je štěpen na acetyl-CoA a propionyl-CoA, který vstupuje do citrátového cyklu po přeměně na sukcinyl-CoA. Valin je rovněž metabolizován na propionyl-CoA. V důsledku deficitu specifických enzymů katabolismu větvených aminokyselin vzniká skupina poruch označovaných jako **organické acidurie** (např. leucinososa, isovalerová acidurie, propionová acidurie, methylmalonová acidurie; tato čtyři onemocnění mají celou řadu společných klinických i biochemických symptomů).



Obr. 8. Katabolismus větvených aminokyselin a jeho poruchy.

Leucinososa

Leucinososa, též označovaná jako choroba javorového sirupu („*maple syrup urine disease*“, MSUD), je autosomálně recesivní onemocnění (incidence 1 : 185 000) způsobené **deficitem komplexu dehydrogenas větvených 2-oxokyselin** (BCKD). BCKD je multienzymový komplex (podobá se pyruvátdehydrogenasovému komplexu) volně asociovaný s vnitřní mitochondriální membránou a se skládá ze tří katalytických součástí (dekarboxylasa složená ze dvou podjednotek, dihydrolipoylacyltransferasa, dihydrolipoamiddehydrogenasa) a 2 regulačních enzymů. Leucinosu vyvolávají defekty v podjednotkách dekarboxylasy (využívá jako kofaktor thiamin) nebo v dihydrolipoylacyltransferase, defekt v posledním enzymu způsobuje specifický syndrom s laktátovou acidosou. Při leucinosě se v krvi, moči a likvoru výrazně zvyšuje koncentrace větvených 2-oxokyselin a také větvených aminokyselin, protože

úvodní transaminační reakce je vratná. V krvi pacientů s leucinosou se nachází také stereoisomer isoleucinu, **alloisoleucin**. Tato látka je nejspecifičtější a nejcitlivějším diagnostickým markerem všech forem leucinosy. Ačkoliv se postihuje defekt BCDK metabolismus všech větvených aminokyselin, **neurotoxickými formami** jsou **leucin** a jeho 2-oxokyselina, **kyselina 2-oxoisokaproová**, proto je onemocnění označované jako leucinosa. Tyto látky jsou v plasmě přítomné v ekvimolárním množství, a pokud jejich hladiny přesáhnou koncentraci 1 mM, mohou způsobit akutní mozkovou dysfunkci. MSUD je součástí novorozeneckého screeningového programu a včasné odhalení této choroby může zlepšit prognózu pacientů.

Leucinosa se projevuje již koncem prvního týdne života a **neléčená je smrtelná**. Vyskytuje se několik forem: klasická těžká MSUD, intermitentní MSUD, mírná MSUD a thiamin-responzivní MSUD. Typickým znakem všech forem je **nasládlý zápach moči** po javorovém sirupu. U klasické těžké MSUD dojde u donošených novorozenců (po normálním těhotenství i porodu) po bezpříznakovém období náhle ke zhoršení stavu (potíže s krmením, spavost, progresivní kóma), které neodpovídá na symptomatickou léčbu. V komatózním stavu se často objevují myoklonické záškuby. Pokud dítě přežije akutní fázi, je stále ohroženo ketoacidózou, akutním edémem mozku a exitem po zátěži (např. infekcí, operačním výkonem). Při špatné kompenzaci a trvalém zvýšení hladin větvených aminokyselin se rozvíjí **psychomotorická retardace** (dochází k demyelinizaci nervových vláken). Mírnější formy MSUD se objevují později v kojeneckém a batolecím věku a neléčené jsou provázeny psychomotorickou retardací.

Léčba je symptomatická a je založená na **omezení příjmu valinu, leucinu a isoleucinu**. V akutní fázi je u novorozenců s těžkou MSUD potřeba komplexní léčba spolu s **neprodleným odstraněním toxinů** (např. peritoneální dialýzou). Dieta však neovlivní již vzniklé neurologické a mentální postižení. Pacienti s těžkou MSUD mají obvykle výrazně nižší IQ než srovnatelná populace a dosažený intelekt je nepřímo úměrný době, kdy zůstávaly po narození hladiny leucinu v plasmě nad 1 mM. Některé intermitentní a mírné formy MSUD dobře reagují na podávání thiaminu.

Isovalerová acidurie

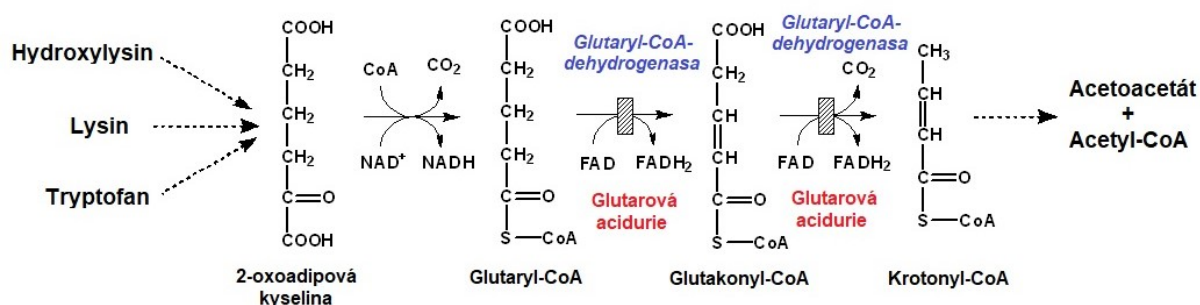
Jedná se o autosomálně recesivní onemocnění (incidence 1 : 230 000) vyvolané **deficitem isovaleryl-CoA-dehydrogenasy**. Tento defekt vede k hromadění isovaleryl-CoA a jeho metabolitů - volné kyseliny isovalerové, 3-hydroxyisovalerové kyseliny, *N*-isovalerylglycinu a isovalerylkarnitinu. Isovalerát způsobuje typický **zápach zpocených nohou**. Děti s akutní neonatální formou mají po několika dnech normálního vývoje problémy s krmením, zvracení, **těžkou metabolickou ketoacidózou** a bez léčby progredují ke kómatu a úmrtí. Často je přítomna dehydratace, hyperamonemie, trombocytopenie a neutropenie. Zhruba polovina pacientů s akutní formou choroby umírá při první atace. Ti, kteří přežijí, mají neurologické poškození, které se však může zcela upravit. Chronická intermitentní forma se

prezentuje v průběhu dětství epizodami metabolické acidózy obvykle při metabolickém stresu (např. infekce, zvýšený příjem proteinů). Pacienti s touto formou onemocnění mohou mít neurologické postižení, ale obvykle je růst a vývoj normální. K úmrtí při acidotické atace však může dojít v kterémkoliv věku.

Isovalerová acidurie je součástí **novorozeneckého screeningového programu**. Prenatální diagnostika se provádí analýzou isovalerylglycinu v amniové tekutině a/nebo enzymatickou nebo DNA analýzou v choriových klíčích/amniocytech. Léčba sestává z **nízkoproteinové diety s omezením leucinu** spolu se **suplementací glycinem a karnitinem**. Glycin a karnitin umožňují netoxické odbourání nadbytečného isovaleryl-CoA.

Metabolismus lysinu a tryptofanu a jeho poruchy

Degradace lysinu a tryptofanu probíhá v mitochondrii nejprve oddělenými metabolickými cestami, které se na úrovni kyseliny 2-oxoadipové spojí. Produkty této degradační dráhy jsou acetoacetát a acetyl-CoA (Obr. 9). V degradačních drahách lysinu a tryptofanu bylo identifikováno několik dědičných poruch, dále zmíníme pouze glutarovou acidurii, která se projevuje jako neurometabolické onemocnění a je zařazena do novorozeneckého screeningového programu.



Obr. 9. Katabolismus lysinu, hydroxylysinu a tryptofanu a jeho poruchy

Glutarová acidurie

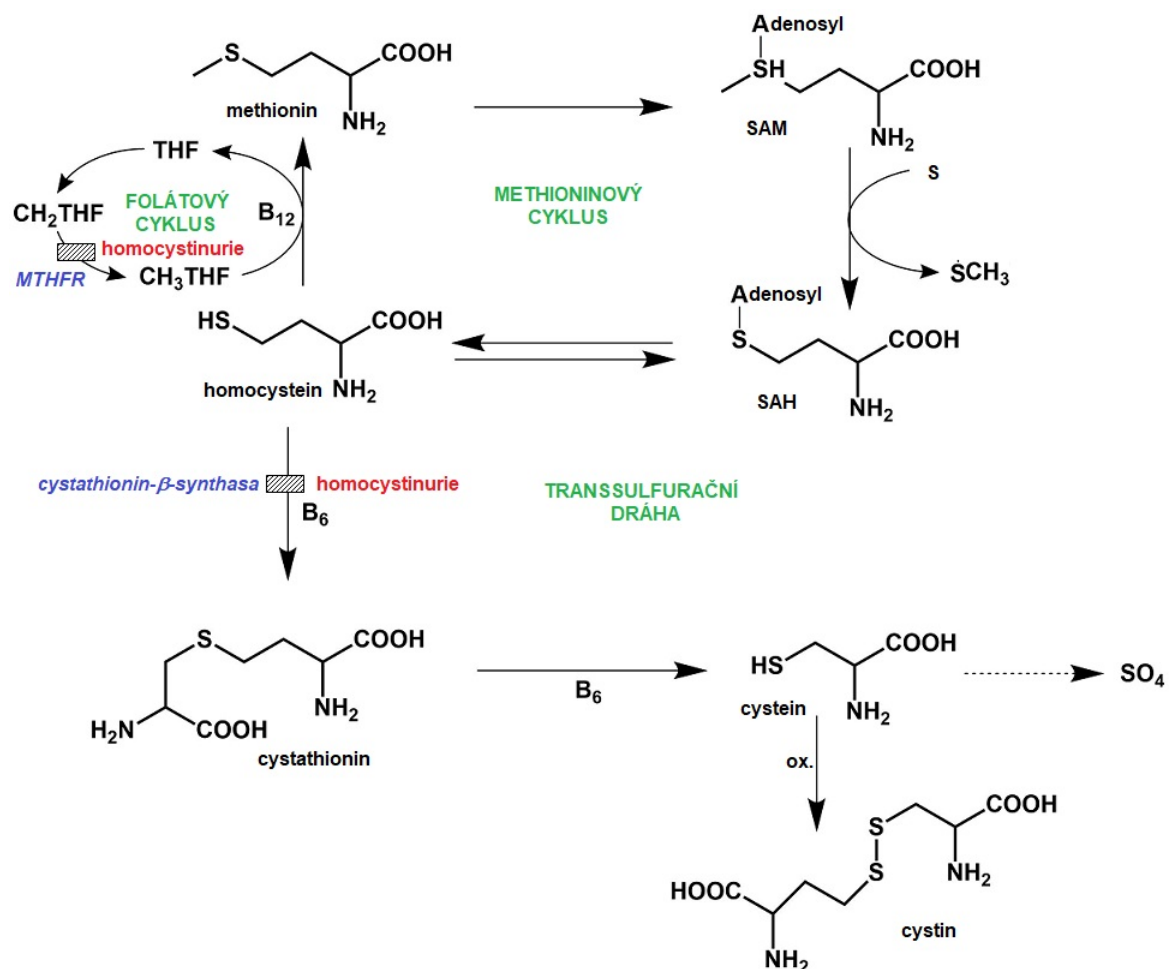
Glutarová acidurie je autosomálně recesivní onemocnění (incidence 1 : 30-40 000) způsobené **deficitem glutaryl-CoA-dehydrogenasy**, což je bifunkční mitochondriální enzym, který katalyzuje dehydrogenaci glutaryl-CoA a následnou dekarboxylaci glytakonyl-CoA na krotonyl-CoA. V krvi pacientů stoupají hladiny toxické kyseliny glutarové a jejích metabolitů (např. glutarylkarnitinu). U řady pacientů je při nebo po narození přítomná **makrocefalie**, která předchází **závažnému neurologickému postižení**. Onemocnění se projevuje u dosud zdravých dětí nejčastěji kolem 2. roku života akutní atakou poškození mozku (encefalopatická krize - dyskineze, progresivní dystonie, choreoathetosa) obvykle po infekci horních cest dýchacích nebo GIT, malém traumatu hlavy, hladovění před chirurgickým výkonem apod. Pokud není metabolická odchylka odhalena a léčena, způsobuje kyselina glutarová **progresivní degeneraci bazálních ganglií**, objevuje se generalizovaná atrofie mozku. Většina symptomatických

pacientů umírá bez léčby během první dekády života. Pacienti mohou mít horečky nejasné etiologie a již bylo popsáno několik úmrtí následkem hypertermie. Prognóza je vzhledem k recidivám akutních atak nepříznivá.

Prenatální diagnostika je možná enzymovým a/nebo molekulárně genetickým vyšetřením v amniocytech nebo choriových klících. V dlouhodobé léčbě je nezbytná **nízkoproteinová dieta s restrikcí lysinu a tryptofanu**. K prevenci neurologického poškození u pacientů bez dosavadního poškození bazálních ganglií jsou podávány **glukosa, insulin a karnitin**. U katabolických a horečnatých stavů je třeba neprodleně zahájit agresivní léčbu.

Metabolismus sирných aminokyselin a jeho poruchy

Ze sирných aminokyselin je esenciální pouze methionin, cystein a cystin jsou v těle syntetizovány právě z methioninu. Metabolismus methioninu, homocysteinu a cysteinu jsou spojeny v cyklu methylace a transsulfurace (Obr. 10). V metabolismu methioninu bylo popsáno několik dědičných poruch, z nichž nejvýznamnější je homocystinurie, která může vzniknout díky deficitu cystathionin-β-synthasy nebo methylenetetrahydrofolátreduktasy. S metabolismem cystinu jsou spojeny dvě transportní poruchy a to cystinurie a cystinosa.



Obr. 10. Metabolismus sирných aminokyselin a poruchy metabolismu methioninu. SAM, S-adenosylmethionin; SAH, S-adenosylhomocystein, THF, tetrahydrofolát; CH₂THF, methylenTHF; CH₃THF, methylTHF; MTHFR, methionintetrahydrofolátreduktasa

Homocystinurie

Homocystinurie může vzniknout z deficitu cystathionin- β -synthasy nebo z deficitu methylenetetrahydrofolátreduktasy. V obou případech se zvyšují plasmatické koncentrace homocysteinu i jeho vylučování močí. Vysoké hladiny homocysteinu jsou nezávislým rizikovým faktorem žilní trombózy, byla rovněž nalezena souvislost s atherosklerosou.

Homocystinurie z deficitu cystathionin- β -synthasy (klasická homocystinurie) je autosomálně recesivně děděné onemocnění (incidence 1 : 6400 až 1 : 20500) a jedná se o vůbec nejčastější poruchu metabolismu aminokyselin obsahujících síru, která představuje blok v transsulfuraci. Při tomto deficitu vážne kondenzace homocysteinu a serinu na cystathionin. Koncentrace cystathioninu v organismu jsou sniženy, zatímco koncentrace homocysteinu, jeho derivátů a methioninu, který vzniká remethylací homocysteinu, jsou zvýšené. Dosud bylo popsáno více než 160 mutací genu CBS, který kóduje cystathionin- β -synthasu. Tento enzym využívá jako kofaktor pyridoxal-5-fosfát, derivát vitamínu B₆ (pyridoxinu).

Symptomy se objevují v ranném až pozdním dětství a zahrnují **triádu postižení – pojivo, hemokoagulace a CNS**. Starší neléčené děti mají mentální postižení, marfanoidní habitus (vysoká hubená postava, dlouhé tenké končetiny a prsty), dislokaci očních čoček a vysoké riziko trombózy a tromboembolických komplikací. Existují i lehčí formy onemocnění, u některých forem je průběh bezpříznakový. Důležitá je včasná diagnóza, která umožňuje normální vývoj i u pacientů s těžkou formou onemocnění. Proto je homocystinurie z deficitu cystathionin- β -synthasy zařazena do novorozeneckého screeningového programu. Je dostupná prenatální diagnostika na úrovni genu (je-li známa mutace v rodině) v choriových klících i amniocytech, aktivita enzymu je měřitelná pouze v amniocytech. Léčba spočívá v **omezení příjmu methioninu** potravou s doplněním cysteinu, suplementací cholinu či betainu (umožňují remethylaci homocysteinu), některé formy odpovídají na **podávání pyridoxinu**.

Homocystinurie z deficitu methylenetetrahydrofolátreduktasy (MTHFR) je rovněž děděna autosomálně recesivně. MTHFR je nezbytná pro remethylaci homocysteinu na methionin, redukuje totiž 5,10-methylenetetrahydrofolát na 5-methyltetrahydrofolát, který je zdrojem methylové skupiny. Díky tomu v organismu klesají hladiny methioninu a hromadí se homocystein, který je transsulfurační drahou přeměňován na cystathionin.

U těžkých infantilních forem se onemocnění projevuje **progredujícím neurodegenerativním postižením** (poškození bílé hmoty mozkové; psychomotorická retardace již v prvních dvou letech života) s hypotonií, opakovanými atakami apnoe, **mikrocefalií a tromboembolickými poruchami**. U lehčích forem onemocnění a heterozygotů je zvýšené kardiovaskulární riziko díky protrombofilnímu stavu. U neléčených pacientů je infantilní forma smrtelná, zatímco při včasné diagnóze je možné léčbou zastavit psychomotorické postižení. To je pravděpodobně důvod, proč bylo toto onemocnění zařazeno do novorozeneckého screeningového programu. Při prenatální diagnostice se provádí vyšetření enzymové aktivity a/nebo vyšetření familiárních mutací v genu MTHFR. Léčba je založena na

podávání vysokých dávek betainu, podle individuální odezvy je možné doplnit methionin, kyselinu listovou, 5-methyltetrahydrofolát a vitaminy B₆ a B₁₂ v různých kombinacích.

Cystinurie

Cystinurie (incidence 1 : 7000) je transportní porucha způsobená **defektem vysokoafinitního luminálního přenašeče pro cystin** a dibazické aminokyseliny v buňkách proximálních tubulů ledvin a mukosy jejunu. V jejím důsledku je snížena absorpce cystinu v tenkém střevě i jeho reabsorpce v ledvinách, cystin je ve vysokých koncentracích vylučován močí. Vzhledem k velmi malé rozpustnosti cystinu v neutrálním či slabě kyselém pH moči vznikají v ledvinách cystinové konkrementy a pacient je celoživotně ohrožen urolithiasou. Cystinový transportér je složený ze dvou různých podjednotek, které jsou kódovány geny *SLC3A1* a *SLC7A9* (SLC, „solute carrier“). Současná klasifikace je založena na nalezené mutaci – u **typu A** (dědičnost autosomálně recesivní) je mutován gen *SLC3A1*, u **typu B** (dědičnost autosomálně dominantní s neúplnou penetrancí) je mutován gen *SLC7A9*, u vzácného **typu AB** jsou mutované obě allele jednoho genu a navíc jedna alela druhého genu (tedy AAB nebo ABB).

Cystinurie je charakterizována **vznikem ledvinových kamenů**, které se obvykle objevují ve druhé dekádě života. U některých pacientů se mohou první kameny objevit již v ranném dětství, jiní mohou být celoživotně bez potíží. **Urolithiasa** se téměř vždy objevuje u typu A, u ostatních dvou typů se vyskytuje nekonstantně. Kameny jsou extrémně tvrdé a žlutohnědé, krystaly cystinu v moči mají šestiúhelníkový tvar. Diagnosa je založena na laboratorní analýze moči – nález hexagonálních krystalů, pozitivní Brandova zkouška (NaCN konvertuje cystin na cystein a po přidání nitroprussidu sodného vzniká rudé zbarvení moči) a kvantitativní analýza aminokyselin v moči/24 hodin. Základem léčby je **pitný režim** (3-4 litry tekutin/den) a **alkalizace moči**, která zvyšuje rozpustnost cystinu. Rozpustnost cystinu lze rovněž zvýšit podáním chelátorů (penicilamin, bucilamin, thiopronin). V některých případech může být nezbytné chirurgické odstranění kamenů.

Cystinosa

Cystinosa (incidence 1 : 180 000) je autosomálně recesivně děděný **deficit lyzozomálního transportéru pro cystin**, cystinosinu. Při defektu cystinosinu se v lyzozomech buněk celého organismu hromadí cystin. Nejvíce poškozeny jsou ledviny, cystinosa je také nejčastější příčinou Fanconiho syndromu. Podle klinického průběhu rozlišujeme tři formy onemocnění: nejzávažnější infantilní formu, juvenilní formu a okulární formu. Prvními klinickými znaky infantilní cystinosy je **Fanconiho syndrom** s polyurií a polydipsií před dosažením 1. roku věku. Poškození renálních funkcí přechází do chronického **selhávání ledvin**. Běžné jsou poruchy růstu (**trpaslictví**) a vitamin D-rezistentní rachitis, do tří let věku se rozvíjí **fotofobie** a poškození zraku. Mezi pozdní komplikace patří hypothyreosa, hepatosplenomegalie, ulcerace rohovky, respirační insuficience a dysfagie. Bez léčby dochází

na konci první dekády života k fatálnímu selhání ledvin. U juvenilní formy je v popředí postižení ledvin, zejména glomerulů s proteinurií, neúplným Fanconihovým syndromem a postupným selháváním ledvin. Okulární (též benigní) forma je charakterizována retinopatií, protože cystinové krystaly se ukládají v rohovce oka, která se stává neprůhlednou.

Diagnosa je stanovena na základě biochemického průkazu zvýšených intracelulárních hladin cystinu v leukocytech. Přítomnost cystinových krystalů v rohovce lze zjistit pomocí šterbinové lampy. Léčba se v současnosti opírá o podávání **cysteaminu** (p.o., oční kapky), sloučeniny, která v lyzosomech štěpí cystin na dva cysteiny a s jednou molekulou cysteinu vytváří smíšený disulfid, který je z lyzozomu přenašen transportérem pro lysin. Druhý cystein může být z lyzozomů přenesen do cytoplasmy pomocí transportéru pro cystein. Cysteamin oddaluje selhání ledvin, snižuje poškození štítné žlázy a očí a zlepšuje růst. Jeho nevýhodou je, že nevede k úpravě Fanconihova syndromu, jeho použití je provázeno nepříjemným zápachem dechu a gastrointestinálními potížemi. Používá se rovněž podpůrná léčba tubulárních ztrát (např. hydratace, ionty, vit. D, karnitin), podávání růstového hormonu a thyroxinu.

Použitá literatura

- Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L (2006) Biochemistry. 6th edition. W. H. Freeman, New York, 1050 pp.
- Fernandes J a kol. (2008) Diagnostika a léčba dědičných metabolických poruch. 1. vydání. Triton, Praha, 608 s.
- Gilbert-Barness E, Barness LA, Farrell PM (2017) Metabolic Diseases: Foundations of Clinical Management, Genetics, and Pathology. 2nd edition. IOS Press, Amsterdam, 941 pp.
- Holeček M (2006) Regulace metabolismu cukrů, tuků, bílkovin a aminokyselin. 1. vydání. Grada, Praha, 286 s.
- Ledvina M, Stoklasová A, Cerman J (2004) Biochemie pro studující medicíny I. a II. díl 1. vydání. Karolinum, Praha, 562 s.
- Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA (2012) Harperova ilustrovaná biochemie, 5. vydání, Galén, Praha, 730 s.
- Novorozenecký screening: Dostupné z: <https://www.novorozeneckyscreening.cz/nemoci>. [citováno 09.20.2018]
- Schuck PF, Malgarin F, Cararo JH, Cardoso F, Streck EL, Ferreira GC (2015) Phenylketonuria Pathophysiology: on the Role of Metabolic Alterations. Aging Dis. 6:390-9.
- Silbernagl S, Lang F (2012) Atlas patofyziologie. 2. vydání. Grada, Praha, 416 s.
- van Spronsen FJ, Hoeksma M, Reijngoud DJ (2009) Brain dysfunction in phenylketonuria: is phenylalanine toxicity the only possible cause? J Inher Metab Dis. 32:46-51.