

Onemocnění způsobené poruchou metabolismu rozvětvených aminokyselin

Renáta Pecháčková

Bakalářská práce
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie a mikrobiologie potravin
akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Renáta PECHÁČKOVÁ**
Osobní číslo: **T08352**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**

Téma práce: **Onemocnění způsobené poruchou metabolismu
rozvětvených aminokyselin**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

- 1. Aminokyseliny valin, leucin, izoleucin.**
- 2. Metabolismus aminokyselin valin, leucin, izoleucin.**
- 3. Poruchy metabolismu aminokyselin valin, leucin, izoleucin.**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] MURRAY, R. Harperova biochemie. Jinočany: Nakladatelství H+H 2002. ISBN 80-7319-013-3.

[2] HOLEČEK, M. Regulace metabolismu cukrů, tuků, bílkovin a aminokyselin. Praha: Grada Publishing 2006. ISBN 80-247-1562-7.

[3] STRYER, L. Biochemistry. 3rd ed. New York: W.H. Freeman and company 1988. ISBN 0-7167-1920-7.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Zuzana Lazárková, Ph.D.

Ústav biochemie a analýzy potravin

Datum zadání bakalářské práce:

11. února 2011

Termín odevzdání bakalářské práce:

30. května 2011

Ve Zlíně dne 12. dubna 2011



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. Ing. Jan Hrabě, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: PECHAČKOVÁ RENÁTA

Obor: ČHTP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 25. 5. 2011

Renáta Renáta

²⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydávalečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídně k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce je zaměřena na vrozené poruchy metabolismu větvených aminokyselin valinu, leucinu a izoleucinu. Tyto aminokyseliny jsou řazeny mezi esenciální aminokyseliny, musí tedy být do těla dodávány potravou. Zdravý organismus je schopen pomocí specifických enzymů přijaté aminokyseliny rozštěpit. U pacientů s vrozenou poruchou metabolismu větvených aminokyselin dochází k částečné nebo úplné dysfunkci některého ze specifických enzymů katabolizmu dané aminokyseliny. Tato onemocnění, označovaná jako organické acidurie nebo acidémie, se projevují hromaděním kyselin v organismu. Pokud nejsou tato onemocnění včas diagnostikována, dochází u pacientů k vážným komplikacím, např. nevratnému poškození mozku nebo i smrti. Při včasné detekci onemocnění lze příznaky zmírnit speciální nízkobílkovinnou dietou.

Klíčová slova: valin, leucin, izoleucin, leucinóza, propionová acidémie, izovalerová acidémie, metylmalonová acidémie, nízkobílkovinná dieta

ABSTRACT

This bachelor thesis is focused on metabolic disorders of branched chain amino acids valine, leucine and isoleucine. These amino acids are ranked among the essential amino acids and must therefore be delivered into the body by food. A healthy organism is capable to metabolize these amino acids with the use of specific enzymes. In patients with congenital disorder of branched chain amino acid metabolism there is a partial or total dysfunction of a specific enzyme of the catabolism of amino acids. These diseases, known as organic aciduria or acidemia, are reflected by acid accumulation in the body. If these conditions are not diagnosed early, there are patients with serious complications such as irreversible brain damage or even death. The early detection of diseases can reduce symptoms by keeping special low-protein diet.

Keywords: valine, leucine, isoleucine, maple syrup urine disease, propionic acidemia, isovaleric acidemia, methylmalonic acidemia, low-protein diet

Chci poděkovat své vedoucí bakalářské práce, Ing. Zuzaně Lazárkové, Ph.D., za cenné připomínky a velkou dávku trpělivosti. Poděkování patří také mojí rodině, příteli a přátelům.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Ve Zlíně

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 AMINOKYSELINY	12
1.1 MONOAMINOKARBOXYLOVÉ AMINOKYSELINY	13
1.1.1 Valin.....	14
1.1.2 Leucin.....	15
1.1.3 Izoleucin.....	16
2 METABOLIZMUS AMINOKYSELIN	17
2.1 REGULACE KATABOLIZMU AMINOKYSELIN	17
2.2 VSTŘEBÁVÁNÍ AMINOKYSELIN.....	18
2.3 KATABOLIZMUS AMINOKYSELIN S ROZVĚTVENÝM ŘETĚZCEM	19
2.3.1 Tři specifické reakce pro katabolizmus leucinu	22
2.3.2 Čtyři reakce specifické v katabolizmu valinu	22
2.3.3 Tři specifické reakce pro katabolizmus izoleucinu	23
2.3.4 Odstranění amoniaku uvolněného z aminokyselin.....	23
2.3.5 Močovinový cyklus	23
3 METABOLICKÉ PORUCHY	25
3.1 KLINICKÉ PŘÍZNAKY ONEMOCNĚNÍ.....	27
3.2 DIAGNOSTIKA.....	27
3.2.1 Novorozenecký screening	28
3.3 LEUCINÓZA	30
3.3.1 Léčba	32
3.4 PROPIONOVÁ ACIDÉMIE.....	34
3.4.1 Léčba	37
3.5 IZOVALEROVÁ ACIDÉMIE.....	37
3.5.1 Léčba	40
3.6 METYLMALONOVÁ ACIDÉMIE.....	41
3.6.1 Léčba	42
3.7 NÍZKOBÍLKOVINNÁ DIETA	43
ZÁVĚR	45
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	46
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	51
SEZNAM OBRÁZKŮ	54

ÚVOD

Aminokyseliny jsou základními složkami bílkovin, které jsou nedílnou součástí potravy všech živočichů. Živočichové, na rozdíl od rostlin, schopných syntetizovat si aminokyseliny z anorganických sloučenin, neumějí vytvořit aminovou skupinu $-NH_2$ a jsou proto závislí na organických dusíkatých látkách vyrobených rostlinami nebo jinými živočichy [1, 2]. Aminokyseliny, jejichž uhlíkový řetězec člověk není schopen syntetizovat a musí je přijímat v potravě, jsou označovány jako esenciální, tzn. pro člověka nezbytné. Do této skupiny jsou řazeny aminokyseliny valin, leucin, izoleucin, treonin, metionin, lyzin, tryptofan a fenylalanin. Pro vývoj malých dětí jsou navíc nezbytné aminokyseliny arginin a histidin, označované také jako tzv. semiesenciální aminokyseliny [1, 3, 4].

Tato práce je zaměřena na esenciální aminokyseliny s rozvětveným uhlíkatým řetězcem, tedy na aminokyseliny valin, leucin a izoleucin, které bývají označovány také zkratkou BCAA (branched chain amino acid). Společnou charakteristikou těchto aminokyselin je přítomnost jedné aminoskupiny a jedné karboxylové skupiny v molekule, dále také přítomnost větveného nesubstituovaného řetězce. Tato skupina aminokyselin je řazena mezi esenciální aminokyseliny, které musí člověk přijímat potravou, protože jeho organizmus není schopen si tyto aminokyseliny syntetizovat. Mezi významné zdroje těchto aminokyselin patří např. maso, především rybí, vaječná bílkovina a mléčná bílkovina v syrovátce, nebo kozích a zrajících sýrech. K hlavním funkcím větvených aminokyselin v organismu patří stimulační účinek proteosyntézy ve svalové tkáni a zároveň jejich působení proti rozkladu těchto bílkovin. Významné je i jejich zapojení do biochemické reakce označované jako Krebsův cyklus, nebo podpora uvolňování některých hormonů [1, 4, 5, 6].

Katabolismus rozvětvených aminokyselin probíhá v kosterních svalech, kde dochází k oxidaci za spoluúčasti enzymu BCKA (branched chain keto acid) dehydrogenázy. Uvolněná aminoskupina při katabolismu ve svalech přechází do krve odkud je transportována do jater [6, 7].

Disfunkce některého ze specifických enzymů v katabolismu větvených aminokyselin způsobuje onemocnění označované jako organické acidurie nebo acidémie. Tato onemocnění jsou řazena mezi dědičné, autozomálně recesivní poruchy. Nejčastěji se vyskytujícími onemocněními jsou leucinóza, způsobená dysfunkcí enzymového komplexu α -ketodehydrogenázy, metylmalonová acidémie vyskytující se při nedostatku enzymu me-

tylmalonyl-CoA-mutázy, propionová acidémie, která je způsobena nedostatečnou funkcí enzymu propionyl-CoA-karboxylázy, a acidémie izovalerová projevující se dysfunkcí enzymu izovaleryl-CoA-dehydrogenázy[8, 9, 10, 11].

V první části této práce je shrnuta obecná charakteristika aminokyselin s rozvětveným řetězcem, jejich funkce v organismu, potravinové zdroje. Dále se práce věnuje katabolizmu těchto aminokyselin ve zdravém organismu. Druhá část práce je zaměřena na vrozené metabolické poruchy aminokyselin s rozvětveným řetězcem, jejich diagnózu a léčbu.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 AMINOKYSELINY

V přírodě se ve velkém množství vyskytují sloučeniny, jejichž základními stavebními jednotkami jsou aminokyseliny charakterizované přítomností aminoskupiny $-\text{NH}_2$ a karboxylové skupiny $-\text{COOH}$ ve své struktuře. Každá aminokyselina má tedy nejméně dvě ionizovatelné skupiny: karboxylovou skupinu schopnou odštěpovat H^+ a aminoskupinu, která může tyto H^+ ionty přijímat. Aminokyseliny se podle přítomnosti náboje při pH 7,4 člení na kyselé, mající dvě karboxylové skupiny v molekule, konkrétně zde patří kyselina glutamová a asparagová, a na zásadité se dvěma či více aminoskupinami, kam se řadí aminokyseliny histidin, lyzin a arginin. Třetí skupina, která je zastoupena např. aminokyselinami alanin, glycin, valin, leucin, izoleucin či prolin, je skupina neutrálních aminokyselin [1, 2]. Všechny tyto stavební látky se pak mohou vzájemně spojovat za tvorby amidové vazby $-\text{CO}-\text{NH}-$, která bývá označována jako vazba peptidová. Z L- α -aminokyselin jsou sestaveny vysoce specifické vysokomolekulární látky, označované jako bílkoviny, představující největší podíl dusíkatých látek v našem těle. Všechny bílkoviny vyskytující se v přírodě se skládají z 20 základních (kódovaných, proteinogenních) aminokyselin. Různé bílkoviny se obvykle liší celkovým zastoupením jednotlivých aminokyselin, přičemž rozhodující význam pro jejich specifitu má právě seřazení aminokyselin v peptidovém řetězci [1, 12, 13]. Tyto aminokyseliny jsou také určující pro strukturu a funkci peptidových hormonů a komplexních proteinů, které kromě nich obsahují hem, sacharidy, lipidy nebo nukleové kyseliny. V intermediárním metabolismu se aminokyseliny zúčastňují mnoha přeměn, z nichž nejdůležitější je biosyntéza močoviny. Pokud je v těle aminokyselin dostatek a nejsou potřeba pro biosyntetické účely, jsou aminokyseliny oxidačními pochody degradovány a využity jako zdroj energie [2, 3, 13].

Živočichové, na rozdíl od rostlin, schopných syntetizovat si aminokyseliny z anorganických sloučenin, neumějí vytvořit aminovou skupinu $-\text{NH}_2$. Jsou tedy závislí na organických dusíkatých látkách vyrobených rostlinami nebo jinými živočichy, proto musí lidská strava obsahovat dostatečné množství bílkovin. Biochemické systémy živočichů musí v trávicím traktu potravou přijaté bílkoviny rozložit na aminokyseliny a syntetizovat z nich *de novo* bílkoviny tělu vlastní [1, 3]. Existují aminokyseliny nezbytné, čili esenciální, které organismus musí přijmout v potravě, neboť si sám nedovede vytvořit jejich uhlíkovou kostru. Pro člověka jsou esenciální aminokyseliny valin (Val), leucin (Leu), izoleucin (Ile), treonin (Tre), metionin (Met), lyzin (Lyz), tryptofan (Trp), fenylalanin (Phe). Pro vývoj malých dětí jsou navíc nezbytné aminokyseliny arginin (Arg) a histidin (His), ozna-

čované také jako tzv. semiesenciální aminokyseliny. Poslední skupinu tvoří aminokyseliny neesenciální, tzv. postradatelné, které si organismu dokáže si vyrobit. Mezi tyto aminokyseliny jsou řazeny glycin (Gly), kyselina glutamová (Glu), glutamin (Gln), serin (Ser), alanin (Ala), cystein (Cys), prolin (Pro), tyrozin (Tyr), kyselina asparagová (Asp) a asparagin (Asn)[1, 3, 4].

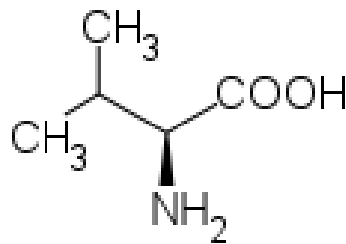
Pokud chybí v organismu byt' jen jedna z těchto aminokyselin, projeví se to těžkou dusíkatou podvýživou. Podobně i poměrně vzácné genetické poruchy katabolizmu aminokyselin mohou způsobit závažné choroby, které pokud nejsou včas léčeny, končí až mentálním postižením nebo časnou smrtí. Základem dalších genetických chorob je poškození transportního mechanismu určitých aminokyselin do buněk. Tyto transportní defekty se projeví vylučováním velkého množství jedné nebo více aminokyselin močí, tzv. aminoacidurie, nebo krví, označované jako acidémie [12, 13].

V dalším textu jsou charakterizovány pouze aminokyseliny valin, leucin a izoleucin, tedy aminokyseliny s rozvětveným postranním řetězcem, které se podílejí na vzniku organických acidurií a acidémií.

1.1 Monoaminokarboxylové aminokyseliny

Molekula monoaminokarboxylových aminokyselin je složena z jedné $-NH_2$ skupiny, jedné $-COOH$ skupiny a z alifatického nesubstituovaného postranního řetězce. Do této skupiny neutrálních aminokyselin jsou řazeny aminokyseliny glycin, alanin a aminokyseliny s rozvětveným řetězcem valin, leucin, a izoleucin, označované také zkratkou BCAA (branched chain amino acid)[1, 4, 5]. Těmto třem aminokyselinám bude věnována další pozornost.

1.1.1 Valin



Obr. č. 1: Vzorec

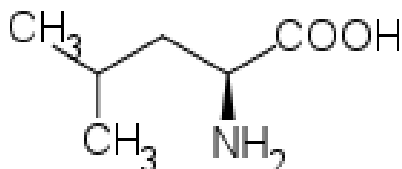
aminokyseliny valinu [13]

Z chemického hlediska je aminokyselina valin (viz Obr. č. 1) kyselina 2-amino-3-metylbutanová. Stejně jako leucin a izoleucin patří mezi esenciální aminokyseliny, protože si živočichové nejsou schopni syntetizovat jejich rozvětvený uhlíkatý řetězec. Jedná se o glukogenní aminokyselinu, tzn., že má výrazné uplatnění při uskladňování glukózy v játrech a svalech ve formě glykogenu. Glukogenní aminokyseliny jsou obecně metabolizovány na meziprodukty biosyntézy sacharidů (pyruvát, oxalacetát), nebo intermediáty citrátového cyklu. V případě valinu je tímto meziproduktem sukcinyl-CoA. Kromě valinu patří mezi glukogenní aminokyseliny treonin, metionin a všechny neesenciální AK kromě tyrozinu [1, 5]. Valin patří mezi aminokyseliny, které jsou součástí elastinu, proteinu podobného kolagenu, který je hlavní komponentou elastických vláken v živočišných tkáních. Valin rovněž ovlivňuje absorpci některých nervových přenašečů v mozku podobně jako aminokyseliny tryptofan, fenylalanin a tyrozin. Významnou roli má také v biochemické reakci označované jako Krebsův (citrátový) cyklus, protože poskytuje sloučeninu sukcinyl-CoA (viz výše) [5, 6]. V neposlední řadě valin podporuje účinky leucinu a izoleucinu. Pokud dojde k aminokyselinovému deficitu, je valin jednou z prvních aminokyselin, která by měla být do organismu dodána [1, 5, 6].

Valin se hojně vyskytuje v kozích sýrech, rybím mase, čočce, drůbeží a jiných druzích masa a ve vejcích. Zdrojem valinu může být i karob, prášek známý jako svatojánský chléb. V některých případech, např. u kulturistů a jiných sportovců, však tyto zdroje nemusí v dostatečné formě stačit a je potřeba užívat aminokyseliny s rozvětveným řetězcem ve formě tablet, ve kterých bývají upravovány tak, že vstupují přímo do svalů, kde napomáhají jejich regeneraci a zároveň slouží jako náhradní zdroj energie a chrání tak svalová vlákna

sportovců [5]. Valin a další zmíněné aminokyseliny nemusí však užívat jen sportovci. Vhodné jsou také pro pacienty s redukční nebo vegetariánskou dietou, kdy pomáhají chránit organismus před přílišnou degradací bílkovin, navíc energizují svaly, čímž umožňují snížit příjem sacharidů i tuků za současného udržení výkonnosti [1, 5].

1.1.2 Leucin



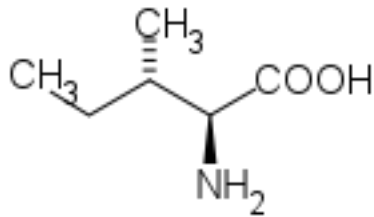
Obr. č. 2: Vzorec aminokyseliny

leucinu [13]

Aminokyselina leucin (viz Obr. č. 2), 2-amino-4-methylpentanová kyselina, se stejně jako aminokyselina valin řadí mezi esenciální aminokyseliny, které živočichové musí přijímat v potravě. Společně s aminokyselinami izoleucinem a valinem je součástí skupiny BCAA. Leucin plní v organismu řadu významných funkcí, mezi něž patří podpora udržování hladiny glukózy v krvi, působení proti katabolickému procesu a stimulační účinek na proteosyntézu ve svalové tkáni [1, 4, 6]. Dalším důležitým účinkem této aminokyseliny je její anabolický efekt, protože leucin dokáže rychle zapříčinit syntézu bílkovin, přičemž někteří odborníci dokonce uvádějí, že je z aminokyselin pro tuto syntézu nejvýznamnější. Rovněž leucin podporuje lepší uvolňování některých hormonů našeho organismu, mezi něž se např. řadí růstový hormon, tyroidní hormon a inzulin. Leucin patří na rozdíl od valinu ke ketogenním aminokyselinám, které se odbourávají na meziprodukty, ze kterých se tvoří lipidy (acetyl-CoA, acetoacetyl-CoA). Dalšími ketogenními aminokyselinami jsou lyzin a tryptofan [3, 5, 6].

Hlavními zdroji leucinu jsou syrovátka, kasein, vaječný bílek, neloupaná rýže, sójové boby, ryby, volný leucin vzniká činností bakterií při zrání sýrů. Užívání leucinu po operacích nebo při rekonvalescenci podporuje uzdravení zlomenin, pokožky a kostí, během redukční diety chrání svalové bílkoviny před rozkladem, čímž umožňuje snížený příjem sacharidů a tuků. Naopak pro svalový růst je vhodné kromě bílkovin přijímat i jednoduché sacharidy, neboť využití leucinu je závislé na hladině inzulinu v krvi [1, 5].

1.1.3 Izoleucin



Obr. č. 3: Vzorec

aminokyseliny izoleucinu[13]

Chemický název této esenciální aminokyseliny s rozvětveným postranním řetězcem je 2-amino-3-methylpentanová kyselina (viz Obr. č. 3). Stejně jako u aminokyselin valin a leucin si živočišné nedokáží syntetizovat její větvený uhlíkatý řetězec a musí tuto aminokyselinu přijímat v potravě. Hlavní funkcí izoleucinu je zvýšení syntézy bílkovin ve svalech a zároveň jeho působení proti rozkladu těchto bílkovin, tzv. antikatabolické působení [1, 3, 4, 5].

V potravě je aminokyselina izoleucin nejvíce obsažena v mléčných a vaječných bílkovinnách. Izoleucin patří spolu s fenylalaninem a tyrozinem jak mezi glukogenní, tak i ketogenní aminokyseliny, ze kterých se mohou syntetizovat jak sacharidy, tak i lipidy. Tyto AK se při degradaci štěpí na dva fragmenty – jeden přechází na acetyl-CoA (příp. acetoacetyl-CoA) a druhý na fumarát či jantaran (sukcinyl-CoA). V případě izoleucinu se jedná o acetyl-CoA a sukcinyl-CoA [1, 6].

2 METABOLIZMUS AMINOKYSELIN

Jelikož si živočichové nedokáží aminokyseliny valin, leucin a izoleucin syntetizovat sami, odehrává se v těle živočichů pouze katabolismus těchto aminokyselin. Se syntézou této skupiny aminokyselin je možné se setkat pouze v tělech rostlin či mikroorganismů. Aminokyseliny v tělech živočichů, které nejsou vázány ve struktuře proteinů, vytváří tzv. hotovost aminokyselin (pool), využívanou jak pro syntézu proteinů, tak i pro syntézu ostatních biologicky významných sloučenin jako jsou hormony, nukleové kyseliny nebo neuromediátory. Pokud je přísun aminokyselin do aminokyselinového poolu nadbytečný, aminokyselina se, obvykle po deaminaci či transaminaci, mění na jinou neesenciální aminokyselinu, sacharid, mastnou kyselinu nebo jinou látku. Druhou možností je využití aminokyseliny jako živiny, kdy jsou aminokyseliny v reakcích intermediárního metabolismu využívány až na konečné produkty, vodu, oxid uhličitý a amoniak, za současného uvolnění energie. Skladba i velikost aminokyselinového poolu je regulována působením nervovým i humorálním. U zdravého dospělého člověka je nárůst i úbytek aminokyselin v rovnováze, ovšem mohou nastat i případy, kdy jeden z uvedených stavů převládá. V případě převažující anabolické reakce, kdy proteosyntéza převažuje nad proteolýzou, je aminokyselinová hotovost doplňována především aminokyselinami, které se uvolnily během štěpení proteinů stravy. Naopak při převládajícím katabolismu, vyskytujícím se např. při hladovění nebo nemoci, je rozpad endogenních proteinů vyšší než jejich syntéza a aminokyselinový pool je doplňován z endogenních zdrojů, především z kosterního svalstva [2, 7, 14].

Valin, leucin a izoleucin se významným způsobem podílí na syntéze (kdy tvoří substrát), regulaci i degradaci bílkovin. Tyto aminokyseliny, zejména leucin, a některé jejich metabolity působí na sekreci inzulínu nebo na svalovou a jaterní translaci [2, 15].

2.1 Regulace katabolismu aminokyselin

Živočišný organizmus nevytváří velké zásoby proteinů ani aminokyselin, proto je regulace katabolismu aminokyselin spjata s jejich příjmem v potravě a se změnami v proteosyntéze a proteolýze. Velmi významný produkt při metabolismu aminokyselin je toxický amoniak, který musí být z organismu vylučován a propojuje tak katabolismus aminokyselin se syntézou močoviny. Základem tohoto propojení jsou změny substrátu, kdy příjem vysokobílkovinné diety nebo stimulace proteokatabolismu při zátěžových stavech, například při ná-

dorových onemocnění, sepsích nebo popáleninách, způsobí aktivaci transaminační a deaminační reakce, tvorbu amoniaku, glutaminu i močoviny. Opačný efekt nastává při deficitu proteinů, například při dlouhodobém hladovění, kdy jsou katabolismus aminokyselin i tvorba urey inhibovány. Změny substrátu nepředstavují jedinou regulaci katabolismu aminokyselin a syntézy močoviny. Na regulaci se v játrech velkou mírou podílí i hormony glukagon a kortizol, které stimulují aktivitu aminotransferáz, zvyšují hladinu enzymů ornitinového cyklu a aktivují jaterní glutaminázu zvyšující glykémii – mají tedy opačný účinek jako hormon inzulin. Krátkodobou regulaci tvorby močoviny ovlivňuje zvýšená produkce amoniaku, při níž stoupá tvorba argininu působící na enzym *N*-acetylglutamátsyntetázu podílející na tvorbě *N*-acetylglutamátu, který společně s amoniakem ovlivňuje regulaci tvorby močoviny [2, 13, 15].

Výjimkou v metabolismu aminokyselin jsou aminokyseliny valin, leucin a izoleucin, jejichž hlavní reakce katabolismu neprobíhá jako u ostatních aminokyselin v játrech, ale oxidují se v kosterních svalech. S aktivací proteolýzy a uvolňováním aminokyselin do krve při mnohých zátěžových stavech, jako jsou například traumata nebo sepsy, se zvyšuje oxidace aminokyselin s rozvětveným řetězcem ve svalech. Oxidace je umožněna působením cytokinů a kortizolu aktivujících enzym BCKA (branched chain keto acid) dehydrogenázu. Uvolněná aminoskupina při katabolismu ve svalech je uvolněna do krve ve formě glutaminu a alaninu, které představují kvantitativně nejvýznamnější formu transportu dusíku do jater [2, 14, 15].

Katabolismus aminokyselin a tvorbu urey nepřímo ovlivňují i změny v intermediárním metabolismu zejména sacharidů, které jsou regulovány podle potřeb organismu jako celku. Například aktivace glukoneogeneze je spjata s aktivací katabolismu aminokyselin a zvýšenou tvorbou močoviny [2, 13, 14].

2.2 Vstřebávání aminokyselin

Aminokyseliny se v potravinách vyskytují z 99 % vázané peptidovou vazbou v peptidy nebo proteiny, které jsou následně v organismu štěpeny na jednotlivé aminokyseliny, popř. dipeptidy a tripeptidy. Z celkového množství proteinů přítomných v gastrointestinálním traktu tvoří přibližně 50 % bílkovin z potravy, 25 % z trávících šťáv a 25 % z odloupaných buněk střevní sliznice. Pokud zanedbáme činnost bakterií tlustého střeva, pak největší podíl na trávení bílkovin patří enzymům kartáčového lemu buněk střevní sliznice. Uvolněné aminokyseliny, dipeptidy i tripeptidy jsou pomocí specifických přenašečů absorbovány do

střevních buněk, enterocytů, a to mechanismem navázání se na membránu mikrokřků, následného vstoupení do cytoplazmy enterocytů endocytózou a odtud exocytózou do krevního oběhu. Aminokyseliny resorbují za 3 – 5 hodin po příjmu potravy, přičemž rychlost absorpce je pro jednotlivé aminokyseliny různá. Následně jsou aminokyseliny přenášeny přes portální žílu do jater, kterými aminokyseliny valin, leucin a izoleucin procházejí nezměněné a jsou zachyceny především v mozku a svalovině. Do buněk jednotlivých orgánů jsou aminokyseliny transportovány krví, přičemž na samotné vnikání aminokyselin do buněk má pozitivní vliv hormon inzulin [1, 2, 7].

2.3 Katabolismus aminokyselin s rozvětveným řetězcem

Zpočátku probíhá katabolismus leucinu, valinu a izoleucinu stejným mechanismem, později přejde každá z aminokyselin na svou specifickou metabolickou cestu k amfibolickým intermediátům (viz Obr. č. 4). Strukturou těchto intermediátů je určeno, že valin je glukogenní, leucin ketogenní a izoleucin ketogenní i glukogenní aminokyselina (viz kapitoly 1.1.1, 1.1.2 a 1.1.3). Mnohé z katabolických reakcí rozvětvených aminokyselin jsou totožné s reakcemi při katabolismu mastných kyselin [13, 15].

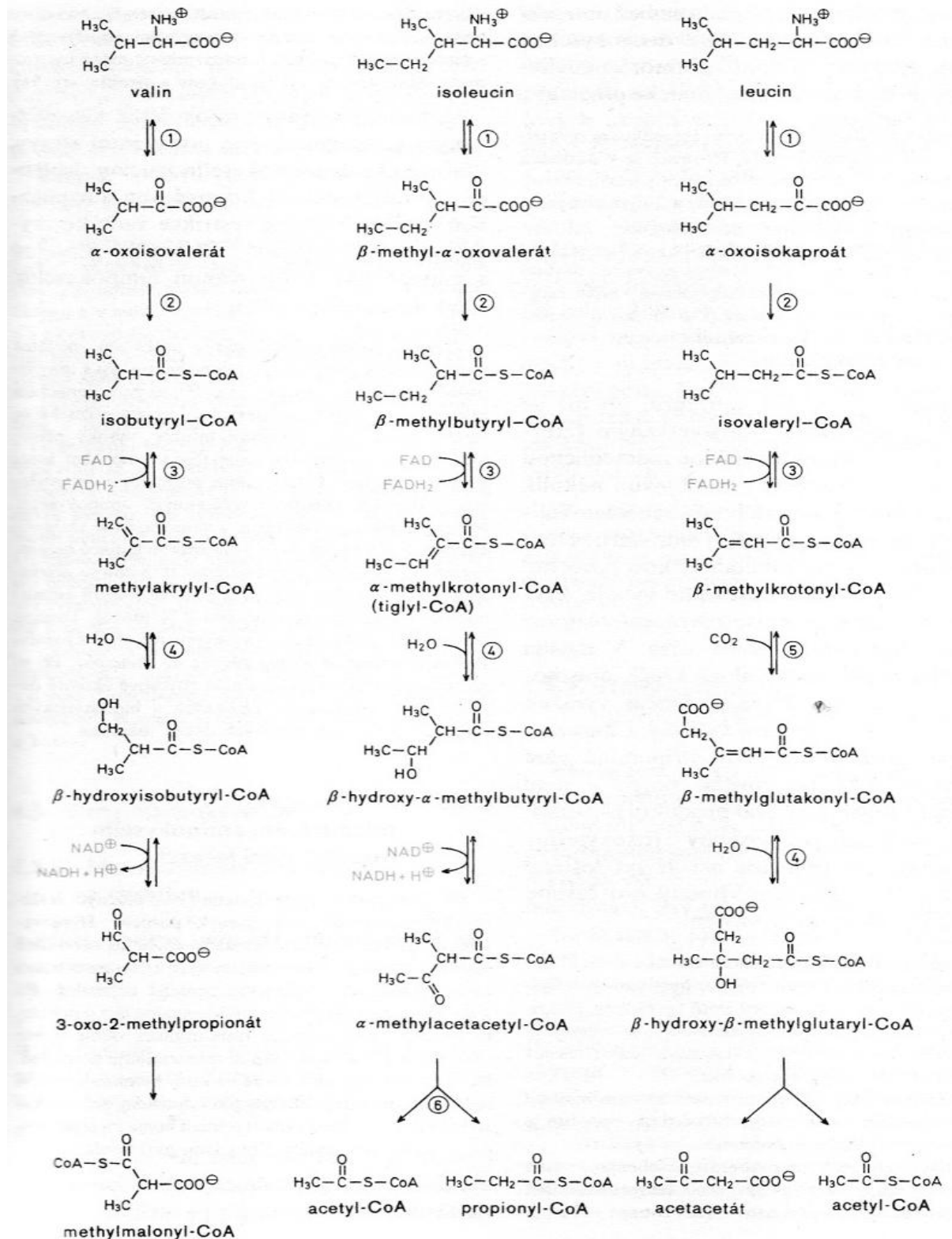
První společnou reakcí pro všechny aminokyseliny s rozvětveným řetězcem je transaminace katalyzovaná aminotransferázou aminokyselin s rozvětveným řetězcem (BCAA aminotransferáza) za vzniku rozvětvených α -ketokyselin. Z valinu vzniká kyselina α -ketoizovalerová (KIV), z leucinu kyselina α -ketoizokapronová (KIC) a z izoleucinu vzniká kyselina α -keto- β -methylvalerová (KMV). Princip transaminace spočívá ve vzájemné přeměně dvojice aminokyselin a dvojice oxokyselin. Tato reakce může probíhat i reverzibilně s rovnovážnou konstantou okolo hodnoty 1, takže reakce může být využívána pro syntézu i degradaci aminokyselin. Aktivita BCAA aminotransferázy je nejvyšší v srdci, kosterních svalech a v ledvinách, naopak nízká je aktivita tohoto enzymu v játrech, což vysvětluje nevýrazný pokles koncentrace aminokyselin s rozvětveným řetězcem po příjmu bílkovinné potravy po průtoku krve játry, na rozdíl od ostatních aminokyselin [2, 6, 13, 15].

α -ketokyseliny vzniklé z leucinu, izoleucinu a valinu podléhají dále oxidativní dekarboxylaci, která je první nevratnou reakcí, katalyzovanou dehydrogenázou ketokyselin s rozvětveným řetězcem (BCKA dehydrogenáza). Dekarboxylací vznikají deriváty CoA, které jsou následně přeměněny na meziprodukty metabolismu sacharidů nebo lipidů. Konkrétně z valinu vzniká sukcinyl-CoA, z leucinu vzniká β -hydroxy- β -methylglutaryl-CoA a z izoleucinu vznikají sloučeniny propionyl-CoA a acetyl-CoA. BCKA dehydroge-

náza je mitochondriální multienzymový komplex, který se strukturou i způsobem regulace podobá enzymu pyruvátdehydrogenáze; jejími podjednotkami jsou dekarboxyláza α -ketokyselin, transacyláza a dihydrolipoyldehydrogenáza. Tento enzymový komplex je inaktivován fosforylací pomocí ATP a proteinkinázy a je reaktivován pomocí Ca^{2+} -independentní fosfoproteinfosfatázy. Proteinkináza může být inhibována ADP, rozvětvenými α -ketokyselinami, tioestery CoA a hypolipidemickými přípravky clofibrátem a dichloracetátem [2, 13, 15].

Metabolismus valinu, leucinu a izoleucinu není zahájen v játrech, jako u ostatních aminokyselin, ale ve tkáních, kde je oproti játrům vysoká aktivita enzymu BCAA aminotransferázy. V kosterních svalech je však velmi nízká aktivita enzymu BCKA dehydrogenázy, proto je část vzniklých α -ketokyselin s rozvětveným řetězcem transportována do krve, odkud přechází do jater, kde jsou oxidovány nebo resyntetizovány zpět na aminokyseliny, které mohou být uvolněny opět do krevního oběhu [2, 15].

Třetí reakce je totožná s dehydrogenací nerozvětveného tioesteru acyl-CoA v katabolismu mastných kyselin, označovanou také jako vlastní β -oxidace. Principem jsou dvě dehydrogenace s vloženou hydratací. Při první dehydrogenaci jsou odštěpovány vodíky z α - a β -uhlíků mastné kyseliny za vzniku enoyl-CoA. Vznik dvojné vazby mezi α - a β -uhlíky mastné kyseliny umožňuje acyl-CoA-dehydrogenáza. Následuje adice vody na dvojnou vazbu za katalýzy enoyl-CoA-hydratázy. Při poslední reakci podstupuje vzniklý 3-hydroxyacyl-CoA za účasti 3-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenázy dehydrogenaci, přičemž vzniká konečný produkt 3-ketoacyl-CoA, neboli β -oxoacyl-CoA [2, 15].



Obr. č. 4: Odbourávání aminokyselin s rozvětveným řetězcem. Na obrázku je srovnán průběh katabolizmu valinu, izoleucinu a leucinu. Reakce 1 značí transaminaci, reakce 2 je oxidační dekarboxylace, reakce 3 značí dehydrogenaci, reakce 4 je adice vody, 5 značí karboxylaci, reakce 6 představuje štěpení [15].

2.3.1 Tři specifické reakce pro katabolismus leucinu

Čtvrtou reakcí v metabolismu aminokyseliny leucin je fixace CO_2 za vzniku β -metylglutakonoyl-CoA, kdy 1 mol CO_2 je kovalentně vázán na 1 mol izopropylové skupiny leucinu. Fixace CO_2 vyžaduje přítomnost biotinylu- CO_2 [13, 15].

Následnou hydratací je β -metylglutakonoyl-CoA přeměněn na β -hydroxy- β -metylglutaryl-CoA (HMG-CoA), sloužící jako prekurzor ketonových látek, dále prekurzor mevalonátu a tím i cholesterolu a všech ostatních polyizoprenoidů [13, 15].

Poslední reakce v metabolismu leucinu je umožněna enzymem HMG-CoA-lyázou nacházejícím se v játrech, ledvinách a srdečních mitochondriích. HMG-CoA-lyáza katalyzuje štěpení HMG-CoA na acetyl-CoA a acetoacetát [13, 15].

Popsaným principem metabolismu leucinu lze vysvětlit jeho silné ketogenní účinky, kdy z 1 molu leucinu vznikne nejen 1 mol acetoacetátu, ale navíc ještě polovina molu ketonových látek vznikajících ze zbývajících acetyl-CoA [13, 15].

2.3.2 Čtyři reakce specifické v katabolizmu valinu

Čtvrtou reakcí při odbourávání valinu je hydratace metylakryloyl-CoA krotonázou (enoyl-CoA-hydratázou), hydrolázou se širokou specifitou pro tioestery β -hydroxyacyl-CoA [13,15].

V následujícím kroku je deacylován β -hydroxyizobutyryl-CoA na β -hydroxyizobutyrát plnící úlohu substrátu v následujících reakcích [13, 15].

Primární alkoholová skupina β -hydroxyizobutyrátu je následně reverzibilní NAD^+ -dependentní oxidací přeměněna na metylmalonátsemialdehyd (3-oxo-2-metylpropionát) [13, 15].

Methylmalonátsemialdehyd je v poslední osmé reakci metabolismu valinu transaminován na β -aminoizobutyrát, který je přítomen v moči. Methylmalonátsemialdehyd může být také oxidativně acylován na metylmalonyl-CoA, izomer sukcinylu-CoA. Izomerace je umožněna přítomností koenzymu adenozylkobalaminu a enzymu metylmalonyl-CoA-mutázy. Methylmalonyl-CoA-mutáza je významný enzym nejen v metabolismu valinu, ale i propionyl-CoA, který je katabolitem izoleucinu [13, 15].

2.3.3 Tři specifické reakce pro katabolismus izoleucinu

Podobně jako ve čtvrté reakci katabolizmu valinu dochází k hydrataci za katalýzy krotonázy. Substrátem této reakce je tigloyl-CoA, produktem α -metyl- β -hydroxybutyryl-CoA [14].

Při páté reakci dochází k dehydrogenaci α -metyl- β -hydroxybutyryl-CoA a reakce je analogickou reakcí k páté reakci odbourávání valinu. Tiolytické štěpení vazby mezi 2. a 3. uhlíkem α -metyl-acetacetyl-CoA je obdobné tiolýze acetacetyl-CoA β -ketotiolázou. Konečné produkty metabolismu izoleucinu (acetyl-CoA, propionyl-CoA) charakterizují jeho ketogenní a glukogenní vlastnosti [13, 15].

2.3.4 Odstranění amoniaku uvolněného z aminokyselin

Hlavním zdrojem amoniaku jsou aminokyseliny, vznikající účinkem glutamátdehydrogenázy a oxidázy L-aminokyselin, dále jako zdroje mohou posloužit aminy, puriny nebo střevní bakterie. Vzniklý amoniak, ať už vznikl z jakéhokoli zdroje, je pro buňky vysoce toxický a je snášen jen v malé koncentraci. Člověk patří mezi tzv. ureotelní živočichy, kteří amoniak detoxikují do podoby hlavního produktu močoviny, urey. Vedlejšími produkty při využití amoniaku mohou být reakce s glutamátem na netoxický glutamin, nebo peptonizace v ledvinách na neškodné amonné soli, které jsou vyloučeny močí. Močovina se vytváří močovinovým, také nazývaným ureosyntetickým nebo ornitinovým cyklem. Reakce tohoto cyklu probíhají výhradně v játrech, proto zdravá játra svou správnou funkcí zaručují normální hladinu amoniaku v těle [7, 13, 15].

2.3.5 Močovinový cyklus

Po degradaci uhlíkatých koster v citrátovém cyklu jsou aminokyseliny vylučovány lidským organismem ve formě močoviny. Syntéza močoviny je biosyntetický děj, proto je k jeho zahájení nutné dodat energii ve formě ATP. Pokud by organismus nebyl schopen počáteční energii poskytnout, v těle by se hromadil toxický amoniak, vzniklý při katabolizmu aminokyselin. Metabolická dráha vzniku močoviny u savců se nazývá močovinový cyklus a je lokalizovaná v játrech, částečně v mitochondriích a částečně v cytosolu. Následně je močovina transportována do ledvin, odkud je ve formě moči vylučována [6, 13, 15].

Ornithinový cyklus lze rozdělit do pěti vzájemně závislých reakcí. První reakcí, která se ve skutečnosti přímo ornitinového cyklu neúčastní, nýbrž poskytuje substrát pro cyklus, je kondenzace aminoskupiny, obvykle transportované kyselinou glutamovou, a oxidu uhličí-

tého za vzniku karbamoylfosfátu. Reakci probíhající v mitochondriích katalyzuje enzym karbamoylfosfátsyntetáza a jsou při ní potřebné 2 molekuly ATP. Druhá reakce je opět lokalizována v mitochondriích. Dochází při ní ke kondenzaci karbamoylfosfátu s ornitinem, který byl do mitochondrií přenesen specifickým přenašečem. Enzym, umožňující vznik produktu této reakce citrulinu, je ornithinkarbamoyltransferáza [6, 15]. Aby mohl cyklus pokračovat dále, musí být citrulin pomocí specifického přenašeče přenesen do cytosolu. V cytosolu pak citrulin reaguje s kyselinou asparagovou, která je donorem další aminokupiny. Mimo přítomnost enzymu argininosukcinátsyntetázy tato část cyklu vyžaduje i dodání energie ve formě 1 molekuly ATP. Vzniklý argininosukcinát se v další fázi cyklu štěpí na kyselinu fumarovou a arginin. Kyselina fumarová propojuje močovinový a citrátový cyklus tím, že vstupuje do citrátového cyklu za vzniku oxalacetátu, ze kterého vzniká transaminací za účasti argininosukcinátlyázy opět kyselina asparagová, znovu využitelná v močovinovém cyklu. Poslední reakcí ornitinového cyklu je rozštěpení argininu na močovinu a ornitin. Tato reakce je umožněna enzymem arginázou. V cytosolu vzniklý ornitin je specifickým přenašečem transportován do mitochondrií, kde se napojuje v druhé reakci cyklu a tím celý cyklus uzavírá. Močovina je poté transportována krví do ledvin, kterými je vyloučena z těla močí [6, 13, 15].

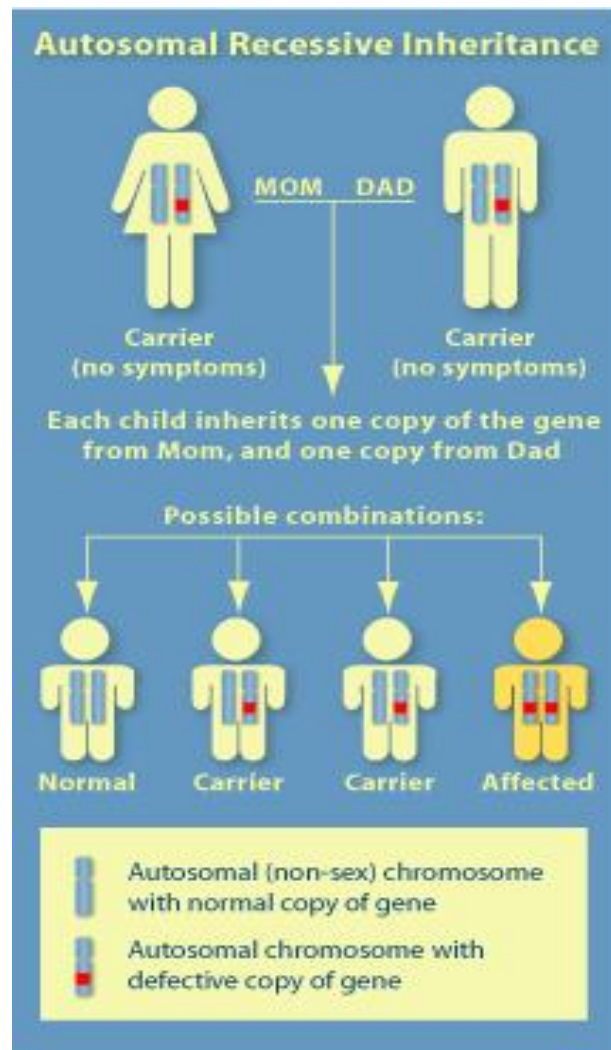
Lidský organizmus tedy musí na jedno proběhnutí cyklu dodat 3 molekuly ATP, aby byl schopený vyloučit z těla toxický amoniak. Denní produkce močoviny je až 25g [6].

3 METABOLICKÉ PORUCHY

Skupina metabolických onemocnění, které jsou způsobeny disfunkcí některého ze specifických enzymů v katabolismu větvených aminokyselin, bývá označována jako organické acidurie nebo acidémie. V širším slova smyslu lze organické acidurie zařadit mezi aminoacidopatie, jako fenylketonurie, tyrozinémie a homocystinurie, avšak pro dominující nález hromadících se organických kyselin v organismu, bývají organické acidurie klasifikovány zvlášť[16, 17, 18, 19].

Organické acidurie mohou být tedy definovány jako poruchy látkové výměny vedoucí k hromadění organických kyselin v biologických tekutinách, které narušují acidobazickou rovnováhu a intracelulární biochemické dráhy [18, 20, 21].

Pokud dochází ke kumulaci organických kyselin v krvi, označuje se tento stav jako acidémie. Termín acidurie značí zvýšenou hladinu organických kyselin v moči. Jedná se o onemocnění dědičná, způsobená poruchou určitého genu. Gen nesoucí informaci o syntéze a aktivitě příslušného enzymu v katabolismu aminokyselin je poškozen mutací a způsobuje tak dysfunkci enzymu[16, 17]. Organické acidurie jsou autozomálně recesivně dědičná, což znamená, člověk může mít v těle zmutovaný gen, přestože nevykazuje žádné příznaky onemocnění a je zcela zdravý. Lidé s tímto typem genetického poškození bývají označováni jako přenašeči. Vzájemným spojením dvou přenašečů mohou nastat tři možné genetické kombinace jejich potomka. Největší pravděpodobnost, přibližně 50 %, představuje vznik dalšího přenašeče bez příznaků onemocnění a zdravotních komplikací. Další možností je kombinace dvou dominantních chromozomů, takže potomek ve své genetické výbavě nemá poškozený gen. Poslední možnou kombinací, která představuje 25% pravděpodobnost, je zkřížení recesivních chromozomů rodičů, které pro dítě představuje závažné onemocnění po zbytek života (viz Obr. č. 5)[18, 21, 22].



Obr.č. 5: Možné kombinace při přenášení recesivního genu na potomka dvou recesivních rodičů [29]

Mezi nejčastěji se vyskytující metabolické acidózy patří leucinóza, tzv. choroba javorového sirupu (MSUD – maple syrup urine disease), s odhadovanou frekvencí výskytu 1: 20 000 – 50 000 živě narozených dětí, dále izovalerová acidémie (IVA – isovaleric acidemia), s frekvencí výskytu 1: 50 000, metylmalonová acidémie (MMA – methylmalonic acidemia), vyskytující se také s frekvencí 1: 50 000 a v neposlední řadě propionová acidémie (PA – propionic acidemia), s frekvencí výskytu 1: 1000 000 [16, 17, 18, 21].

3.1 Klinické příznaky onemocnění

Všechny výše zmíněné poruchy (MSUD, IVA, MMA a PA) se začínají klinicky projevovat jako závažné novorozenecké formy již v prvních dnech života novorozence. Bezprostředně po porodu nejeví novorozenec žádné zjevné příznaky onemocnění, k náhlému zhoršení stavu dochází většinou několik hodin až dnů po porodu. Společnými klinickými projevy organických acidurií jsou jednak neurologické poruchy, mezi které je řazena encefalopatie zahrnující různé části nervového systému, především dochází k toxickému poškození funkce mozku, mozečku a bazálních ganglií, a opožděnému vývoji psychomotorického aparátu [16, 20, 21]. Dalšími společnými projevy jsou překyselení organismu a pozitivní reakce na přítomnost ketolátek a tendencí k nízkým hladinám glukózy v krvi. Mezi typické příznaky poruchy katabolizmu rozvětvených aminokyselin patří odmítání kojení a přísátí se, nespavost, těžká dehydratace, snížení svalového tonu, křeče, leuconotropenie a trombopenie, které mohou napodobovat sepsi, nebo apnoické pauzy s progresí až do kómatu. U dětí s leucinózou může mít moč nasládlý zápach připomínající javorový sirup, zatímco moč pacientů s izovalerovou acidurií zápachem připomíná myšinu [17, 20, 23]. Propionová, izovalerová a metylmalonová acidurie se v extrémních případech může také projevovat snížením počtu bílých krvinek a krevních destiček v krevním obraze spolu se zvýšenou koncentrací amoniaku. Opakované metabolické dysfunkce mohou vyústit až ke vzniku chronických komplikací jako jsou epilepsie, zbytnění srdce neboli kardiomyopatie či chronická ledvinná nedostatečnost s postižením tubulárních funkcí [16, 20, 21].

3.2 Diagnostika

Všechny druhy poruch katabolizmu rozvětvených aminokyselin mohou být diagnostikovány různými biochemickými analýzami. Základní biochemickou metodou při podezření na poruchu z okruhu organických acidurií je rozbor moči, srážlivé krve a suché kapky. Vzor-ky odebrané pacientům s náhlým zhoršením stavu jsou následně odeslány buď do laboratoře Ústavu dědičných metabolických poruch ve Všeobecné fakultní nemocnici (VFN) Praha, nebo do Laboratoře dědičných metabolických poruch ve Fakultní nemocnici (FN) Olomouc, kdy jsou využívány metody plynové chromatografie-hmotnostní spektrometrie (GC-MS) nebo tandemové hmotnostní spektrometrie (MS-MS) [16, 17, 19]. Jednotlivé organické acidurie jsou stanoveny pomocí speciálních enzymatických zkoušekve fibroblastech, kultivovaných kožních buňkách odebraných během kožní biopsie, a molekulárních genetických analýz [16, 21, 24, 25].

3.2.1 Novorozenecký screening

Novorozenecký screening je nenahraditelný preventivní zdravotní program. Jedná se o vyšetření novorozeneckého dítěte, navazující na řadu vyšetření, se kterými začal již gynekolog v průběhu těhotenství. Novorozenec je vyšetřován na léčitelná onemocnění, která se mohou projevit již v prvních dnech života. Cílem je diagnostikovat tyto pacienty dříve, než onemocnění způsobí závažné zdravotní komplikace novorozence a ovlivní tak jeho přirozený vývoj nebo dokonce zapříčiní smrt. Novorozenecký screening slouží k celostátnímu vyhledávání novorozenců se zvýšeným rizikem některých vzácných onemocnění tak, aby se dala tato onemocnění potvrdit či vyvrátit dříve než se stačí projevit a nevratně poškodit zdraví dítěte [24, 25]. Novorozenecký screening je založen na analýze suché kapky krve na filtračním papírku, tzv. novorozenecké screeningové kartičce, na základě stanovení koncentrace specifické látky případně i prokázání genové mutace. Odběr krve je prováděn z paty dítěte za definovaných podmínek Ministerstvem zdravotnictví České republiky všem novorozencům narozeným na území České republiky. Suchá novorozenecká kartička je odeslána k analýze do příslušné laboratoře. Za správné provedení odběru krve zodpovídá ošetřující lékař novorozence ve věku 48 – 72 hodin života, za rozbor krve v suché kapce a výsledky rozboru je zodpovědná příslušná screeningová laboratoř [24, 26]. Pravděpodobnost onemocnění je velmi malá, přibližně 1: 1150 právě narozených dětí. Pokud se ovšem onemocnění prokáže a díky screeningu včas diagnostikuje, pomůže dítěti ochránit zdraví, v některých případech i život, a ekonomii zdravotnictví sníží náklady na jeho léčbu [24, 25, 26].

Novorozenecký screening dědičných metabolických poruch započal v roce 1962 zavedením Guthrieho bakteriálního testu pro včasné rozpoznání fenylylketonurie a hyperfenylalaninémie v USA. Od roku 1962 byla objasněna biochemická a genetická podstata mnoha dědičných metabolických poruch, čímž se výrazně zlepšila jak jejich prognóza, tak i jejich terapie. V Československu se celoplošný novorozenecký screening pomocí Guthriehomeody začal využívat v roce 1975, o deset let později byl novorozenecký screening v ČR rozšířen o vyšetřování vrozeného selhání funkce štítné žlázy (kongenitální hypotyreóza, CH). Analýza byla prováděna ve čtyřech spádových specializovaných laboratořích, a to ve VFN Praha, FNKV (Fakultní nemocnice Královské Vinohrady) Praha, FN Brno a FN Ostrava. V roce 2006 přibýlo k nemocem stanoveným pomocí screeningu také vrozené selhání funkce nadledvin (kongenitální adrenální hyperplazie, CAH, dříve nazýváno též adrenogenitální syndrom, AGS). Od 90. let 20. století je v novorozeneckém screeningu využívána

modernější, méně finančně náročná, analytická technika tandemové hmotnostní spektrometrie (MS-MS), která umožňuje diagnostikovat více závažných dědičných metabolických poruch a to ještě před rozvojem klinických příznaků onemocnění. Principem tandemové hmotnostní spektrometrie je činnost dvou vedle sebe umístěných spektrometrů, mezi nimiž je umístěna kolizní cela, ve které dochází k rozbití molekuly na fragmenty identifikovatelné podle specifického spektra. Během jednoho vyšetření tak může být stanoveno velké množství metabolitů, což značně zvyšuje šanci diagnózy dědičné metabolické poruchy. Organické acidurie a poruchy oxidace mastných kyselin se projeví v profilu acylkarnitinu. Analýza aminokyselin a acylkarnitinu v jednom vzorku na tandemovém hmotnostním spektrometru trvá přibližně 2,5 minuty, čímž je umožněno vyšetření několika stovek vzorků denně [24, 26].

1. října 2009 se stala metoda tandemové hmotnostní spektrometrie (MS-MS) Metodickým návodem, zveřejněným ve Věstníku Ministerstva zdravotnictví č.6/2009. Současně se od tohoto data mění specializované laboratoře provádějící novorozenecký screening, a to na Ústav dědičných metabolických poruch ve VFN Praha a na Laboratoř dědičných metabolických poruch ve FN Olomouc, a dále se ruší spádové obvody metabolických center pro fenylketonurii [24, 26].

V České republice se na základě Metodického návodu k zajištění celoplošného novorozeneckého laboratorního screeningu a následné péče (Věstník Ministerstva zdravotnictví ČR z roku 2009, částka 6, z 12. srpna 2009) vyšetřuje 13 onemocnění [24, 25, 26]:

- vrozená snížená funkce štítné žlázy (kongenitální hypotyreóza – CH)
- vrozená nedostatečnost tvorby hormonů v nadledvinách (kongenitální adrenální hyperplazie – CAH)
- vrozená porucha tvorby hlenu (cystická fibróza – CF)
- dědičné poruchy látkové výměny aminokyselin
 - vrozená porucha látkové výměny aminokyseliny fenylalaninu (fenylketonurie – PKU a hyperfenylalaninemie – HPA)
 - vrozená porucha látkové výměny větvených aminokyselin (leucinóza, nemoc javorového sirupu – MSUD)
 - glutarová acidurie typ I (GA I)
 - izovalerová acidurie (IVA)
- dědičné poruchy látkové výměny mastných kyselin
 - deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem (MCAD)
 - deficit 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin s dlouhým řetězcem (LCAD)
 - deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem (VLCAD)

- deficit karnitinpalmitoyltransferázy I (CPT I)
- deficit karnitinpalmitoyltransferázy II (CPT II)
- deficit karnitinacylkarnitintranslokázy (CACT)

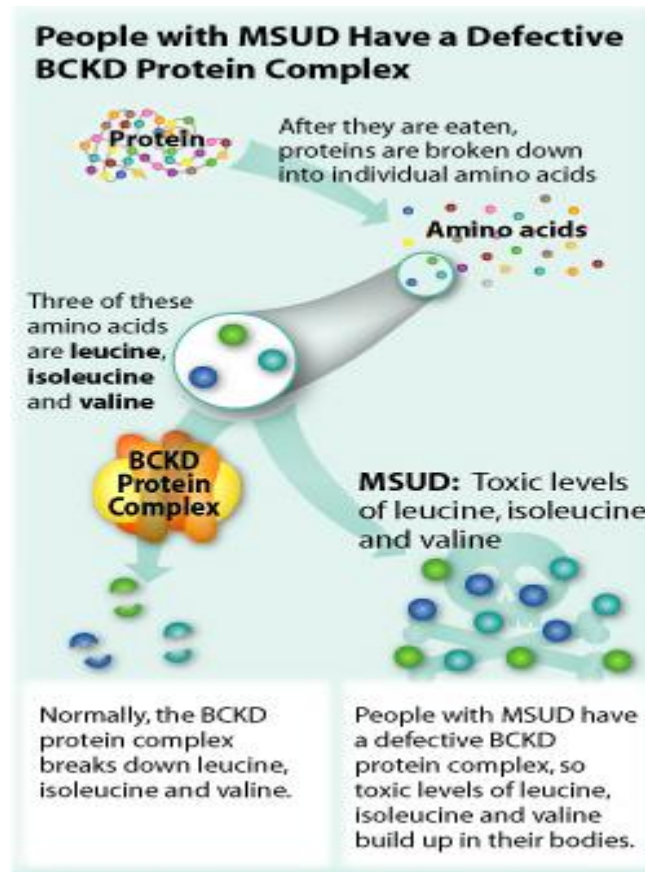
3.3 Leucinóza

Onemocnění nazývané leucinóza označuje autozomálně recesivní dědičný deficit enzymového komplexu α -ketodehydrogenázy aminokyselin valinu, leucinu a izoleucinu. Často bývá leucinóza označována také jako nemoc javorového sirupu podle charakteristického zápachu moči po javorovém sirupu způsobeného esterem kyseliny α -hydroxymáselné [8, 27, 28, 29].

Poprvé leucinózu popsal v roce 1954 pediatr Menkes se svými kolegy, když studoval rodinu, ve které zemřeli čtyři kojenci během prvních tří měsíců života. Moč těchto dětí byla cítit jako javorový sirup nebo spálený cukr a odtud dostala své pojmenování jako nemoc javorového sirupu [30]. Na základě mnohých biochemických analýz bylo v roce 1960 výzkumníkem Dancisem zjištěno, že základem onemocnění je nízká aktivita enzymu štěpícího během procesu trávení tři aminokyseliny, a to valin, leucin a izoleucin. Tento enzym byl izolován a definován jako enzymový komplex α -ketodehydrogenáza v roce 1978. V roce 1964 Dancis se svými kolegy zveřejnil úspěšnou léčbu při onemocnění leucinózou. Léčba spočívala v dietě s omezeným příjmem potravin obsahujících vysoké množství větvených aminokyselin, které obsahuje většina potravin bohatých na bílkoviny, jako jsou např. mléko a mléčné výrobky, vejce nebo maso. Strava pacienta se proto skládala z potravin neobsahujících nebo obsahujících pouze malé množství bílkovin, a dále bílkovinné náhražky, které splňují denní kalorické požadavky pacienta [27, 28].

Pravděpodobnost tohoto onemocnění je 1:185 000, přičemž geny zodpovědné za leucinózu jsou lokalizovány na chromozomech 1 a 19 a jsou autozomálně recesivní. Typickými příznaky je zvýšený výskyt aminokyselin s rozvětveným řetězcem, zvláště leucinu, v moči a v plazmě. Dále je patrná úplná nebo částečná dysfunkce enzymového komplexu [8, 27, 28]. Skupina rozvětvených aminokyselin tvoří asi 35 % z nepostradatelných aminokyselin ve svalech. Katabolické dráhy pro aminokyseliny s rozvětveným řetězcem začínají transportem těchto aminokyselin do buněk pomocí přenašečů nacházejících se v cytozolové membráně. Uvnitř buňky podstupuje skupina rozvětvených aminokyselin reverzibilní transaminaci na cytozolové nebo mitochondriální izoformy α -ketokyselin s odpovídajícím rozvět-

veným řetězcem, pomocí enzymu aminotransferázy. Vzniká tedy kyselina α -ketoizokapronová z leucinu, kyselina α -keto- β -methylvalerová z izoleucinu a kyselina α -ketoizovalerová z valinu. Tyto α -ketokyseliny syntetizované v cytozolu jsou translokovány svým specifickým přenašečem do mitochondrií, kde jsou dekarboxylovány a oxidovány za katalýzy α -ketodehydrogenázového komplexu [28, 29]. Lidský α -ketodehydrogenázový komplex je volně spojen s vnitřní mitochondriální membránou. K oxidaci aminokyselin s rozvětveným řetězcem dochází především v játrech, ledvinách, svalech, mozku, tukové tkáni a srdci, přičemž hlavním místem pro transaminaci a oxidaci je kosterní svalstvo. Následující reakce jednotlivých α -ketokyselin probíhají již po odlišných drahách. Koenzymem enzymového komplexu α -keto-dehydrogenázy je thiaminpyrofosfát (viz Obr. č. 6) [27, 28, 29, 30].



Obr. č.6 Katabolismus aminokyselin u osob trpících MSUD [29]

Na základě aktivity enzymového komplexu a biochemické reakce s thiaminpyrofosfátem jsou pacienti trpící leucinózou děleni do následujících pěti fenotypových forem: klasická,

intermediární, přerušovaná, reagující na tiamin, a nedostatečná. Klasická forma leucinózy je nejzávažnější a nejčastější vyskytující se formou projevující se již v prenatálním věku dítěte jako encefalopatie. Projevuje se ihned po narození křečemi, zvracením, letargií až kómatem a mentální retardací [27, 29, 30]. Kromě screeningu lze onemocnění diagnostikovat také typickým zápachem moči a potu po javorovém sirupu, který může připomínat také pach čerstvého karamelu nebo Maggi koření. Zápach v moči je dán přítomností vysokých koncentrací aminokyselin valinu, leucinu a izoleucinu [8, 28, 31]. U ostatních variant onemocnění se příznaky nejintenzivněji projevují během druhého roku života pacienta. Intermediární forma leucinózy začíná až po novorozeneckém období a může se objevit kdykoli během života v závislosti na zbytkové aktivitě enzymu. Aktivita enzymu dekarboxylázy se pohybuje přibližně v rozmezí 2 – 8 %. Běžně jsou koncentrace aminokyselin s rozvětveným řetězcem v moči a v séru jen mírně zvýšené, ovšem typický zápach je i v tomto případě znatelný. Děti trpící intermediární formou leucinózy mívají různé stupně neurologického poškození, záchvaty a opožděný vývoj. Další z forem leucinózy, přerušovaná, je druhou nejčastěji se vyskytující formou a významně se projevuje při stresových situacích, jako jsou např. infekce nebo chirurgické zákroky, přičemž dekarboxyláza je v takovém případě aktivní z 8 – 16 %. Při záchvatu pacienta musí být ihned nasazena agresivní léčba jako u klasické formy leucinózy a omezen příjem aminokyselin s rozvětveným řetězcem v potravě. Pacienti s touto formou vykazují normální růst i inteligenci, ovšem v závislosti na záchvatech se mohou objevovat křeče nebo bezvědomí [8, 27, 30]. Leucinóza reagující na tiamin se nejčastěji projevuje u pacientů s přerušovanou nebo intermediární formou leucinózy. Klinické příznaky jsou potlačeny nebo zcela vymizí při podání vysokých dávek tiaminu, přibližně 10 – 200 mg.den⁻¹. Tzv. nedostatečná forma leucinózy se kromě snížené aktivity α -ketodehydrogenázového komplexu projevuje i sníženou aktivitou enzymu pyruvátdehydrogenázy a α -ketoglutarátdehydrogenázového komplexu [8, 28, 29, 30].

3.3.1 Léčba

Většina neléčených pacientů umírá již v prvních měsících života na následky opakovaných metabolické kolapsů a neurologických poškození. Léčba při onemocnění leucinózou zahrnuje dlouhodobé dietní opatření a agresivní zásah při akutní metabolické dekompenzaci. Léčebná opatření musí být sestavena tak, aby inhibovala endogenní katabolismus bílkovin, udržovala syntézu proteinů, zabraňovala nedostatku esenciálních aminokyselin a udržovala normální hodnotu sérové osmolarity [8, 31, 32]. Dieta při metabolické dekompenzaci musí

obsahovat dostatečné množství kalorií, inzulínu a volných aminokyselin. Denní příjem leucinu je stanoven podle individuálních potřeb pacienta. Leucin, jakožto esenciální aminokyselina nemůže být z jídelníčku zcela vypuštěn, přestože pro pacienta představuje nejedovatější aminokyselinu. Tolerance pacienta vůči leucinu se vypočítá z intervalového měření hladiny leucinu, izoleucinu a valinu během 6. až 12. měsíce života [27, 29]. Od roku 2003 společnost Vitaflo se sídlem ve Velké Británii vyrábí řadu náhradních produktů bílkovin a doplňků izoleucinu a valinu, které jsou určeny jak dětským tak i dospělým pacientům. Tyto výrobky lze zakoupit pouze na lékařský předpis. Bílkovinná náhražka pro děti od 12 měsíců věku do 10 let je distribuována ve formě prášku obsahujícího 8,4 g bílkovin, který se smíchá se studenou vodou a podává se jako nápoj nebo gel. Náhražka dále obsahuje všechny potřebné vitaminy, minerály a stopové prvky, stejně jako aminokyseliny, mimo aminokyselin s rozvětveným řetězcem, a je k dostání se speciální příchutí černého rybízu, pomeranče, citronu, maliny, nebo tropického ovoce. Přípravení takové náhradní výživy trvá méně než jednu minutu, přičemž by připravený pokrm měl být zkonsumován najednou, nebo po uchování v ledničce do 24 hodin [8, 27, 31, 32].

Někdy se jako součástí léčby využívá také hemodialýzy, hemofiltrace, k odstranění aminokyselin valinu, leucinu a izoleucinu z extracelulárního prostoru. Častou komplikací metabolické dekompenzace je edém mozku, který vyžaduje okamžitou léčbu a intenzivní péči [29, 31, 32]. Dospívající a dospělí pacienti běžně podléhají stavům úzkosti a depresím. V takovém případě mohou být podávána k léčbě klasické psychostimulanty a antidepresiva. Při klasické formě leucinózy bývá účinnou terapií i transplantace jater představující ovšem značné riziko pro pacienta. Zvláštní péče je věnována těhotným ženám s onemocněním javorového sirupu. Budoucím rodičkám musí být často monitorovány plazmatické koncentrace aminokyselin a růst plodu, aby se zabránilo riziku leucinové teratogenity a nedostatku esenciálních aminokyselin. Dietní opatření musí zahrnovat tolerované koncentrace leucinu, valinu a izoleucinu a udržovat stabilní plazmatické koncentrace těchto aminokyselin. Pacientkám jsou na každý den sestavovány přísné jídelníčky, které v kombinaci s častým a rychlým monitoringem aminokyselin umožňuje ambulantní léčbu mnohých katabolických poruch. Pokud nebyli novorozenci nemocných matek testováni již v prenatálním vývoji, musí být do 24 hodin věku dítěte provedena analýza plazmy na přítomnost aminokyselin [8, 27, 31, 32]. Pokroky v oblasti diety a metabolické dekompenzaci léčby výrazně snižují nemocnost, úmrtnost, a délku počáteční hospitalizace pro pacienty. Nejdůležitějšími faktory, které ovlivňují dlouhodobý výsledek, jsou věk v době diagnózy a

následné metabolické kontroly. Pacienti, u nichž byla léčba zahájena po 14 dnech života, jen velmi zřídka dosáhnou normálního intelektu, běžně trpí mozkovou obrnou a mentální retardací [27, 29, 31, 32].

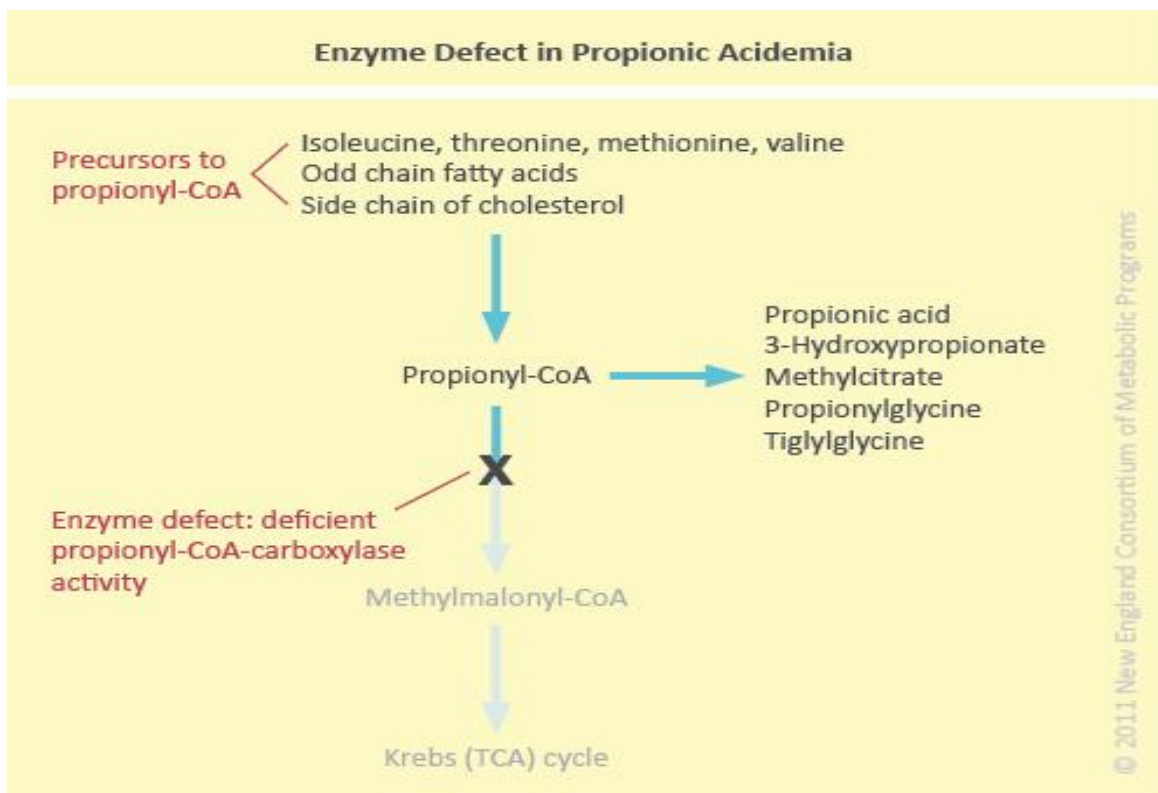
3.4 Propionová acidémie

Propionová acidémie je dědičné onemocnění, při kterém organismus není schopen správně zpracovat některé části proteinů a lipidů. Je klasifikována mezi poruchy organických kyselin vedoucí k abnormálnímu hromadění se určitých organických kyselin v krvi, moči a tkáních, které se tak stávají pro organismus toxické a mohou být původci vážných zdravotních problémů [9, 33, 34, 35].

V roce 1961 byla zveřejněna zpráva o dítěti s nedostatkem enzymu propionyl-CoA-karboxyláza. Onemocnění se projevovalo výrazným zvýšením koncentrace glycinu v plazmě a moči. Podle tohoto symptomu byla nemoc pojmenována jako hyperglycinemie, čímž došlo k nechtěnému zkreslení informací při objasňování onemocnění a správné biochemické projevy byly vědci poznány až později v roce 1969, kdy byla popsána základní vada při karboxylaci u pacientů postižených hyperglycinemií. Současně byla popsána i souvislost mezi metylmalonovou acidemií a hyperglycinemií. Výsledky těchto analýz vedly k závěru, že nemoc je způsobena nejméně dvěma různými onemocněními. V roce 1971 byla u původního pacienta prokázána dysfunkce enzymu propionyl-CoA-karboxylázy [9, 33, 34].

Propionová acidémie stejně jako leucinóza je řazena mezi autozomálně recesivní dědičné poruchy, kdy každý z rodičů, přestože ani jeden z nich nevykazuje příznaky a symptomy onemocnění, nese jednu kopii zmutovaného genu PCCA (propionyl-CoA karboxyláza, α -podjednotka) nebo PCCB (propionyl-CoA karboxyláza, β -podjednotka). Tyto geny obsahují informace pro syntézu dvou podjednotek, α a β , enzymu propionyl-CoA karboxyláza, jehož funkcí je katalýza při zpracování některých druhů aminokyselin, tuků a cholesterolu v těle. Apoenzym obsahuje 6 α a 6 β podjednotek, přičemž α podjednotka váže kofaktor enzymu biotin. Gen pro α podjednotku je uložen na 13. chromozomu, gen pro β podjednotku na 3. chromozomu. Mutace v genu PCCA nebo PCCB narušuje funkci enzymu a vede ke vzniku propionové acidémie, při které nedochází k normálnímu rozdělení štěpených molekul. Výsledkem je tvorba látky zvané propionyl-CoA a dalších potenciálně škodlivých sloučenin, které jsou pro lidský organismus toxické a mohou poškozovat mozek a nervový systém [33, 36, 37]. Zdroji propionyl-CoA v lidském organismu jsou především

produkty katabolizmu esenciálních aminokyselin izoleucinu, valinu, treoninu a metioninu. Dalšími zdroji pak mohou být mastné kyseliny s lichým počtem uhlíků v uhlíkatém řetězci a postranní řetězec cholesterolu, přestože do organismu přispívají jen velmi malým množstvím propionyl-CoA [9, 34]. Propionyl-CoA v těle vzniká přibližně z 50 % při katabolizmu bílkovin, z 25 % při β -oxidaci mastných kyselin s lichým počtem uhlíků a z dalších 25 % vzniká činností střevních bakterií. Při správné funkci enzym propionyl-CoAkarboxyláza přeměňuje za přítomnosti biotinu, ATP, hořečnatých kationtů a bikarbonátu propionyl-CoA na metylmalonyl-CoA, který je dále činností enzymu metylmalonyl-CoA-mutázy metabolizován na sukcinyl-CoA. Sukcinyl-CoA následně vstupuje do Krebsova cyklu nebo reaguje s glycinem za vzniku kyseliny aminolevulové [34, 35, 36, 37]. Pokud je ovšem funkce enzymu propionyl-CoA-karboxylázy poškozena, dochází k hromadění toxické kyseliny propionové a jejích derivátů v organismu a špatnému využití substrátu z energetického hlediska (viz Obr.č.7) [9, 33, 36, 37].



Obr. č.7: Schéma katabolizmu při onemocnění propionovou acidémií [37]

Hromaděním acyl-CoA uvnitř mitochondrií je snižováno množství volného CoA využitelného pro jiné reakce. Tento jev umožňuje přeměnu propionyl-CoA na propionylkarnitin. Propionylkarnitin je transportován ven z buňky a následně vyloučen močí. Mitochondriální CoA se uvolní, a může se znovu zúčastnit další reakce, nebo se opět zapojit do tvorby propionyl-CoA. Relativní reakční rychlosti těchto souběžných procesů udává v organismu buď vyvážený stav rovnováhy nebo těžké ketoacidózy. Klinické narušení rovnováhy může být proto způsobeno nedostatkem karnitinu [33, 34, 36, 37].

Klinickým příznakem onemocnění je mírně zvýšená koncentrace amoniaku v krvi (hyperamonémie), která může na pacienta působit neurotoxicky. Amoniak se v krvi hromadí nefunkčností enzymu *N*-acetylglutamátsyntázy, která je inhibována nepřítomností kyseliny propionové. *N*-acetylglutamát je alosterický aktivátor karbamoylfosfátsyntázy vstupující do močovinového cyklu. Jeho inhibicí dochází ke snížení tvorby moči a kumulaci volného amoniaku [9, 33, 36, 37]. Pozdější studie také prokázaly inhibici produkce leukocytů, erytrocytů a trombocytů kostní dřeně způsobenou přítomností volných organických kyselin v těle. Příčina zvýšené hladiny glycinu v séru zatím nebyla objasněna, přesto však byla vyloučena její škodlivost na organismus [34, 35, 37, 38].

Ve většině případů se vlastnosti propionové acidémie projeví během prvních dnů po narození. Onemocnění je provázeno příznaky zahrnujícími špatné krmení, zvracení, ztrátu chuti k jídlu, slabý svalový tonus (hypotonii), a nedostatek energie (letargii). Těžká ketoacidóza s hodnotami pH nižšími než 6,8 může vést k vážným zdravotním problémům, jako jsou srdeční abnormality, křeče, bezvědomí, oběhový šok, psychomotorická retardace, nenapravitelné poškození mozku či smrt [9, 33, 37]. Jak již bylo zmíněno, onemocnění doprovází snížená produkce leukocytů, způsobující u pacienta zvýšenou náchylnost k infekcím, které mohou skončit i smrtí. V některých případech se mohou příznaky onemocnění projevit a stejně tak i vymizet až v průběhu života, např. v dětství. U těchto pacientů bývá nemoc vyvolána dlouhodobým hladověním, horečkou nebo infekcí [34, 35, 36, 38].

Před potvrzením diagnózy propionové acidémie u pacienta musí být provedeno několik laboratorních testů. Nejprve je měřeno množství elektrolytů v séru. Špatně krmené a zvracející děti většinou vykazují abnormální množství elektrolytů, způsobené hromaděním volných organických kyselin, aniontů. Naměřená hodnota vyšší než $16 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ signalizuje propionovou acidémií. Ve výjimečných případech pacienti trpící tímto onemocněním nemusí mít zvýšené množství elektrolytů v plazmě [37, 38]. Dále se laboratorní testy zaměřují na množství krvinek a krevních destiček vzhledem k inhibici kostní dřeně kyselinou pro-

pionovou. V krvi je také analyzována hladina amoniaku, která bývá u nemocných mírně zvýšená. Dalším významným ukazatelem onemocnění je vyšetření moči a její pH. Onemocnění často provází velký nárůst koncentrace β -hydroxypropionové kyseliny v moči. Nízké pH moči zároveň potvrzuje podezření na propionovou acidémii [33, 39].

3.4.1 Léčba

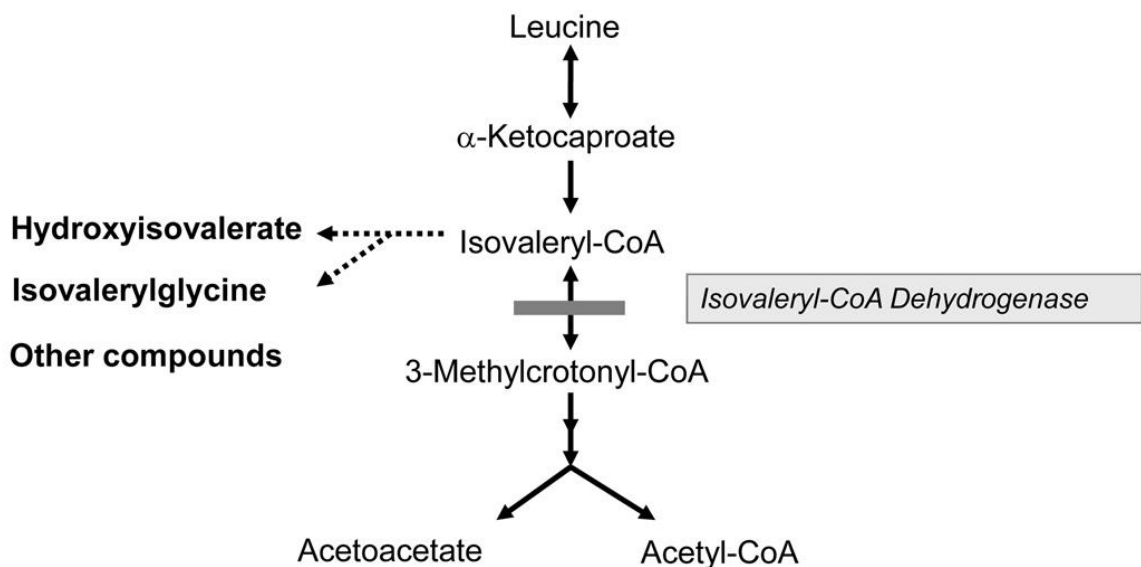
Základem úspěšné léčby je včasná diagnostika onemocnění, proto mnoho zemí včetně České republiky využívá novorozeneckého screeningu. Většina pacientů trpících propionovou acidémií má tak závažné příznaky, že jsou hospitalizováni v nemocnici, což usnadňuje zjištění příslušné diagnózy a následnou včasnou léčbu zahrnující zastavení přísunu všech potravin bohatých na bílkoviny, čímž se omezí množství hlavních metabolických prekurzorů propionové kyseliny, jako jsou valin, izoleucin, treonin a metionin. Léčba je tedy spojena s podáváním alternativních zdrojů kalorií, nejčastěji sacharidů v kombinaci s inzulínem. Pacient by měl dále přijímat zvýšené množství tekutin [35, 36, 40]. U těžkých forem propionových acidémií bývá podáván také metronidazol, který potlačuje růst střevních bakterií produkujících kyselinu propionovou. Jakmile je pacientův stav normalizován, jsou do jídelníčku opět zařazeny bílkoviny, přičemž jejich denní množství by nemělo překročit $1,5 \text{ g.kg}^{-1}$. Před propuštěním pacienta do domácí péče přechází nemocný do péče biochemické genetiky spolupracující s odborníky na výživu, kteří sestavují speciální dietní plán [37, 40]. Všechny čtyři aminokyseliny vedoucí ke vzniku propionátu jsou totiž řazeny mezi esenciální aminokyseliny a ve výživě člověka proto nesmějí být z jídelníčku zcela vyřazeny. Pacientům jsou proto pravidelně monitorovány hladiny izoleucinu, valinu, treoninu a metioninu v těle. Při onemocnění propionovou acidémií je některými úřady doporučován příjem 10 mg biotinu za den nebo zvýšený příjem karnitinu. Přestože tato doporučení mají biochemický smysl, jejich účinnost při léčbě propionové acidémie nebyla žádnými klinickými testy potvrzena [33, 35, 38, 40].

3.5 Izovalerová acidémie

Izovalerová acidémie je dalším typem organických acidurií způsobena vadou v metabolismu aminokyseliny leucin. První případ onemocnění izovalerovou acidémií byl popsán v roce 1966. Domněnka, že za onemocnění je zodpovědná nedostatečná aktivita enzymu izovaleryl-CoA-dehydrogenázy, byla potvrzena o několik let později [10, 41].

Jako u onemocnění popsaných výše i izovalerová acidémie je dědičné autozomálně recesivní onemocnění. Pacienti s příznaky onemocnění mají obvykle dvě kopie nebo mutace tohoto genu. Lidé pouze s jednou kopií genu, tzv. přenašeči, nevykazují příznaky nemoci, ale mohou tento gen přenést na své děti, tzn., pokud jsou oba rodiče přenašeči zmutovaného genu, mají 25% pravděpodobnost narození postiženého potomka. Enzym izovaleryl-CoA-dehydrogenáza je enzym lokalizovaný na vnitřní membráně matrix mitochondrií. Patří do skupiny oxidoreduktáz a jeho kofaktorem je FAD (flavinadenindinukleotid). Příslušný gen tohoto enzymu je lokalizován na chromozomu 15 [10, 41, 42, 43].

Izovalerová acidémie je řazena mezi vzácně se vyskytující onemocnění, projevující se nesprávnou funkcí specifického enzymu v katabolismu aminokyseliny leucin, které má za následek hromadění se organických kyselin v krvi, moči nebo tkáních (viz Obr. č. 8). Obdobně jako v předešlých případech i u tohoto onemocnění dochází k toxickému působení nahromaděných organických kyselin na organismus postiženého s následnými zdravotními poruchami. Příčinou izovalerové acidémie je mutace genu IVD obsahujícího informace pro výrobu enzymy se zásadní funkcí při odbourávání bílkovin ze stravy. Vlivem zmutované formy genu nepracuje enzym správně, tzn., neštěpí správně aminokyselinu leucin, což má za následek zvyšující se hladiny izovalerové kyseliny a jí příbuzných látek [42, 44].



Obr. č. 8: Schéma katabolismu leucinu při izovalerové acidémii [41]

Pokud není onemocnění léčeno, hromadí se izovalerová kyselina v krvi a negativně ovlivňuje mozek a nervový systém pacienta. V souvislosti s izovalerovou acidémií jsou rozlišo-

vány tři základní fenotypy: akutní neonatální forma, chronická intermitentní forma a potenciálně asymptomatická forma. Akutní neonatální forma se projevuje již během prvních 14 dnů života. Po narození bývá dítě bez jakýchkoli příznaků onemocnění, avšak později začíná dítě odmítat stravu, zvrací, bývá dehydrované a může ztrácet vědomí. Mezi další příznaky akutní formy patří křeče, zápach připomínající zpocené nohy, který je způsobený nahromaděním izovalerové kyseliny v těle pacientů, únava, v závažnějších případech pak lehká až středně těžká mentální retardace, kóma až smrt [10, 44]. U pacientů, kteří překonají akutní dekompenzaci v novorozeneckém období, je další průběh podobný průběhu u pacientů s chronickou intermitentní formou. Chronická intermitentní forma se často projevuje nespecifickými příznaky, jako jsou mentální nebo psychomotorická retardace, cholestáza, nebo odmítání stravy s vysokým obsahem bílkovin [41, 42]. K akutním dekompenzacím dochází během stavů souvisejících se zvýšeným katabolizmem aminokyselin, např. při infekci, dlouhodobém hladovění nebo zvýšeném příjmu bílkovin. Typickými symptomy v takovýchto stavech jsou únava, nechutenství, zvracení, dehydratace nebo křeče. Děti trpící touto formou acidémie normálně rostou, ale špatně přibírají hmotnost a mívali opožděný vývoj. Třetí skupina je tvořena pacienty potenciálně asymptomatickými, kteří byli diagnostikováni na základě novorozeneckého screeningu. Tito pacienti vykazují tzv. mírný biochemický fenotyp, kdy většina má konkrétní mutaci na IVD genu v homozygotním stavu nebo jsou pro tuto mutaci heterozygoty a mají jinou mutaci na IVD genu. U žádného z těchto pacientů se dosud nerozvinuly klinické symptomy [41, 42, 43, 44].

Ke zvyšování hladiny izovalerové kyseliny může docházet buď konzumací velkého množství bílkovin, nebo nemocí, kdy tělo uvolní přebytečné bílkoviny a následně dojde ke zvýšení koncentrace izovalerové kyseliny [10, 41].

Izovalerová acidémie může být u novorozenců zjištěna tandemovou hmotnostní spektrometrií ze suché kapky využívané při novorozeneckém screeningu. Nález zvýšeného množství pětiuhlíkatých sloučenin acylkarnitinu naznačuje sníženou funkci enzymu izovaleryl-CoA-dehydrogenázy, nebo 2-metylbutyryl-CoA-dehydrogenázy. Tato onemocnění lze od sebe odlišit na základě dalších testů, např. vyšetření moči na přítomnost organických kyselin. Častým výsledkem analýzy moči pacienta s izovalerovou acidémií je zvýšená koncentrace izovalerylglycinu se sníženým množstvím kyseliny 3-hydroxyizovalerové. Naproti tomu pacientům s deficitem enzymu 2-metylbutyryl-CoA-dehydrogenázy bývá v moči stanovena vysoká hladina 2-metylbutyrylglycinu [41, 44]. Pro prenatální diagnostiku bývá

využívána metoda měření koncentrace izovalerylglycinu v plodové vodě matky a metoda měření enzymové aktivity izovaleryl-CoA-dehydrogenázy v choriových klcích, fibroblastech nebo leukocytech. Dostupná je i prenatální diagnostika, kdy se buď ve druhém trimestru těhotenství vyšetřují metabolity v plodové vodě, nebo v případě známé specifické mutace u obou rodičů může být v prvním a druhém trimestru těhotenství využita molekulárně genetická metoda [10, 42, 44].

3.5.1 Léčba

Včasnou léčbou pacientů s izovalerovou acidémií lze předejít závažným účinkům kyseliny izovalerové na lidský organizmus. Léčba pacientů zahrnuje především snížení příjmu bílkovin, zejména větvené aminokyseliny leucinu. Dále se podává glukóza, glycina karnitin. Podmínkou úspěšné léčby je sledování následujících kritérií u pacienta: hydratace, korekce biochemických abnormalit, utlumení katabolizmu a propagace anabolizmu, odstranění toxických prvků, léčba případných infekcí a jiných nebezpečných onemocnění, popř. zvažování hemodialýzy [10, 44].

U pacienta by měl být zajištěn dostatečný přísun tekutin s vyšší koncentrací glukózy, čímž zároveň dochází k útlumu katabolizmu tím, že tělo obsahuje vyšší hladinu glukózy než by byla schopná produkovat játra. Obdobný účinek na katabolizmus má i podávání lipidů nebo kalorií, kompenzujících energetickou potřebu organismu, kterému bylo sníženo množství energie vyřazením bílkovin z jídelníčku. V teoriích možné léčby bývá zmiňováno i podávání inzulínu, hormonu podporující syntézu proteinů a lipidů. Účinek inzulínu při léčbě organických acidémií však zatím nebyl podložen žádnou studií [41, 42, 44].

Pro odstranění toxických prvků z těla je používán karnitin, glycin nebo hemodialýza. Glycin zabraňuje hromadění se toxických acyl-CoA v těle pacienta, nízká koncentrace volného karnitinu v organismu zase umožňuje reakci s organickými kyselinami za vzniku esterů. Metoda hemodialýzy bývá využívána v případech nezvladatelných metabolických acidóz a hypertonií, kómatu, nebo závažné poruchy rovnováhy elektrolytů [41, 42].

Nejvýznamnější částí léčby je sestavení jídelníčku podle potřeb pacienta, čímž lze potlačit mnohé příznaky onemocnění a následné závažné zdravotní poruchy. Jídelníček musí být sestaven odborníkem na výživu a musí obsahovat potraviny s nízkým obsahem bílkovin. I přes vážnost onemocnění se v jídelníčku v malém množství vyskytují proteiny potřebné pro růst a správný vývoj dítěte. Během dětství a dospívání se požadavky na množství pro-

teinů ve stravě individuálně liší a proto by pacientům měl být jídelníček pravidelně upravován [10, 41].

Aminokyselina glycin je podávána pro svou schopnost vázat se s kyselinou izovalerovou za vzniku méně škodlivé sloučeniny izovalerylglycinu, který se vylučuje močí. Obdobně tvoří s kyselinou izovalerovou méně škodlivé sloučeniny karnitin, který se navíc významně podílí na tvorbě energie svalů. Včasnou diagnostikou a podržováním přísné diety lze dosáhnout normálního vývoje dětí s acidemií. Nicméně většina dětí trpí akutní formou tohoto onemocnění a projevují se u nich neurologické abnormality [10, 42, 44].

3.6 Metylmalonová acidémie

Metylmalonová acidémie zahrnuje heterogenní skupinu dědičných autozomálně recesivních onemocnění se společným znakem kumulace kyseliny metyilmalonové a jejich vedlejších produktů v tělních tekutinách. Pacienti postižení metyilmalonovou acidémií nebo acidurií trpí obvykle nedostatkem enzymu metyilmalonyl-CoA-mutáza [11, 45]. Nesprávná činnost tohoto enzymu může mít původ ve špatné syntéze nebo transportu adenozylkobalaminu, kofaktoru tohoto enzymu. Nedostatkem kobalaminu obecně trpí vegetariáni. U dětí s poruchami metabolismu kobalaminu se často setkáváme také s homocystinurií. Kromě klasické formy onemocnění projevující se již od narození dítěte existuje i forma přechodná zjištěná u jinak zdravých dětí [11, 35, 36, 45].

Adenozylkobalamin-dependentní metyilmalonyl-CoA-mutáza je enzym, který katalyzuje izomeraci metyilmalonyl-CoA na sukcinyl-CoA. Metylmalonyl-CoA je odvozen od propionyl-CoA působením enzymu propionyl-CoA-karboxylázy. Jedná se o ten samý enzym, který je zodpovědný za onemocnění propionovou acidémií [35, 45, 46]. Propionyl-CoA vzniká prostřednictvím katabolizmu aminokyselin izoleucinu, valinu, treoninu, metioninu, dusíkatých bází tyminu a uracilu, dále cholesterolu nebo specifických mastných kyselin. Značné množství propionyl-CoA mohou produkovat bakterie střevní mikroflóry. Metylmalonyl-CoA-mutáza představuje dimer identických podjednotek, na které je pevně vázán adenozylkobalamin [11, 36, 46, 47].

Novorozenci ve věku do 14 dnů života s metyilmalonovou acidémií se projevují příznaky, jako jsou např. špatné krmení, zvracení, letargie nebo svalová hypotonie. Starší děti pak mohou vykazovat navíc záchvaty, hypoglykémii, myopatii, necitelnost nohou, poruchy

vidění nebo ledvin. Jako v předchozích případech, i zde se jedná o hromadění pro lidský organizmus toxických látek, které mohou nevratně poškozovat mozek a nervovou soustavu [11, 45, 46, 47].

Při podezření na metylmalonovou acidémii jsou pacientovi odebrány vzorky moči a krve, u nichž je následně provedena analýza. Pomocí GC-MS se v moči stanovuje množství metylmalonové kyseliny, metylcitrátu a kyseliny propionové. Měřením aminokyselin přítomných v plazmě se obvykle určí zvýšená hladina glycinu, dále snížené množství celkového i volného karnitinu. V krevní plazmě jsou dále stanovovány koncentrace homocysteinu, kobalaminu, kapilárních krevních plynů, amoniaku, glukózy, laktátu, elektrolytů, močoviny, kyseliny močové a kreatinu [11, 47].

3.6.1 Léčba

Kojenci a děti s metylmalonovou acidémií mají zvýšené riziko metabolické dekompenzace zejména během zvýšené činnosti katabolizmu, jako např. při infekci, traumatu, chirurgických zákrocích a stresu. V takovýchto stavech pacienta je nutná včasná léčba limitující katabolizmus a podporující anabolizmus. Obvykle jsou ze stravy nemocných vypuštěny bílkoviny po dobu kratší než 24 hodin, během které je pacientovi intravenózně podáváno velké množství tekutin a glukózy. Pokud pacient při hospitalizací současně trpí i dalším onemocněním, např. infekcí, musí být současně léčen i na toto onemocnění. Léčba metylmalonová acidémie může zahrnovat i zvýšený příjem karnitinu. Pokud i nadále acidóza přetrvává, příp. se objevuje hyperamonemie, bývá volena metoda hemodialýzy. Známý jsou i případy transplantací jater nebo ledvin u dětí s metylmalonovou acidémií. Tito pacienti však i nadále trpí onemocněním, u některých z nich došlo navíc k poruchám hybnosti [35, 45, 47].

Obdobně jako u předchozích metabolických acidóz je i pro léčbu metylmalonové acidémie klíčovým opatřením dodržování přísné diety sestavené na míru dietním specialistou. Množství přijímaných bílkovin v potravě je omezeno pouze na minimální množství uspokojující potřeby pro růst. V době diagnózy a metabolických dekompenzací se pro intoxikaci mitochondrií využívá účinku karnitinu. Aktivita enzymu metylmalonyl-CoA-mutázy se výrazně zlepšuje při podávání kobalaminu. V případě, že má pacient i zvýšenou hladinu homocysteinu, bývá užívána kyselina listová. Dietní plán musí být pravidelně odborně obměňován tak, aby vyhovoval růstovým a vývojovým požadavkům pacienta v daném

věku. Nezbytností úspěšné léčby jsou i pravidelné kontroly dětí s metylmalonovou acidémií u lékaře [45, 47].

3.7 Nízkobílkovinná dieta

Bílkoviny představují jednu ze základních živin nezbytných pro život, které se především podílejí na růstu a vývoji dětí. Člověk za normálních okolností přijímá potřebné množství bílkovin stravou. V případě vážného onemocnění, kdy příjem bílkovin zhoršuje zdravotní stav pacienta, se využívá nízkobílkovinné diety [48, 49].

Tato dieta omezuje příjem přirozených bílkovin stravou a dodává potřebnou dávku bílkovin formou dietního preparátu, který se stává nedílnou součástí každé nízkobílkovinné diety. Velká pozornost a pečlivost je důležitá při počítání množství bílkovin ve stravě. Pokud by došlo k matematické chybě, mohlo by dojít k vyššímu dennímu příjmu bílkovin, než bylo stanovené optimální množství a tak k ohrožení zdraví pacienta, který je povinen každý den pomocí tabulkových výpočtů a přesného vážení potravin kontrolovat zkonsumované množství bílkovin. Denní příjem bílkovin by měl být rovnoměrně rozdělen do celého dne, přičemž nejbohatší na bílkoviny by měl být oběd, potom snídaně s večeří a nakonec dopolední svačina, odpolední svačina a druhá večeře. Povolena odchylka od stanoveného množství bílkovin je maximálně 0,5 g bílkovin denně [49, 50].

S tím souvisí i správný výběr potravin, tzn. používání potravin s nízkým obsahem bílkovin, omezení konzumace potravin s vyšším obsahem bílkovin a úplné vyloučení potravin bohatých na bílkoviny. Jakékoli nedodržení stravovacího plánu je nevhodné a do jisté míry ohrožuje pacientovo zdraví. Správného účinku diety lze tedy dosáhnout kombinací vhodných potravin, dodržováním denního povoleného množství bílkovin, přesným vážením všech zkonsumovaných potravin a dodáváním dietního preparátu rozděleného alespoň do tří dávek. Nezbytnou součástí jídelníčku je i vysoký příjem tekutin [48, 49, 50].

Podle obsahu bílkovin a vhodnosti konzumace jsou potraviny děleny do tří kategorií, a to na potraviny povolené bez omezení, potraviny s částečným omezením a nevhodné potraviny. Do skupiny potravin povolených bez omezení jsou řazeny ovoce, zelenina, ovocné přesnídávky a zmrzliny, džemy, marmelády, med, cukr, olej, margaríny, vaječná náhražka (Reva), nízkobílkovinné mouky (Finax, Apromix, Vitaprotam), nízkobílkovinná strouhanka, krupice, těstoviny, pečivo, mléko (Loprofin) a další nízkobílkovinné výrobky. Mezi potraviny s částečným omezením patří např. malé množství smetanových jogurtů, tvarohů,

polotučného mléka, másla, smetany, pudinků, smetanových zmrzlin, čokolády, oplatků a sušenek. Dále do této skupiny patří: vejce jako součást pokrmu, mouka, rýže, těstoviny, brambory a bílé pečivo. Poslední skupinu tvoří potraviny nevhodné. Pacienti by tedy měli z jídelníčku vyloučit všechny druhy masa, vnitřnosti, salámy, uzeniny, jakékoli masné a rybí výrobky, sýry, nízkotučné mléčné výrobky, vejce jako samostatný pokrm a všechny druhy luštěnin [50, 51].

ZÁVĚR

Esenciální aminokyseliny s rozvětveným řetězcem není lidský organismus schopen syntetizovat a musí být proto do těla dodávány potravou, např. rybím masem, vaječnou nebo mléčnou bílkovinou. Přijaté aminokyseliny s rozvětveným řetězcem přechází do kosterního svalstva, kde začíná jejich katabolizmus. První tři reakce katabolizmu, transaminace, oxidační dekarboxylace, dehydrogenace, probíhají u všech tří aminokyselin, další průběh katabolizmu je pro jednotlivé aminokyseliny specifický, přičemž významnou roli při tvorbě produktů představuje ketogenita nebo glukogenita příslušné aminokyseliny. Případy, kdy organismus není schopen správně odbourávat některou z těchto aminokyselin, představují pro člověka velmi vážné a nevratné poškození zdraví, které, pokud není včas diagnostikováno a léčeno, končí smrtí většinou již během prvního týdne života. Taková onemocnění jsou označována jako organické acidémie, případně acidurie, které se vyznačují vrozenou nedostatečnou, nebo úplnou dysfunkcí některého ze specifických enzymů katabolizmu, hromaděním se kyselin v organismu, vyšetřením pomocí novorozeneckého screeningu a neléčitelností, přestože vhodná nízkobílkovinná dieta může potlačit projevy onemocnění.

Nejčastější formou onemocnění bývá leucinóza neboli choroba javorového sirupu. Tato porucha je způsobena nedostatečnou funkcí enzymového komplexu α -ketodehydrogenázy. Typickým příznakem onemocnění je zápach moči po javorovém sirupu a přítomnost leucinu v moči a séru.

Propionová acidémie se projevuje zvýšenou koncentrací glycinu v krevní plazmě a moči. V tomto případě nefunkčnost vykazuje enzym propionyl-CoA-karboxyláza.

Izovalerová acidémie je způsobena vadou v metabolismu aminokyseliny leucin, konkrétně mutací genu IVD obsahujícího informace pro výrobu enzymů se zásadní funkcí při odbourávání bílkovin ze stravy. Obdobně jako u ostatních poruch při odbourávání rozvětvených mastných kyselin i u metylmalonové acidémie dochází k hromaděním organických kyselin v krvi, moči nebo tkáních.

Nedostatkem enzymu metylmalonyl-CoA-mutázy lze charakterizovat metylmalonovou acidémií. Jejím následkem je kumulace kyseliny metylmalonové a jejich vedlejších produktů v tělních tekutinách.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D. *Potravinářská biochemie I.* Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2008, 163 s., ISBN 978-80-7318-295-3
- [2] HOLEČEK, M. *Regulace metabolismu cukrů, tuků, bílkovin a aminokyselin.* Praha: Grada Publishing, spol. s.r.o., 2006, 286 s., ISBN 80-247-1562-7
- [3] TEPLAN, V. a kol. *Metabolismus a ledviny.* Praha: Grada Publishing, spol. s.r.o., 2000, 412 s., ISBN 80-7169-731-1
- [4] MIŠURCOVÁ, L. *Základy biologie.* Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2006, 160 s., ISBN 8073184346
- [5] ANONYM. *BCAA*[online]. [cit. 2010-11-26]. Dostupné na [www: <http://www.celostnimediceina.cz/bcaa.htm>](http://www.celostnimediceina.cz/bcaa.htm)
- [6] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D. *Potravinářská biochemie III.* Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2008, 169 s., ISBN 978-80-7318-396-7
- [7] LEDVINA, M., STOKLASOVÁ, A., CERMAN, J. *Biochemie pro studující medicíny.* Hradec Králové: Gaudeamus, 1998, 269 s., ISBN 80-7041-962-8
- [8] MORTON, D. H., STRAUSS, A. K., ROBINSON, D., PUFFENBERGER, E., KELLEY, R. Diagnosis and treatment of maple syrup disease: a study of 36 patients. *Pediatrics*, 2002, 109, 6, s. 999 – 1008
- [9] FELIZ, B., WITT, D., HARRIS, B. Propionic acidemia: a neuropathology case report and review of prior cases. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 2003, 127, 8, s. 325 – 328
- [10] ANONYM. *Isovaleric acidemia* [online]. [cit. 2011-2-26]. Dostupné na [www: <http://ghr.nlm.nih.gov/condition=isovalericacidemia>](http://ghr.nlm.nih.gov/condition=isovalericacidemia)
- [11] BODAMER, O. *Genetics of methylmalonic acidemia* [online]. [cit. 2011-3-10]. Dostupné na [www: <http://emedicine.medscape.com/article/947154-overview>](http://emedicine.medscape.com/article/947154-overview)
- [12] HABERMANN, V. *Lékařská chemie.* Praha: Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum, 2006, 224 s., ISBN 978-80-246-0789-4
- [13] MURRAY, R. *Harperova biochemie.* 4. vyd. Jinočany: Nakladatelství H+H, 2002, 872 s., ISBN 80-7319-013-3
- [14] STRYER, L. *Biochemistry.* 3rd ed. New York: W.H. Freeman and company, 1988. ISBN 0-7167-1920-7

- [15] KARLSON, P., GEROK, W., GROSS, W. *Pathobiochemie*. Praha: Academia, 1987, 480 s., ISBN 21-041-87
- [16] ANONYM. *Organické acidurie* [online]. [cit. 2011-2-20]. Dostupné na www: <<http://www.nspku.cz/nemoci/organicke-acidurie.html>>
- [17] OGIEL DE BAULNY, H., SAUDUBRAY, J. M. Branched- chain organic acidurias. *Seminars in fetal and neonatal medicine*, 2002, 7,1, s. 65 – 74
- [18] KNERR, I., WEINHOLD, N., VOCKLEY, J., GIBSON, K. M. Advances and challenges in the treatment of branched- chain amino/ keto acid metabolic defects. *Journal of inherited metabolic disease*, 2011, 3
- [19] KLENER, P. *Vnitřní lékařství*. 3. vyd. Praha: Vydavatelství Galén, 2006, 1158 s. ISBN 807262430
- [20] OZAND, P. T., GASCON, G. G. Organic acidurias: a review. *Journal of child neurology*, 1991, 6, 3, s. 196- 219
- [21] PAGON, R. A., DOLAN, C. R., STEPHENS, K. The organic acidemias: an overview. *GeneReviews*, 1993, 27
- [22] BRYŠOVÁ, V. a kol. *Základy klinické genetiky pro studující 4. ročníku lékařské fakulty* Brno: Masarykova univerzita, 1995, 90 s., ISBN 80-210-1150-5
- [23] SPERL, W. Diagnosis and therapy of organic acidurias. *Pediatric Pathology*, 1993, 28, 1, s. 3 – 8
- [24] ANONYM. *Novorozenecký screening* [online]. [cit. 2011-2-2]. Dostupné na www: <<http://www.novorozeneckyscreening.cz>>
- [25] ANONYM. *Screening* [online]. [cit. 2011-3-8]. Dostupné na www: <<http://www.labtestsonline.cy/screening>>
- [26] ANONYM. *Screening* [online]. [cit. 2011-2-20]. Dostupné na www: <<http://www.nspku.cz/nemoci/Screening/screening.html>>
- [27] FREY, R. *Maple syrup urine disease* [online]. [cit. 2011-3-4]. Dostupné na www: <<http://www.diet.com/g/maple-syrup-urine-disease>>
- [28] CHUANG, D. T. Maple syrup urine disease: it has come a long way. *The Journal of Pediatrics*, 1998, 132,3, s. 17 – 23
- [29] ANONYM. *Maple syrup urine disease* [online]. [cit. 2011-3-4]. Dostupné na www: <<http://learn.genetics.utah.edu/content/disorders/whataregd/msud>>

- [30] NEYLOR, E. W., GUTHRIE, R. Newborn screening for maple syrup urine disease, *Pediatrics*, 1978, 61, 2, s. 262 – 266
- [31] STRAUSS, K., WARDLEY, B., ROBINSON, D., RIDER, N. Classical maple syrup urine disease and brain development: Principles of management and formula design. *Molecular genetics and metabolism*, 2010, 99, 4, s. 333 – 345
- [32] MENKES, J. H. Treatment of maple syrup disease. *Pediatrics*, 1959, 23, 4, s. 815
- [33] HRUBÁ, E. *Vybrané kapitoly z biochemické genetiky: Propionová acidémie*. Praha: Ústav dědičných metabolických poruch a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, 2008
- [34] ROTH, K. *Genetics of propionic academia (propionyl CoA carboxylase deficiency)* [online]. [cit. 2011-2-26] Dostupné na [www: <http://emedicine.medscape.com/article/948084-overview>](http://www.emedicine.medscape.com/article/948084-overview)
- [35] FENTON, W., GRAVEL, R., ROSENBLATT, D. *Disorders of propionate and methylmalonate metabolism*. New York: The McGraw-Hill companies, 2005, ISBN 0071459960
- [36] DEODATO, F., BOENZI, S., SANTORELLI, F., DIONISI-VICI, C. Methylmalonic and propionic aciduria. *American Journal of Medical Genetics. Part C, Seminars in Medical Genetics*, 2006, 142, 2, s. 104 – 112
- [37] ANONYM. *Propionic acidemia* [online]. [cit. 2011-3-5]. Dostupné na [www: <http://newenglandconsortium.org/for-professionals/acute-illness-protocols/organic-acid-disorders/propionic-acidemia>](http://newenglandconsortium.org/for-professionals/acute-illness-protocols/organic-acid-disorders/propionic-acidemia)
- [38] FILIPOWICZ, H., ERNST, S., ASHURST, C., PASQUALI, M., LONGO, N. Metabolic changes associated with hyperammonemia in patients with propionic academia. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2006, 88, 2, s. 123 – 130
- [39] ROTH, K. *Differential diagnoses* [online]. [cit. 2011-2-26] Dostupné na [www: <http://emedicine.medscape.com/article/948084-diagnosis>](http://www.emedicine.medscape.com/article/948084-diagnosis)
- [40] ROTH, K. *Treatment and medication: Genetics of propionic acidemia* [online]. [cit. 2011-2-26] Dostupné na [www: <http://emedicine.medscape.com/article/948084-treatment>](http://www.emedicine.medscape.com/article/948084-treatment)
- [41] ANONYM. *Isovaleric acidemia* [online]. [cit. 2011-3-5]. Dostupné na [www: <http://newenglandconsortium.org/for-professionals/acute-illness-protocols/organic-acid-disorders/isovaleric-acidemia>](http://newenglandconsortium.org/for-professionals/acute-illness-protocols/organic-acid-disorders/isovaleric-acidemia)

- [42] KOŠŤÁLOVÁ, E., CHRASTINA, P. *Vybrané kapitoly z biochemické genetiky: Isovalerová acidémie*. Praha: Ústav dědičných metabolických poruch a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, 2008, Projekt Metabolické vzdělávací centrum CZ.04.3.07/3.2.01.2/2048
- [43] VOCKLEY, J., ENSENAUER, R. Isovaleric academia: new aspect of genetic and phenotypic heterogeneity. *American Journal of Medical Genetics. Part C, Seminars in Medical Genetics*, 2006, 15, 2, s. 95 – 103
- [44] ELSAS, L., NAGLAK, M. Acute and chronic-intermittent isovaleric academia: diagnosis and glycine therapy. *Acta Paediatrica Japon*, 1988, 30, s. 442 – 451
- [45] ANONYM. *Methylmalonic acidemia* [online]. [cit. 2011-3-5]. Dostupné na [www: <http://newenglandconsortium.org/for-professionals/acute-illness-protocols/organic-acid-disorders/methylmalonic-acidemia>](http://newenglandconsortium.org/for-professionals/acute-illness-protocols/organic-acid-disorders/methylmalonic-acidemia)
- [46] CHANDLER, R., VENDITTI, C. Genetic and genomic systems to study methylmalonic acidemia. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2005, 86, 1 – 2, s. 34 – 43
- [47] BODAMER, O. *Genetics of methylmalonic acidemia* [online]. [cit. 2011-3-2]. Dostupné na [www: <http://emedicine.medscape.com/article/947154>](http://emedicine.medscape.com/article/947154)
- [48] KAHLER, S., MILLINGTON, D., CEDERBAUM, S., VARGAS, J., BOND, L., MALTBY, D., GALE, D., ROL, C. Parenteral nutrition in propionic and methylmalonic acidemia. *The Journal of Pediatrics*, 1989, 115, 2, s. 235 – 241
- [49] ANONYM. *Potraviný a dieta* [online]. [cit. 2011-2-20]. Dostupné na [www: <http://www.nspku.cz/potravinz/potraviný.html>](http://www.nspku.cz/potravinz/potraviný.html)
- [50] SVAČINA, Š. a kol. *Klinická dietologie*. Praha: Grada Publishing a. s., 2008, 384 s., ISBN 978-80-247-2256-6
- [51] PATEROVÁ, T., ŠŤASTNÁ, S. *Vybrané kapitoly z biochemické genetiky: Nízkobílkovinná dieta*. Praha: Ústav dědičných metabolických poruch a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, 2008, Projekt Metabolické vzdělávací centrum CZ.04.3.07/3.2.01.2/2048

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ADP	Adenozindifosfát
AGS	Adrenogenitální syndrom
AK	Aminokyseliny
ALA	Alanin
ARG	Arginin
ASN	Asparagin
ASP	Asparagová kyselina
ATP	Adenozintrifosfát
BCAA	Branched chain amino acid – aminokyseliny s rozvětveným řetězcem
BCKA	Branched chain keto acid – ketokyseliny s rozvětveným řetězcem
CACT	Deficit karnitinacylkarnitintranslokázy
CAH	Kongenitální adrenální hyperplazie
CF	Cystická fibróza
CH	Kongenitální hypotyreóza
CoA	Koenzym A
CPT I	Deficit karnitinpalmitoyltransferázy I
CPT II	Deficit karnitinpalmitoyltransferázy II
FAD	Flavinadenindinukleotid
FNKV	Fakultní nemocnice Královské Vinohrady
FN	Fakultní nemocnice
GA I	Glutarová acidémie typu I
GC-MS	Plynová chromatografie-hmotnostní spektrometrie
GLN	Glutamin
GLU	Kyselina glutamová

GLY	Glycin
HIS	Histidin
HMG-CoA	β -hydroxy- β -metylglutaryl-CoA
HPA	Hyperfenylalaninanemie
ILE	Izoleucin
IVA	Isovaleric acidemia – izovalerová acidémie
KIC	Kyselina α -ketoizokapronová
KIV	Kyselina α -ketoizovalerová
KMV	Kyselina α -keto- β -methylvalerová
LCAD	Deficit 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin
LEU	Leucin
LYZ	Lyzin
MCAD	Deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin
MET	Metionin
MMA	Methylmalonic acidemia – metylmalonová acidémie
MS-MS	Tandemová hmotnostní spektrometrie
MSUD	Maple syrup urine dinase – choroba javorového sirupu
NAD ⁺	Nikotinamidadenindinukleotid
PA	Propionic acidemia – propionová acidémie
PCCA	Propionyl-CoA karboxyláza, α -podjednotka
PCCB	Propionyl-CoA karboxyláza, β -podjednotka
PHE	Fenylalanin
PKU	Phenylketonuria – fenylketonurie
PRO	Prolin
SER	Serin
TRE	Treonin

TRP	Tryptofan
TYR	Tyrosin
VAL	Valin
VFN	Všeobecná fakultní nemocnice
VLCAD	Deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. č. 1: Vzorec aminokyseliny valinu.....	15
Obr. č. 2: Vzorec aminokyseliny leucinu.....	16
Obr. č. 3: Vzorec aminokyseliny izoleucinu.....	17
Obr. č. 4: Odbourávání aminokyselin s rozvětveným řetězcem.....	22
Obr. č. 5: Možné kombinace při přenášení recesivního genu na potomka dvou recesivních rodičů.....	27
Obr. č. 6 Katabolizmus aminokyselin u osob trpících MSUD.....	33
Obr. č. 7: Schéma katabolizmu při onemocnění propionovou acidémií.....	37
Obr. č. 8: Schéma katabolizmu leucinu při izovalerové acidémii.....	40

