

## Hiperammonémiák

Felnőtt emberi szervezetben átlagos fehérjefogyasztás mellett naponta 20 g ammónia keletkezik az aminosavak lebontása során. Ennek eliminációja a szervezetből főleg urea formájában történik (90 %-ban) és csak 5 %-a kerül ki szabad formában a vizeletbe (a vizeletben kismennyiségű N-ürítés még kreatinin, húgysav, szabad aminosav formájában is történik). Az ornitin ciklus, amely szintetizálja az ureát, fiziológiás körülmények között 10-20  $\mu\text{M}$  szinten képes tartani az ammónia koncentrációt a szisztémás keringésben. Ennek jelentősége abból adódik, hogy 50  $\mu\text{M}$  fölötti plazma koncentrációnál az ammónia toxikus a központi idegrendszerben. Mivel az ornitin ciklus teljes enzimmérete csak a májban található, ilyen hiperammonémia hátterében az orvosi gyakorlatban legtöbbször májbetegség áll, de a máj sokféle biokémiai funkciója miatt ez a tünet egy komplex metabolikus zavar részjelensége, amellyel a biokémiai tanulmányok későbbi stádiumában tudunk foglalkozni. Jelen konzultáció során a hiperammonémia izolált formáira szorítkozunk, amelyek hátterében az ornitin ciklus ritka enzimdefektusai állnak. A konzultáció után a hallgatónak képes kell lenni:

- 1) Az ornitin ciklus szubsztrátforrásainak értelmezésére
- 2) Az ornitin ciklus fiziológiásan releváns szabályozási mechanizmusainak értelmezésére
- 3) A hiperammonémia súlyosságának és specifikus tünetek értékelésére eltérő enzimdefektusok esetén
- 4) Az ammónia toxikus hatásainak értelmezésére
- 5) A hiperammonémia esetén alkalmazott kezelés metabolikus alapjainak megértésére.

### **Támpontok az egyes célkitűzések tárgyalásához**

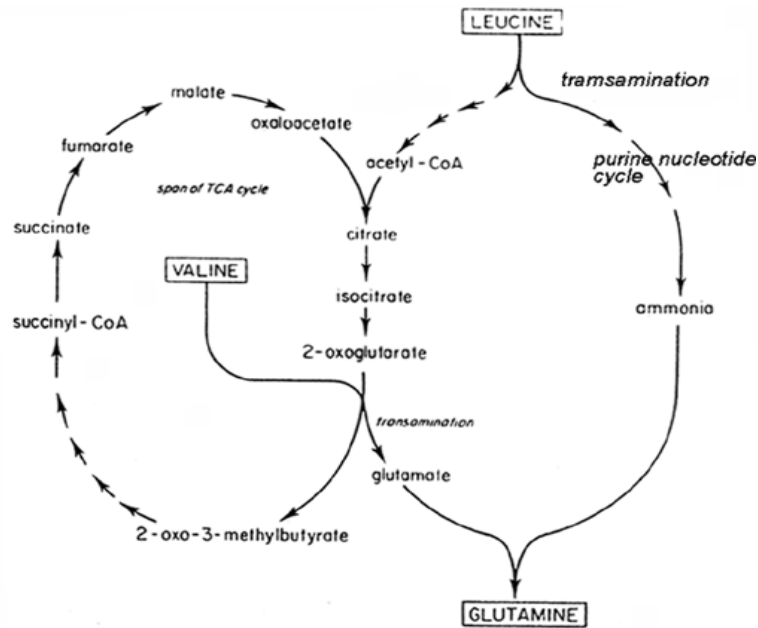
#### **Ad 1)**

Orvosi szempontból az ornitin ciklusban felhasznált ammónia forrásainak ismerete lényeges, mert ezek befolyásolása a hiperammonémia kezelésének egyik eszköze lehet. Ezek az alábbiak szerint alakulnak:

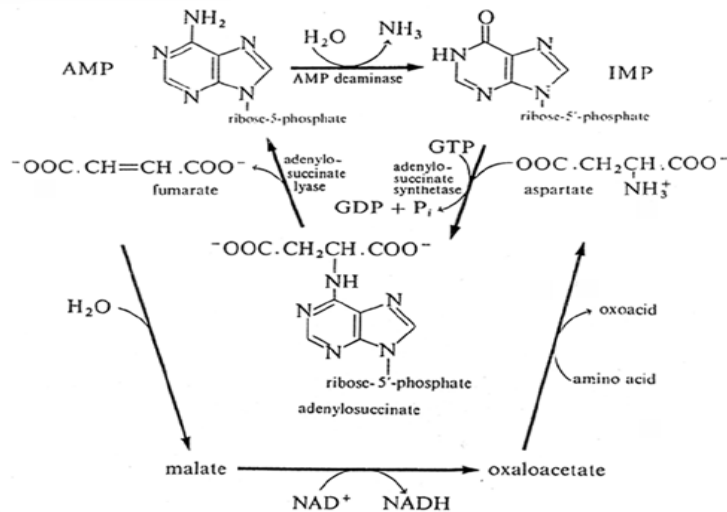
- 35 % szabad ammónia a portális keringésből (ezen belül 25 % a bélbe kerülő és a bélflóra baktériumai által lebontott urea eredetű)
- 10 % portális glutaminból származó ammónia
- 20 % glutamát eredetű (mitokondriális glutamát dehidrogenáz által a májban keletkező, a transzaminálás során egyéb aminosavakról  $\alpha$ -ketoglutarátra kerülő aminocsoportokból)
- 35 % szisztémás keringés eredetű glutaminból vagy egyéb aminosavak májban történő transzaminálástól független lebontásából (aszparagin, treonin, glicin, szerin, hisztidin, metionin, purin nukleotid ciklusban indirekt módon aszpartát).

A bélben a semleges  $\text{NH}_3$  szívódik fel, de a pozitív töltésű  $\text{NH}_4^+$  már nem, tehát a pH csökkentésével az ammónia felszívódás korlátozható.

A szisztémás vérben keringő aminosavak 25 %-a glutamin. Ennek főforrása a vázizom és e túlsúly hátterében az izom aminosav-anyagcseréjének jellegzetességei állnak. Ezek értelmezéséhez az alábbi két ábra nyújt segítséget.



Elágazódó szénláncú aminosavak lebontása és glutamin szintézis a vázizomban.



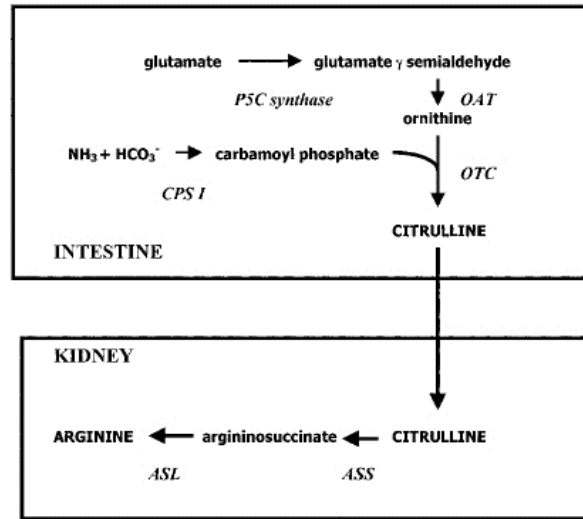
Purin nukleotid ciklus mint ammónia forrás a glutamin szintézishez az izomban

## Ad 2)

Az ornitin ciklus sebesség-meghatározó lépése a karbamil-foszfát szintetáz I (CPSI) által katalizált reakció. A szabályozás biológiai relevanciáját a két szubsztrát (ammónia és bikarbonát) szerepével értelmezhető.

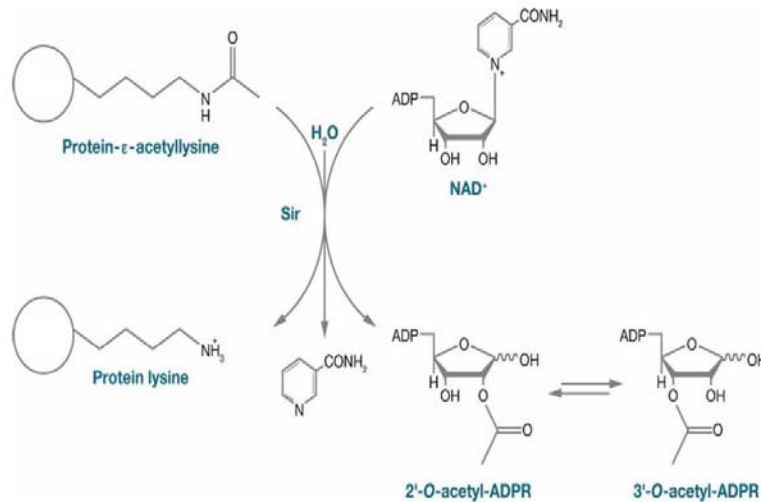
i) Az ammónia toxikus hatásai miatt fokozott CPSI aktivitás szükséges mind étkezés után (táplálék eredetű aminosavak lebontása), mind hosszan tartó éhezésben (izom eredetű fehérjék lebontása). A CPSI akut szabályozásában két mechanizmus játszik kitüntetett szerepet: az N-acetil glutamáttal történő alloszterikus szabályozás és acilezéssel/deacilezéssel történő kovalens módosítás. Az N-acetil glutamát intramitochondriális szintje a szintézis és a citoplazmába történő export sebességétől függ. Az előbbi arginin (N-acetil glutamát szintáz aktivátor) hatására aktiválódik, az utóbbi glukagon hatására gátlódik. Így amikor étkezés után az extrahepatikus arginin szintézis arginin

többletet biztosít (Ld. alábbi ábra) és éhezésben a glukagon szint emelkedik, a CPSI alloszterikus aktivátorának szintje adekvát CPSI aktivitást tart fenn.



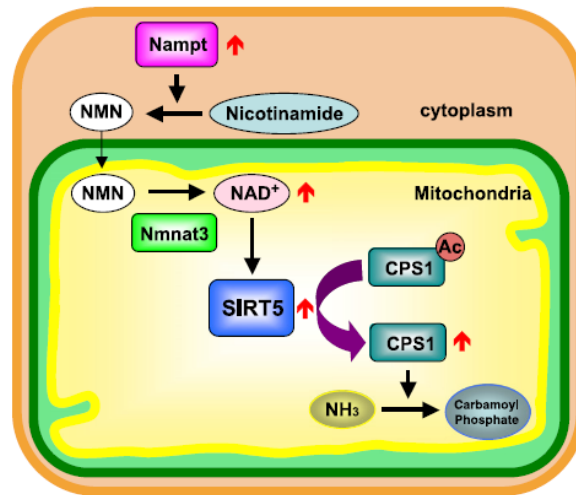
Felszívódásuk után több aminosav (glutamin, glutamát, prolin) átalakul és emeli az arginin szintet a vérben

A CPSI kovalens módosításának értelmezéséhez a szirtuinok (SIRT) NAD-dependens dezacetilező hatását bemutató ábra nyújt segítséget.



A SIRT által katalizált reakció

Az alábbi ábrán összefoglalt újonnan felismert mechanizmus szerint a SIRT5 dezacetilezi és így aktiválja a CPSI-t a NAD koncentráció függvényében, amely triptofán túlsúly (étkezés után) vagy éhezésben (Nampt, nikotinamid foszforibozil transzferáz indukciója miatt) emelkedik (Nakagawa T, et al, Cell 2009; 137:560).

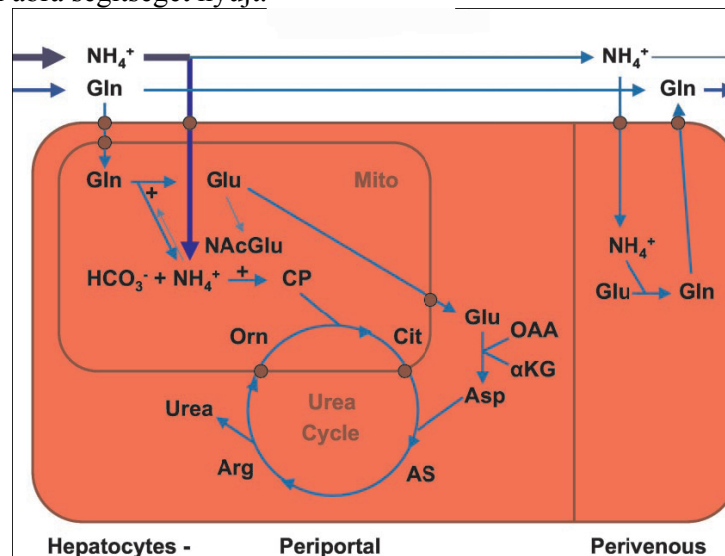


CPS1 szabályozása acetilezéssel/deacetilezéssel (Nakagawa T, et al, Cell 2009; 137:560)

ii) A bikarbonát nemcsak a CPS1 szubsztrátja, hanem a vér fontos puffer rendszerének eleme. Ezért acidózis esetén CPS1 csökkent aktivitása támogatja a pH helyreállítását. Ehhez az alábbi mechanizmusok járulnak hozzá:

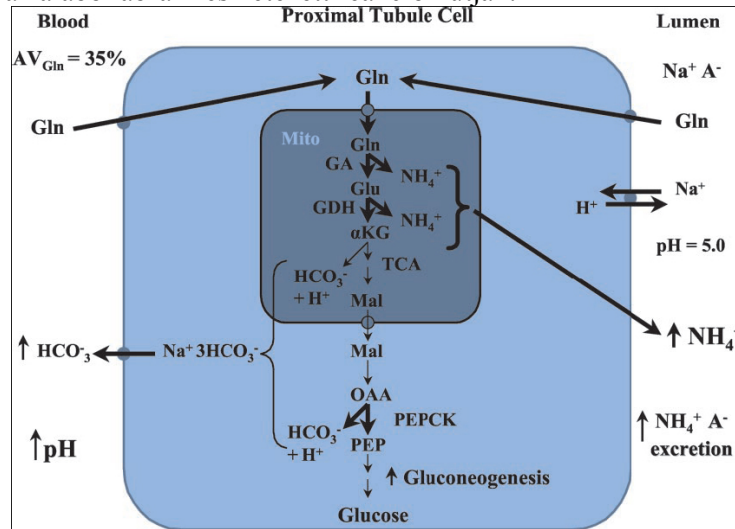
- aminosavak transzportja a hepatocitákba lelassul alacsony pH mellett
- a máj glutamináz aktivitása csökken alacsony pH mellett
- a CPS1 szubsztrátja a semleges  $\text{NH}_3$  és nem a pozitív  $\text{NH}_4^+$
- az N-acetil glutamát szintézis  $K_m$  értéke glutamatra nő alacsony pH mellett
- a mitokondriális szénsav anhidráz aktivitása csökken alacsony pH mellett

Ezek a mechanizmusok biztosítják a bikarbonát visszatartását, de szükségessé teszik az ammónia elimináció alternatív lehetőségeit. Acidózisban a máj glutamin-fogyasztóból nettó glutamin-termelő szervvé válik. E funkció értelmezéséhez figyelembe kell venni a hepatociták zonális jellemzőit, amelyhez az alábbi ábra segítséget nyújt.



Ornitin ciklus és glutamin metabolizmus enzimeinek lokalizációja periportális és pericentrális hepatocitákban (Taylor L, Curthoys NP, BAMBED 2004; 32: 291).

Az ilyenkor keletkező glutamin lebontása a vesében történik, ahol szintén hozzájárul az acidózis kompenzálásához, az alábbi ábrán részletezett reakciók útján.



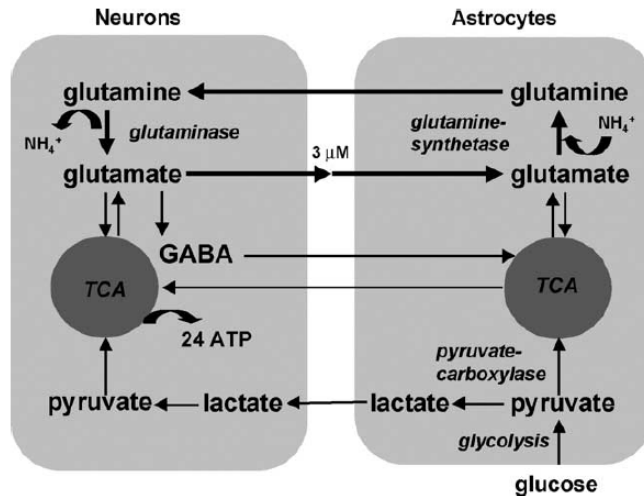
Glutamin lebontása a vesében és szerepe a pH fenntartásában (Taylor L, Curthoys NP, BAMBED 2004; 32: 291).

### Ad 3)

Hiperammonémia fejlődik ki az ornitin ciklus minden egyes enzimjének hiánya esetén. Ennek foka a legsúlyosabb a mitokondriális enzimek hiányában, hiszen ilyen esetben a szabad ammóniát közvetlenül felhasználó reakciók nem működnek. A citoszolikus enzimek hiánya esetén az ammónia beépülhet citrulinba, amely a vizeletbe kerül. Ilyenkor a N ürítése jelentős C-atom veszteséggel jár, amely korlátozza az ilyen eliminációs lehetőség kapacitását (mégis kialakul a hiperammonémia, bár enyhébb fokú). Az egyes enzimdeficienciák specifikus tüneteikhez tartozik az érintett enzim közvetlen szubsztrátjának emelkedett plazmaszintje (pl. citrulin argininoszukcinát szintetáz hiánya esetén). Külön említést érdemel az ornitin transzkarbamiláz hiánya, amikor a felhalmozódó mitokondriális karbamil foszfát a citoplazmába kerül, ahol bekapcsolódik a pirimidin nukleotidszintézisbe megkerülve annak első szabályozott lépését, így orotsav megjelenéséhez vezet a vizeletben (ennek értelmezéséhez segítséget nyújt a tankönyv nukleotid-anyagcseréről szóló fejezete). A citrulin/ornitin cseretranszporter hiányában a HHH szindróma fejlődik ki (hiperornitémia, hiperammonémia, homocitrulinémia), mert ilyen esetben az ornitin transzkarbamiláz lizint használ szubsztrátként ornitin helyett homocitrulin termék keletkezésével.

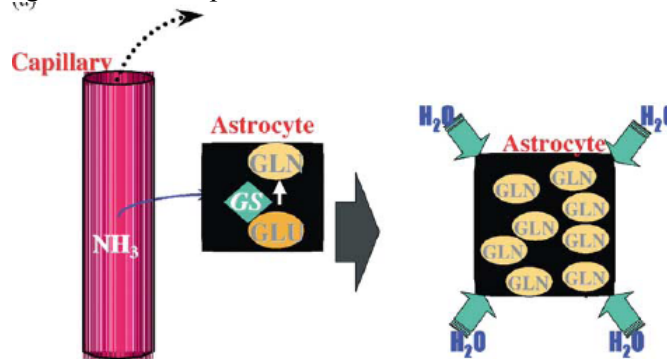
### Ad 4)

Az ammónia toxikus hatásainak értelmezéséhez kulcsfontosságúak a neuronok és asztrociták között zajló glutamát/glutamin metabolikus ciklusban jelentkező kóros eltérések. E ciklus fenntartja a glutamátszintet a preszinaptikus neuronokban és ugyanakkor lehetőséget biztosít arra, hogy az asztrocitákban működő piruvát karboziláz 4C-atomú intermedierekkel feltöltse a neuronok citrát-ciklusát. A glutamát/glutamin metabolikus ciklus fiziológias menetét az alábbi ábra szemlélteti.



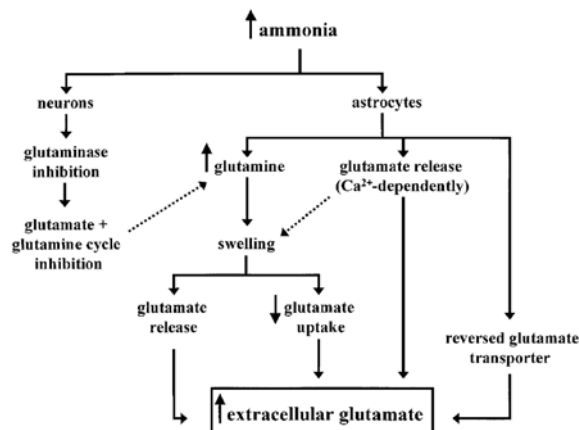
A glutamát/glutamin metabolikus ciklus (Zwingmann C, Butterworth R, Neurochemistry International 2005; 47: 19)

Hiperammonémiában a neurális glutamináz gátlás alá kerül és felgyorsul a glutamin szintézis. Ennek következménye glutamin felszaporodás az asztrocitákban és ozmotikus duzzadás.



Agyödéma kialakulása hiperammonémiában (Jalan R, Shawcross D, Davies N, Int J Biochem Cell Biol 2003; 35:1175).

Az asztrociták duzzadása növeli membrán-permeabilitásukat, ezáltal megváltoznak az iongradiensek és csökken a glutamát felvétele. Ennek extracelluláris felhalmozódása neurotoxikus hatásokat vált ki glutamát receptorok tartós aktivációja útján. A glutamát excitotoxicitásának értelmezéséhez a tankönyv erre vonatkozó fejezete nyújt segítséget.



A hiperammonémia energia deficítehez is vezet az agyban, amelynek hátterében a mitochondriális diszfunkció áll ( $\alpha$ -ketoglutarát dehidrogenáz gátlása, mitochondriális permeabilitás tranzíciós pórus megnyitása) (Felipo V, Butterworth RF, Neurochem Intern 2002; 40: 487).

### Ad 5)

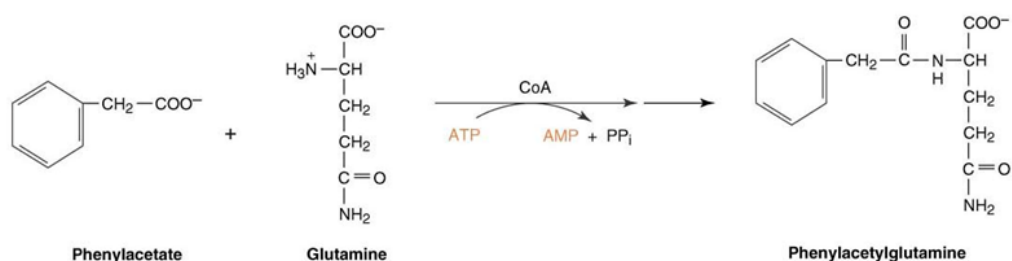
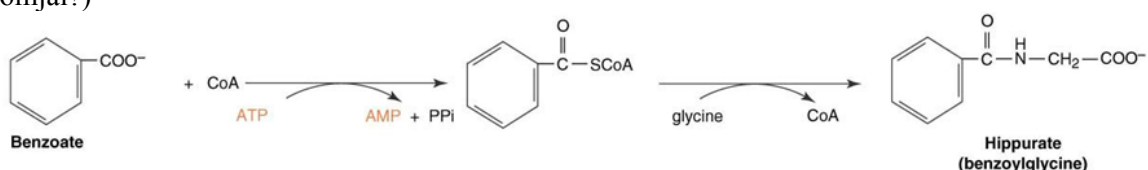
A hiperammonémia kezelése a következő elvek szerint valósul meg.

#### 1. Ammónia termelés csökkenése

- fehérje-szegény diéta, magas esszenciális aminosav tartalmú fehérjékkel
- laktulóz per os adása (fermentációja a bélben csökkenti a pH-t, így az ammónia visszaszívódását)
- bélben ható antibiotikumok adása (neomycin), amellyel csökkenthető az urea lebontása

#### 2. Ammónia elimináció serkentése

- hemofiltráció, hemodialízis, peritoneális dialízis
- aminosav konjugáló ágensek adása (benzoát, fenilacetát, fenilbutirát), amelyek hatását az alábbi séma szemlélteti (milyen aminosavakból származhatnak a konjugáló glicin és glutamin N-atomjai?)



- az enzimdefektus ismeretében olyan intermedier adása, amely bekapcsolódhat az ornitin ciklus ép szakaszába és C-atom veszteség árán fenntartja a N ürítését (pl. citrulin CPSI hiány esetén vagy arginin argininoszukcinát szintetáz hiánya esetén)
- elágazódó szénláncú  $\alpha$ -ketosavak adása

#### 3. Akut tüneti kezelés: agyödéma kezelése ozmotikusan aktív anyagokkal (manitol).

### Ajánlott irodalom

Chana H, Butterworth RF. Cell-selective effects of ammonia on glutamate transporter and receptor function in the mammalian brain. Neurochem Internat 2003; 43: 525–532

Felipo V, Butterworth RF. Mitochondrial dysfunction in acute hyperammonemia. Neurochem Internat 2002; 40: 487-491

Nakagawa T, Lomb DJ, Haigis MC, Guarente L. SIRT5 Deacetylates Carbamoyl Phosphate Synthetase 1 and Regulates the Urea Cycle. Cell 2009; 137: 560–570

Rose C. Effect of ammonia on astrocytic glutamate uptake/release mechanisms. J Neurochem 2006; 97 (Suppl. 1): 11–15

Taylor L, Curthoys NP. Glutamine Metabolism. Biochem Mol Biol Ed 2004; 32: 291-304

### Esetismertetés

#### 1. Herediter hyperammonémia

Egy 6 hónapos csecsemő betegsége gyakori hányással és a súlygyarapodás megállásával kezdődött. Nyolc és fél hónapos korában ismételt kórházi felvétele vált szükségessé. A rutinvizsgálatok és a laboreredmények kezdetben nem mutattak komolyabb eltérést, de később a gyermek egyre aluszékonyabbá vált, hőmérséklete 39.4 C-ra emelkedett, pulzusa meggyorsult és mája megnagyobbodott. Az elektro-enkefalogramon kóros jelek mutatkoztak. Mivel az orrszondán keresztüli tejbevitel a fellépő hasmenés miatt nem bizonyult kielégítőnek a csecsemő táplálására, intravénás glukózinfúzióra tértek át. A gyermek állapota gyorsan javult, 24 óra alatt kijött a kómából. A vizeletmintákban abnormisan magas glutamin és uracil mennyiséget találtak, ami magas vér ammónia koncentrációra utal. Ezt a későbbi laborvizsgálat is megerősítette.

### Kérdések

1. Herediter hyperammonémia az urea ciklus enzimopátiáinak következménye is lehet. Mely enzimek defektusát írták eddig le?
2. Figyelembe véve a fenti adatokat, mely enzim defektusára gondol?
3. Miért emelkedett a vizelet glutamin koncentrációja?