

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2025

Lukáš Klouda

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Poruchy cyklu močoviny
Bakalářská práce

2025

Lukáš Klouda

University of Pardubice
Fakulty of Chemical Technology

Urea cycle disorders
Bachelor Thesis

2025

Lukáš Klouda

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Lukáš Klouda**
Osobní číslo: **C22009**
Studijní program: **B0512A130006 Analýza biologických materiálů**
Téma práce: **Poruchy cyklu močoviny**
Téma práce anglicky: **Urea Cycle Disorders**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

- Vypracovat teoretickou rešerši týkající se poruch cyklu močoviny.
- V úvodních kapitolách popsat jednotlivé kroky močovinového cyklu.
- V dalších kapitolách uvést přehled 5 dědičně podmíněných poruch cyklu močoviny, popsat klinický obraz, diagnostiku a možnosti terapie.
- V závěru se krátce zmínit o získaných hyperamonemiích.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Šárka Štěpánková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2024**

Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2025**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

prof. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2025

Prohlašuji:

Práci s názvem Poruchy cyklu močoviny jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 29. 6. 2025

Lukáš Klouda

PODĚKOVÁNÍ

Rád bych poděkoval vedoucí své bakalářské práce, Mgr. Šárce Štěpánkové, Ph.D. za ochotu, laskavost, a hlavně za trpělivost, kterou mi projevila při zpracovávání této práce.

ANOTACE

Bakalářská práce se zabývá močovinovým cyklem, enzymy v něm vystupujícími, deficitem těchto enzymů a léčení těchto poruch. Současně se také pojednává o hyperamonemii jako o hlavním symptomu poruch močovinového cyklu. Popisuje také zděděné a získané poruchy močovinového cyklu.

KLÍČOVÁ SLOVA

Amoniak, karbamoylfosfátsyntetáza, ornithintranskarmoyláza, argininsukcinátsyntetáza, argininsukcinátlyáza, argináza

TITLE

Urea cycle disorders

ANNOTATION

This bachelor's thesis deals with urea cycle, enzymes involved in it, deficiencies of these enzymes and the treatment of these disorders. It also discusses hyperammonemia as the main symptom of urea cycle disorders. Furthermore, it describes both inherited and acquired urea cycle disorders.

KEYWORDS

ammonia, carbamoyl phosphate synthetase, ornithine transcarbamylase, argininosuccinate synthase, argininosuccinate lyase, arginase

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ASL – argininsukcinátlyáza

ALF – akutní selhání jater (acute liver failure)

ARG1 – argináza

ASS – argininsukcinátsyntetáza

CPS1 – karbamoylfosfátsyntetáza (carbamoyl phosphate synthetase 1)

GABPA – GA-vázaný protein A (GA-binding protein A)

gNBS – genové screeningové vyšetření novorozenců (genomic newborn screening)

NAGS – N-acetylglutamátsyntáza

NAG – N-acetylglutamát

NCG – N-karbamyl-L-glutamát (N-carbamyl-L-glutamate)

OTC – ornithintranskARBAMOYLÁZA (ornithine transcarbAMYLASE)

TERT – telomerázová reverzní transkriptáza

YSZ – yttrium-stabilizované zirkonium (yttria-stabilized-zirconia)

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1 Cyklus močoviny.....	14
Obrázek 2 Schéma CPS E. coli s rozdělením jednotlivých domén a jejich funkcí	16
Obrázek 3 Rentgen mozku 30měsíční dívky s neonatálním nástupem deficitu ASS pomocí výpočetní tomografie	20
Obrázek 4 Enzymatické stanovení amoniaku.....	20
Obrázek 5 Odpověď YSZ senzoru na 5 ppm amoniak při různých teplotách.....	22
Obrázek 6 Odezva YSZ senzoru na různé koncentrace amoniaku.....	23
Obrázek 7 Sérové koncentrace amoniaku, benzoátu a hippurátu během dvou týdnů u novorozence s argininosukcinovou acidurií	28
Obrázek 8 První krok močovinného cyklu	30
Obrázek 9 DNA sekvence exonu 4 genu NAGS postižené rodiny.....	32
Obrázek 10 Koncentrace [13C] močoviny v plazmě u 5 pacientů s částečným deficitem CPS1 po podání [1-13C] před a po podání po podání NCG octanu	34
Obrázek 11 Hladiny amoniaku (A), glutaminu (B) a močoviny před a po podání NCG	34
Obrázek 12 Sekvenční analýza genu kódující CPS1 u pacienta 1.....	35
Obrázek 13 Sekvenční analýza genu kódující CPS1 u pacienta 2.....	35
Obrázek 14 Druhý krok močovinného cyklu.....	36
Obrázek 15 Třetí krok močovinného cyklu	39
Obrázek 16 Čtvrtá reakce močovinného cyklu.....	40
Obrázek 17 Hydrolýza argininu na ornithin a močovinu	42

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Naměřené hodnoty aminokyselinového profilu pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie	38
--	----

OBSAH

ÚVOD.....	13
1 Cyklus močoviny	14
1.1 Enzymy	15
1.1.1 Karbamoylfosfát syntetáza	15
1.1.2 Ornithintranskarbamoyláza.....	16
1.1.3 Argininsukcinát syntetáza.....	16
1.1.4 Argininsukcinát lyáza	17
1.1.5 Argináza.....	17
1.2 Hyperamonemie.....	18
1.2.2 Působení amoniaku na vyspělý mozek	19
1.2.3 Působení amoniaku na vyvíjející se mozek	19
1.3 Měření hladiny amoniaku	20
1.3.1 Využití senzoru	21
1.4 Léčba hyperamonemie	23
2 Poruchy cyklu močoviny	24
2.1 Klinický obraz.....	24
2.1.1 Neonatální projev	25
2.1.2 Projev u dospívajících dětí a dospělých.....	25
2.2 Novorozenecký screening.....	26
2.3 Léčba poruch cyklu močoviny.....	27
2.3.1 Nutriční management pacientů	28
2.3.2 Transplantace jater	29
3 Vrozené poruchy.....	30
3.1 Deficit CPS1	30
3.1.1 Léčba.....	31

3.1.2 Deficit N-acetylglutamátsyntetázy	31
3.1.3 Suplementace NAG	33
3.1.4 Popis případu deficitu CPS1	34
3.2 Deficit OTC	35
3.2.1 Diagnóza	37
3.2.2 Popsání případu ze Španělska.....	37
3.2.3 Popis léčby deficitu OTC pomocí transplantace jater	38
3.3 Deficit ASS1	39
3.3.1 Popis případu neonatální citrulinemie	39
3.4 Deficit ASL.....	40
3.4.1 Genetická a funkční korekce ASL editace bází	41
3.5 Deficit ARG1	41
4 Získané poruchy.....	43
Závěr	44
POUŽITÁ LITERATURA	45

ÚVOD

Močovinový cyklus jsou po sobě jdoucí enzymaticky katalyzované reakce sloužící k odstranění neurotoxického amoniaku z těla převedením na hydrofilní močovinu. Přestože dusík je nezbytný pro růst a správnou funkci organismu, jeho nadbytek vede k život ohrožujícímu stavu.

Poruchy močovinového cyklu představují soubor vzácných metabolických onemocnění projevujících se nejčastěji hyperamonemií a mohou mít už neonatální nástup, který je pro novorozence často fatální. Při pozdějším nástupu se jedná o mírnější příznaky, které bez dostatečné léčby a přísné životosprávy mohou vést k vážnému poškození organismu, často i ke smrti. Závažnost a věk nástupu při poruše závisí na zbytkové aktivitě enzymu a souvisí s příslušnými genetickými mutacemi. Hyperamonemie může mít nezvratný vliv na neurologický vývoj pacienta.

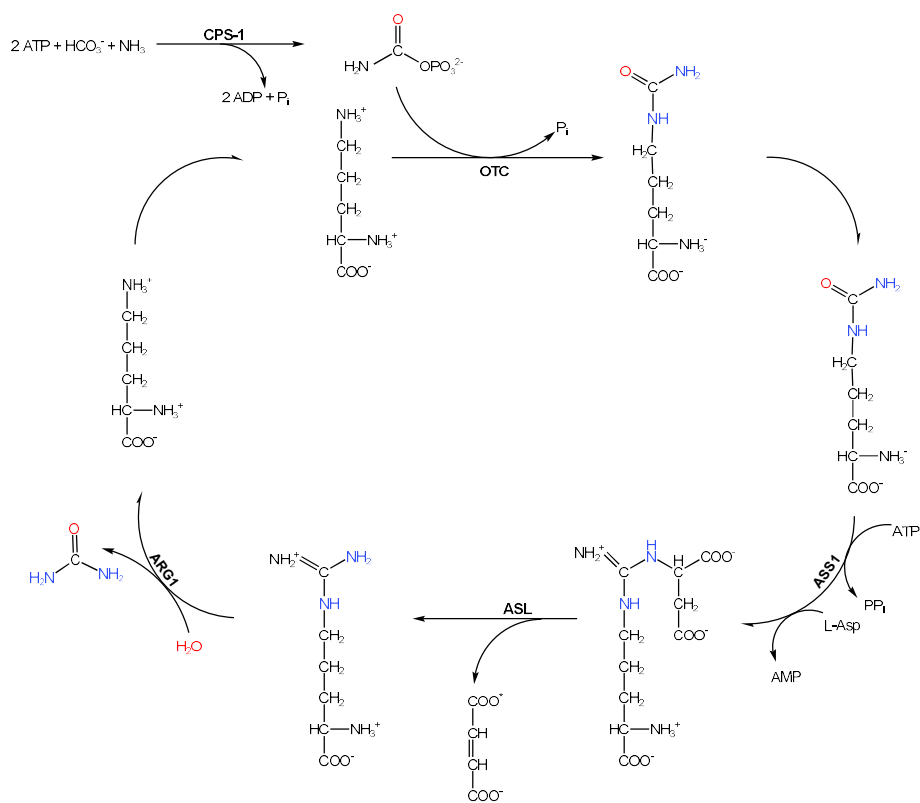
Tělesné bílkoviny jsou neustále odbourávány a nahrazovány novými. To tvoří základ obratu bílkovin v těle. Bílkoviny jsou proto v těle v dynamické rovnováze. Proteosyntéza, odbourávání proteinů a oxidace aminokyselin jsou u zdravých jedinců vysoce přísně regulované pochody, aby se zachovala svalová hmota. Růst a replikace buněk vyžaduje syntézu nových bílkovin, a proto potřebují přísun exogenních aminokyselin z přijaté potravy. Aminokyseliny pocházejí z hydrolýzy bílkovin. Jejich katabolismus je krátkodobě regulován především jejich dostupností z exogenního zdroje čili z potravy, nebo z endogenního zdroje, tj. z rozkladu bílkovin. Přebytek aminokyselin se oxiduje, na rozdíl od jiných živin, které se ukládají například v játrech či tukové tkáni. [1]

Strategie léčby hyperamonemie spočívá v prevenci expozice amoniaku na nervovou soustavu pacienta. Nejúčinnější dlouhodobé řešení je transplantace jater, operace, která jednoznačně zlepšuje životní úroveň pacientů.

1 CYKLUS MOČOVINY

Cyklus močoviny, známý také jako ornithinový cyklus, je souhrn reakcí zajišťující odbourávání amoniaku z organismu ve formě močoviny. U zdravého člověka zprostředkovává odstranění amoniaku ve formě močoviny. Počáteční dva kroky cyklu jsou lokalizovány v jaterních mitochondriích. [2]

Karbamoylfosfátsyntetáza (CPS) zprostředkovává první reakci, tvorbu karbamoylfosfátu z NH_3 , HCO_3^- a ATP. Pro funkci CPS je nezbytný aktivátor N-acetylglutamát. Bez něj je aktivita CPS nižší než 5 % oproti normálu. Samotný N-acetylglutamát se tvoří z acetyl-CoA a glutamátu prostřednictvím N-acetylglutamátsyntázy (NAGS) v mitochondriální matrix. Druhá reakce je pak kondenzace předchozího produktu (tedy karbamoylfosfátu) s ornithinem na citrulin za katalýzy ornithintanskarbamoylázy (OTC). Citrulin je poté uvolňován z mitochondrie do cytosolu, kde dochází k reakci s L-aspartátem za přítomnosti argininsukcinátsyntetázy (ASS1) za vzniku argininosukcinátu. Argininosukcinát je poté štěpen argininsukcinátlyázou (ASL) na fumarát a arginin, který se dále štěpí na močovinu a ornithin prostřednictvím arginázy (ARG1). Ornithin poté přechází zpět do mitochondrie a močovina přechází do krve. [2, 3] Obrázek 1 znázorňuje jednotlivé reakce močovinového cyklu.



Obrázek 1 Cyklus močoviny, převzato a upraveno z [4]

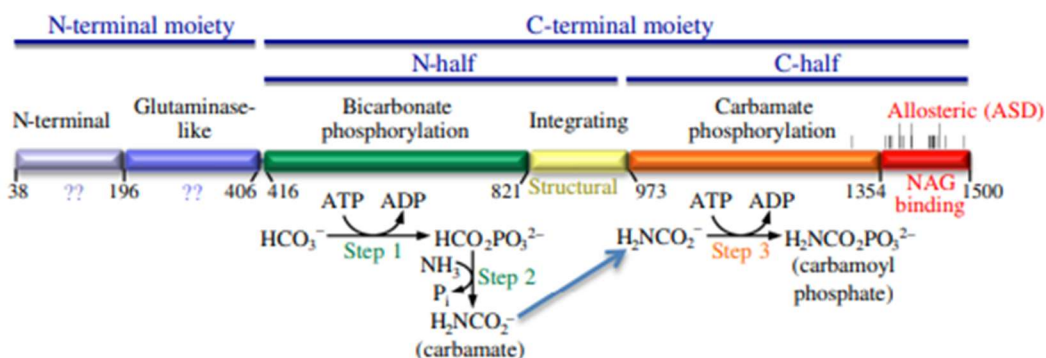
Močovina je látka rozpustná ve vodě produkovaná játry jako odpadní produkt metabolismu bílkovin. Do krve je distribuována prostou difuzí. Z krve, kde je její hladina zhruba od 2,5 do 7,5 mmol/l, se dostává do moče přes ledviny glomerulární filtrací. Její úlohou je především odstranění amoniaku z těla. Část močoviny je hydrolyzována mikroflórou v tlustém střevě. Jedná se o takzvanou záchrannou cestu močoviny, kdy se část celkového dusíku recykluje, a vzniklý produkt se v játrech přeměňuje na aminokyseliny *de novo* syntézou. [1]

1.1 Enzymy

1.1.1 Karbamoylfosfátsyntetáza

Karbamoylfosfátsyntetázy, CPS, hrají důležitou roli při vnášení dusíkatých a jednouhlíkatých elementů do metabolických drah. Karbamoylfosfát pak může sloužit jako prekurzor argininu či pyrimidinových nukleotidů. Slouží také jako základní složka všech proteinů. U *Escherichia coli* je CPS využívána v argininové i pyrimidinové dráze, kde podléhá alosterické regulaci složkami obou zmíněných drah. Eukaryota mají dvě CPS pro tyto dráhy. Argininově-specifická je lokalizována v mitochondriální matrix a pyrimidinově-specifická v cytosolu a/nebo v jádře. To umožňuje nezávislost a specifickou regulaci obou drah. Pyrimidinově-specifická CPS pak například nemusí být alostericky aktivována N-acetylglutamátem. [5]

CPS1 je polypeptid o zhruba 1500 aminokyselinách. Podobně jako CPS z *Escherichia coli* se zdá, že je složena do šesti hlavních domén, jak je ilustrováno na obrázku 2. K jednotlivým enzymaticky aktivním doménám jsou pak přiřazené jejich reakce. Na rozdíl od jiných CPS, lidská CPS1 využívá amoniak s vysokou afinitou a nemůže využít glutamin. Kvůli relativní vzácnosti deficitu CPS1 a relativně obtížné analýze genu bylo hlášeno málo mutací CPS1, kdy přes 50 % případů se jedná o missense mutaci táhnoucí se po celém řetězci polypeptidu. [6, 7]



Obrázek 2 Schéma CPS *E. coli* s rozdělením jednotlivých domén a jejich funkcí, převzato a upraveno z [7]

1.1.2 Ornithintranskarbamoyláza

Ornithintranskarbamoyláza je klíčový enzym nacházející se téměř u všech organismů, včetně rostlin, mikroorganismů a obratlovců. U savců se vyskytuje především v játrech, kde slouží k detoxikaci amoniaku. Nachází se však i ve střevě, kde probíhá syntéza citrulinu pro zachování homeostáze aminokyselin. Jeho syntéza probíhá v cytoplazmě, ze které je transportován do mitochondriální matrix. Zde se může vázat na vnitřní mitochondriální membránu nekovalentní interakcí. OTC může také podléhat sekundárním modifikacím, jako je acetylace a sukcinylace. Acetylace pak snižuje aktivitu enzymu. [8, 9]

1.1.3 Argininsukcinátsyntetáza

Tento enzym katalyzuje ATP dependentní kondenzaci citrulinu a aspartátu za vzniku argininosukcinátu. Jedná se o regulační krok v močovinovém cyklu. V játrech je tento enzym exprimován a jeho exprese ovlivňují hormony, jako je glukagon, inzulin a glukokortikoidy, a živiny, zejména bílkoviny a aminokyseliny. Glukokortikoidy a glukagon zvyšují koncentraci ASS, zatímco inzulin ji snižuje. V buňkách, které produkují oxid dusnatý, je tento enzym exprimován v podstatně nižších hladinách než v jaterních buňkách a regulace probíhá pomocí prozánětlivých signálů. [10] Tento enzym je důležitý i při regulaci amoniakového stresu a při imunitní odpovědi u zvířat, jak prokázala studie na sumeckách žlutavých, *Pelteobagrus fulvidraco*. [11] Citrulinemie byla také popsána u dojníc v Austrálii. [12]

Radikál oxidu dusnatého je produkován z L-argininu, přičemž L-citrulin je vedlejší produkt této reakce. L-citrulin může být recyklován zpět na L-arginin pomocí enzymů ASS a ASL. Analýza exprese těchto dvou enzymů v lidských dlaždicobuněčných karcinomech orální dutiny prokázala podstatné zvýšení exprese ASL u 34 z 37 pacientů, zatímco u ASS bylo zvýšení zaznamenáno u 14 z 37 pacientů. Inhibice ASS by mohla pomoci při zamezení

recyklace L-citrulinu a opětovné produkci radikálu oxidu dusnatého, jenž má klíčovou roli v progresi různých lidských nádorů. [13, 14]

1.1.4 Argininsukcinátlyáza

Enzym argininsukcinátlyáza katalyzuje rozklad argininsukcinátu na arginin a fumarát. Je důležitý nejen pro odstraňování amoniaku prostřednictvím močovinnového cyklu, ale i pro syntézu argininu. Poprvé byl popsán jako druhý enzym zapojující se do přeměny citrulinu na arginin S. Ratnerovou. [15] Gen pro ASL byl kromě člověka identifikován i u řas, *Escherichia coli* nebo u potkana. Všechny tyto varianty enzymu sdílejí přibližně 42,9 % aminokyselin a jsou aktivní jako homotetramery. Identická monomerní podjednotka je polypeptid o hmotnosti mezi 49 a 52 kDa. U lidí je tento enzym exprimován převážně v játrech, ale nachází se také v erythrocytech, ledvinách, svalech, mozku a srdci. [16, 17]

1.1.4.1 Mechanismus řízení aktivace mutovaného promotoru telomerázové reverzní transkriptázy

Telomerázová reverzní transkriptáza (TERT) je klíčová katalytická podjednotka telomerázy. U dospělých somatických buněk má velmi nízkou až nulovou aktivitu. Mutace této podjednotky je jednou z nejčastějších genetických změn pozorovaných u mnoha typů rakoviny, což prodlužuje životnost rakovinných buněk. Fosforylovaná ASL pak interaguje s GA-vázaným proteinem A (GABPA), transkripčním faktorem. Tato interakce je nezbytná pro nábor c-Myc na mutovaný TERT. ASL následně generuje fumarát, který inhibuje lysinovou demethylázu 5C, enzym ze skupiny histonových demethyláz. Inhibice pak vede ke zvýšené trimethylaci histonu H3 na lysinu 4 v oblastech mutovaného TERT. Tato epigenetická změna podporuje nábor c-Myc, což vede k transkripci TERT a následné tumorigenezi. Mutace ASL, která ruší vazbu s GABPA, vede ke snížení exprese TERT a potlačení aktivity telomerázy a narušení růstu mozkového nádoru u testované myši. [18]

1.1.5 Argináza

Přeměnu L-argininu na L-ornithin katalyzuje metaloenzym argináza. V jejím aktivním místě se nachází mangan. Tento enzym se nachází i u bakterií, kvasinek, bezobratlých a obratlovců. U obratlovců byly identifikovány dvě izoformy. Argináza 1 se vyskytuje v cytoplazmě, je exprimovaná převážně v játrech a hraje klíčovou roli v odstraňování amoniaku. Argináza 2 je mitochondriální enzym a je exprimována v ledvinách. Isoformy jsou kódovány rozdílnými geny, avšak sdílejí přes 50 % aminokyselinové sekvence, mají podobný mechanismus účinku a jsou tvořeny třemi identickými podjednotkami. Kromě detoxikace

amoniaku se tento enzym uplatňuje při vytváření L-ornithinu. Ten je prekurzor polyaminů a prolinu. Nadměrná aktivita ARG1 může vést k vyčerpání L-argininu, což může omezit dostupnost NO radikálu. Právě zvýšená aktivita byla prokázána u některých onemocnění charakterizovaných kardiovaskulární dysfunkcí, u imunitní dysfunkce nebo u růstu nádorů. K inhibici ARG1 se využívají analoga L-argininu, například S-(2-)boronoethyl)-L-cystein, která se vážou na manganový klastr. [19, 20] Malvidin-3-O-glukosid, který je obsažený v borůvkách, má kromě antioxidačních účinků také pozitivní účinky na obnovu cévní funkce a inhibici ARG1 u myši s diabetes mellitus 2. typu. [21, 22]

1.2 Hyperamonemie

Molekula amoniaku má mnoho vlastností. V závislosti na pH se může chovat jako kyselina či zásada. Amonný iont má podobné vlastnosti a poloměr jako draselný iont. Plynný amoniak může přestupovat přes buněčnou membránu. Amoniak je také nezbytný substrát pro některé důležité anabolické reakce v mozku a je produktem mnoha dalších drah. Amoniak ve vyšších koncentracích může působit toxicky na neuronální a astrocytární části centrální nervové soustavy organismu. Hyperamonemie tedy označuje klinický stav spojený se zvýšenou hladinou amoniaku v plazmě. [3, 23]

Amoniak může volně procházet přes hematoencefalickou bariéru a přeměňovat se na amonný iont, který má horší účinky. To způsobuje nadměrnou syntézu a akumulaci glutaminu. Přítomnost hyperglutaminemie u hyperamonemických pacientů trpících poruchou močovinového cyklu je známa již od prvních studií. Hyperglutaminemie je dalším projevem porušení homeostázy dusíku v těle. [24, 25] Za normálních okolností dochází k přeměně amoniaku na močovinu. Ta je pak vylučována pomocí ledvin do moči. [26]

V závislosti na věku jedince, na koncentraci a délce expozice se může hyperamonemie projevovat somnolencí, poruchou příjmu potravy, hyperventilací, záchvaty, které mohou následovat letargií až kómatem, mentální retardací, či poškozením až ztrátou neuronů, k mozkovému edému, který může zapříčinit zvýšení nitrolebního tlaku. [3, 23, 27, 28]

Diagnóza hyperamonemie může být prvním krokem k diagnóze řady metabolických poruch. Krom deficitu enzymů cyklu močoviny včetně enzymů přenášejících meziproducty přes mitochondriální membránu může jít například i o organickou acidurii, zejména metylmalonová a propionová acidémie. U novorozenců se také může vyskytovat přechodná hyperamonemie z důvodu nezralosti jaterního metabolismu, což způsobuje nedostatečnou aktivitu enzymů zodpovídajících za odbourávání amoniaku z krve. [29]

Hyperamonemie může být způsobena i dalšími příčinami. Hyperamonemická encefalopatie je vzácný a často smrtelný vedlejší účinek při chemoterapii, kdy může dojít k hydrolyze amidové skupiny asparaginu a glutaminu. Salicyláty byly statisticky spojeny s Reyeovým syndromem, metabolickou encefalopatií s hyperamonemií. Ta byla hlášena u dětí mladších 16 let. Toto zjištění vedlo k omezení užívání aspirinu u dětí s horečkou. [30]

Léčba hyperamonemie by neměla být odkládána, dokud nebude určena definitivní diagnóza. Terapie zahrnuje eliminaci bílkovin a odstranění amoniaku dialýzou, pokud je dítě v kómatu. Další terapeutická opatření lze zahájit po stanovení konkrétní choroby a její vhodné léčby. [3, 26]

1.2.2 Působení amoniaku na vyspělý mozek

Hyperamonemie je v dospělosti často způsobena akutním nebo chronickým selháním jater. [3] V případě akutního selhání jater se jedná o cytotoxický edém mozku často charakterizovaný otokem astrocytů, který může být natolik závažný, že způsobí zvýšení nitrolebního tlaku na tolik, že dojde k herniaci mozku, což je nejčastější příčina úmrtí u lidí s amyotrofickou laterální sklerózou. Herniace mozku je často následkem zvýšení arteriální koncentrace amoniaku. [23]

V případě chronického selhání jater dochází k charakteristické změně morfologie astrocytů, středně závažné formě buněčného otoku známé pod souhrnným názvem Alzheimerova astrocytóza typu II. [23]

Ztráta neuronů u jedince s vyvinutým mozkem je pozorována jen zřídka. Může se ovšem rozvinout porucha známá jako získaná (non-Wilsonova) hepatocerebrální degenerace u pacientů s cirhózou, kteří prodělali jaterní encefalopatii. V těchto případech byla ztráta neuronálních buněk pozorována. [23]

Zvýšená hladina do 100 $\mu\text{mol/l}$ u dospělého pacienta bez jaterní encefalopatie obvykle způsobuje mírné příznaky, například ospalost a třes. Hladina mezi 100 a 200 $\mu\text{mol/l}$ se obvykle projevuje zmateností a poruchami chování. Koncentrace překračující 200 $\mu\text{mol/l}$ se projevuje významnými neurologickými příznaky, jako jsou záchvaty, edém mozku a koma. [28]

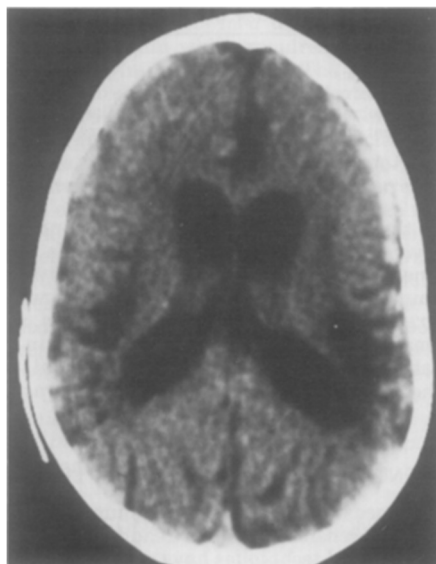
1.2.3 Působení amoniaku na vyvíjející se mozek

U dětí je stav hyperamonemie nejčastěji důsledkem vrozených chyb metabolismu, včetně deficitů enzymů ornithinového cyklu, ale i například vrozené laktátové acidózy nebo přechodné hyperamonemie v novorozeneckém období. [3]

Závažná mutace jednoho z enzymů katalyzující první čtyři reakce ornithinového cyklu se u novorozenců může projevit od 36 až 48 hodin po porodu, přesto že se novorozenec jevil normálně. Je tedy možné, že je propuštěn z nemocnice ještě před projevením příznaků nemoci. První projevy se mohou objevit až doma, kde nemusí být rozpoznány. [26]

V prvním týdnu života se hyperamonemie projevuje jako nález špatného sání, hypotonie, zvracení, letargie, chrčivé dýchání a/nebo záchvaty. V průběhu dětství se pak můžou objevit opakované epizody ataxie, zvracení a letargie. [3]

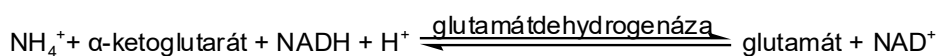
U dětí, které přežily opakované epizody hyperamonemie, zahrnovaly neuropatické nálezy zvětšení mozkových komor a oblasti fokální kortikální nekrózy. U zesnulých kojenců v hyperamonemickém kómatu bylo také prokázáno intrakraniální krvácení. Obrázek 3 ukazuje rentgen mozku 30měsíční dívky s neonatální citrulinemií v hyperamonemickém kómatu. [3]



Obrázek 3 Rentgen mozku 30měsíční dívky s neonatálním nástupem deficitu ASS pomocí výpočetní tomografie. Vyšetření ukazuje dilataci komor, výrazné kortikální shluky a oblasti s nízkou subkortikální hustotou, převzato [3]

1.3 Měření hladiny amoniaku

K měření amoniaku v krvi se nejčastěji používá enzymaticky katalyzovaná reakce amoniaku s α -ketoglutarátem (obrázek 4) dle následující reakce:



Obrázek 4 Enzymatické stanovení amoniaku, převzato a upraveno [28]

Úbytek NADH lze sledovat spektrofotometricky při 340 nm. Koncentrace amoniaku je pak nepřímou úměrnou signálu, který poskytuje NADH. [28]

Tuto reakci je možno ovlivnit několika různými způsoby. Nesprávný odběr, manipulace a transport mohou uměle zvyšovat naměřené hodnoty, podobně jako hemolýza, protože v erythrocytech je 3× vyšší koncentrace amoniaku než v plazmě. Ke krvi se také přidává laktátdehydrogenáza k odstranění pyruvátu, který interferuje se stanovením. [28]

Odebrání krve probíhá z punkce paty nebo prstu do zkumavky obsahující antikoagulant, často je preferována EDTA. Transport by měl probíhat na ledu kvůli omezení deaminace a k analýze by mělo dojít do 60 minut. Doporučená je i centrifugace při 4 °C. [3, 28]

Referenční interval pro amoniak se v jednotlivých laboratořích velmi liší. Obecně je hyperamonemie definována jako hladina amoniaku převyšující 50 $\mu\text{mol/l}$ u dospělých a 100 $\mu\text{mol/l}$ u novorozenců. [3, 28]

Po zjištění hyperamonemie by mělo také následovat vyšetření CRP, sérologie hepatitid a vyšetření moči. Dále by měly být zváženy hladiny léků a jiných xenobiotik v krvi, které mohou způsobovat selhání jater či vyvolat hyperamonemii. [28]

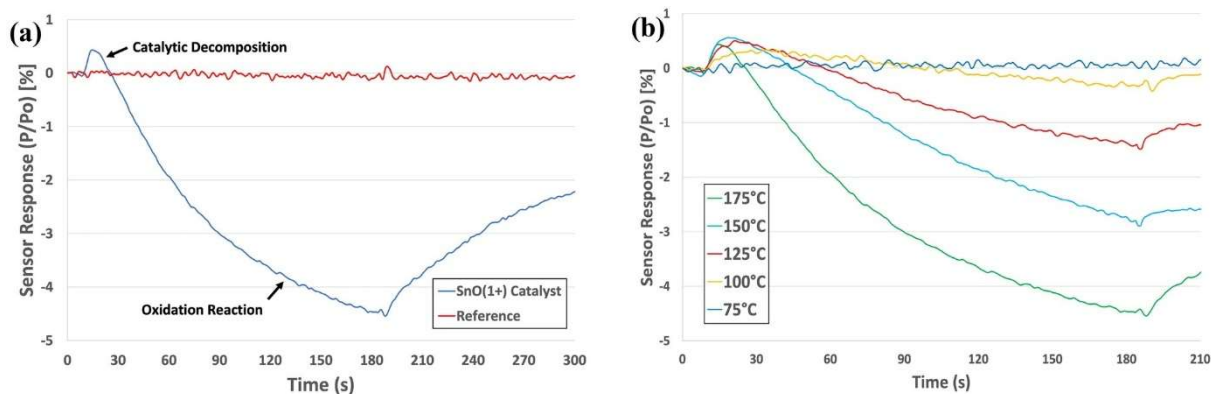
1.3.1 Využití senzoru

Další způsob měření amoniaku v krvi spočívá v neinvazivním monitorování v dechu. Jedná se o metodu, která má potenciální aplikaci k diagnóze chronického selhání ledvin či infekce *Helicobacter pylori*, který produkuje ureázu. [31]

Metoda využívá mikroohříváče nanesené na ultratenkou pásku z yttrium-stabilizovaného zirkonia, YSZ, které jsou potaženy katalyzátorem z oxidu kovů. Odezva senzoru jsou dva různé tepelné efekty. První vzniká při interakci amoniaku s povrchem katalyzátoru, kdy dochází k rozkladu na známé produkty. Tyto produkty pak dále interagují s katalyzátorem, což má za následek selektivní redox reakci a druhý tepelný efekt. Při obou reakcích dochází k uvolnění energie, která změní potřebný výkon k udržení teploty snímače. Naopak redukční děje pohlcují teplo a vyvolávají kladnou odezvu v důsledku zvýšení požadovaného elektrického výkonu. [31]

Obrázek 5a ukazuje odezvu takového senzoru s katalyzátorem na bázi oxidu cínu (SnO^{1+}) na amoniak o koncentraci 5 ppm při operační teplotě 175 °C. Referenční senzor nevyužívá povlak z katalyzátoru, místo toho byl použit ke zmírnění hydrodynamických účinků, jako jsou změna průtoku, tlaku či rozdíly v tepelné kapacitě. Obrázek 5a také ukazuje, že

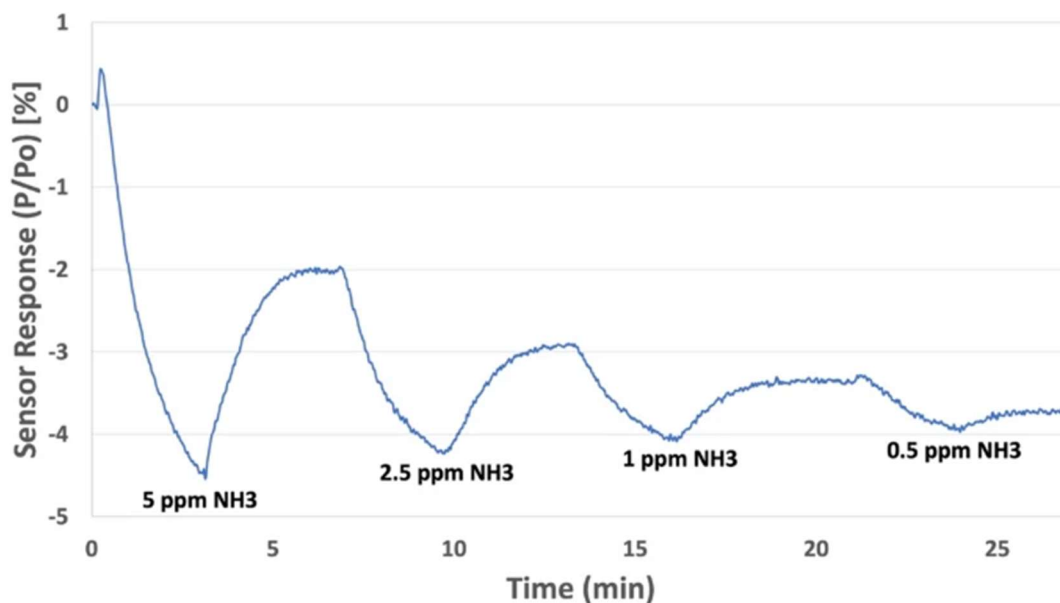
referenční senzor nereaguje na páru amoniaku. U oxidu cínu (SnO^{1+}) tradičně provozní teploty nad $100\text{ }^\circ\text{C}$ podporují výskyt redoxních reakcí, které dominují v odezvě senzoru kvůli velkému teplotnímu efektu. Při nižších teplotách převažuje katalytický rozpad. Ve většině případů mají oba tepelné efekty opačné znaménko, což senzoru dodává ortogonální detekci za použití jednoho katalyzátoru. [31]



Obrázek 5 Odpověď YSZ senzoru na 5 ppm amoniak při různých teplotách, převzato z [31]

V případě stanovení amoniaku má operační teplota velký efekt na redoxní reakci, ovšem minimální efekt na katalytický rozpad. Obrázek 5b ukazuje rozdílnou odpověď senzoru potaženého katalyzátorem SnO^{1+} na 5ppm amoniak v závislosti na různé operační teplotě senzoru. Při teplotě $175\text{ }^\circ\text{C}$ senzor vyžadoval $\sim 400\text{ mW}$ na udržení požadované teploty. Ovšem při $100\text{ }^\circ\text{C}$ senzor vyžadoval pouze 250 mW , což je optimální pro přenosné zařízení. [31]

Hladina amoniaku v dechu se může pohybovat mezi 29 a 688 ppb, v 3.–5. stádiu chronického selhání ledvin dosahuje 1392 až 3660 ppb. Bylo provedeno další ředění vzduchem, aby se dosáhlo koncentrací ppb. Obrázek 6 ukazuje odezvu senzoru při koncentraci amoniaku do 500 ppb. [31]



Obrázek 6 Odezva YSZ senzoru na různé koncentrace amoniaku, převzato z [31]

1.4 Léčba hyperamonemie

U novorozenců je kontrola metabolických rozvratů bezprostředním cílem léčby. Používá se strategie zahrnující okamžité zastavení podávání jakýchkoliv bílkovin, zajištění vysokého příjmu energie, odstranění amoniaku z krve dialýzou a využití alternativních cest pro vylučování dusíku, které mohou zahrnovat podávání benzoátu sodného, fenylbutyrátu sodného, L-argininu a L-citrulinu. [29]

2 PORUCHY CYKLU MOČOVINY

Poruchy cyklu močoviny jsou soubor vrozených a získaných metabolických chyb způsobených defektem genu kódujícím jeden z enzymů močovinového cyklu, ve kterém se tvoří močovina za odstraňování amoniaku vzniklého z rozkladu molekul obsahujících dusík. [26, 32, 33]

Vrozené metabolické poruchy mají celkovou četnost zhruba 1:1000 novorozenců, avšak poruchy močovinového cyklu jen 1:35000. Z toho okolo 14 % představuje porucha ASL, neboli citrulinemie typu 1, a okolo 16 % deficit ARG1. Dohromady v americkém Texasu, New Yorku, Michiganu, Kalifornii, Massachusetts, Severní Karolíně a Wisconsinu tvořily deficity těchto dvou enzymů 30 % ze všech poruch cyklu močoviny, zatímco u dat z Evropského registru a sítí pro metabolická onemocnění intoxikovaného typu tvořily deficity 31 % ze všech. [33, 34]

Poruchy proximálního cyklu močoviny zahrnují nedostatek enzymů N-acetylglutamátsyntázy, karbamoylfosfátsyntetázy nebo ornithintranskarnbamoylázy. Tyto tři reakce se odehrávají v jaterních mitochondriích. Distální poruchy jsou definovány jako poruchy zahrnující poslední tři kroky cyklu močoviny, kam patří deficit argininsukcinátsyntetázy, známý také jako citrulinemie typu 1, deficit argininsukcinátlyázy, známý pod názvem argininsukcinová acidémie, a deficit arginázy. [32]

V případě deficitu OTC, ASS, ASL či ARG1 karbamoylfosfát prostupuje mitochondriální membránou a funguje jako substrát pro syntézu kyseliny orotové. Ta se pak vylučuje močí, kdy její koncentrace může být zvýšena na hodnoty vyšší než 1 000 $\mu\text{g}/\text{mg}$ kreatininu. [3]

2.1 Klinický obraz

Klinické příznaky u poruch močovinového cyklu jsou způsobeny dvěma různými mechanismy. První jsou příznaky způsobené hyperamonemií, které se objevují bez ohledu na specifickou metabolickou poruchu. Za druhé jsou to specifické stavy spojené se samotnou metabolickou poruchou. Pozorované rozdíly mezi pacienty s jednotlivými poruchami jsou především nadbytek nebo nedostatek aminokyselin a/nebo metabolitů. Skutečné klinické projevy pak často také závisí na závažnosti metabolického defektu a stavu pacienta, který zahrnuje jeho pohlaví, věk, výživu a další přidružená onemocnění, například infekce. [35, 36]

Porucha cyklu močoviny se u pacienta může projevit v jakémkoliv věku. V určitých věkových obdobích je ovšem pravděpodobnější manifestace symptomů díky metabolickému

stresu, jako například infekce, která urychluje katabolismus bílkovin. Jedná se o novorozenecké období, období pozdního kojeneckého věku, při kterém dochází k zpomalení růstu a dochází k přechodu na kravské mléko a příkrmování při odstavení a klesajícímu množství mateřských protilátek a následným rozvojem interkurentních infekcí. Dále jde o období puberty, kdy dochází ke změně v tempu růstu a psychosociální faktory mohou urychlit dekompenzaci. [24]

Časné příznaky poruch jsou často nespecifické a z počátku je diagnóza snadno přehlédnutelná. Klinické obrazy jednotlivých onemocnění jsou často podobné, až na arginázu. Nejdůležitější při časném zachycení je hyperamonemie, na kterou je potřeba myslet. [24] Poruchy cyklu močoviny také mohou vést k poškození jater. Například deficit OTC je často spojován s akutním jaterním selháním, nebo deficit ASL s chronickým selháním a s cirhózou jater. [35, 36]

2.1.1 Neonatální projev

Většina miminek s poruchou cyklu močoviny se narodí s normální hmotností a z počátku vypadá zdravě. Po intervalu, který může být kratší než 24 hodin se jejich stav zhorší. Projevují se příznaky hyperamonemie. Důležitým diagnostickým vodítkem může být i mírná respirační alkalóza, která napomůže k odlišení od sepse, časté počáteční pracovní diagnózy. Jejich stav se ovšem může rychle zhoršovat a objevují se zjevnější neurologické a autonomní problémy, jako je hypotermie nebo ztráta normálních reflexů. Neléčené děti mohou umírat na krvácení do plic nebo do mozku bez rozeznání metabolické poruchy. Některé děti přežívají novorozeneckou hyperamonemii s doživotními komplikacemi. [24, 29]

U pacientů s deficitem arginázy se po novorozeneckém období může také vyskytnout i spasticita nohou a opožděný vývoj. Hyperamonemie se u takových pacientů vyskytuje pouze zřídka. Ta se ovšem projevuje výrazně například u pacientů s deficitem mitochondriálního ornithinového transportéru, který je nepostradatelnou součástí močovinného cyklu. [29]

2.1.2 Projev u dospívajících dětí a dospělých

U dětí, dospívajících a dospělých jedinců se může období projevení velmi lišit. U většiny pacientů se objeví příznaky během nebo krátce po prodělání infekce nebo jiné katabolické stimulace (například horačka, zvracení, průjem, operace) nebo po požití jídla s vysokým obsahem bílkovin. Příznaky mohou být rovněž dosti variabilní, často nespecifické. Mohou být rovněž nenápadné nebo epizodické po požití většího množství bílkovin. Často nalézáme náhlé nevysvětlitelné změny vědomí (snížená bdělost, somnolence) a nové neurologické nálezy (třes, podrážděnost, záchvaty). Příznaky mohou být mylně spojeny

s encefalitidou, intoxikací léky nebo také mozkovým nádorem. Někteří pacienti sami přejdou na nízkobílkovinnou dietu. I kojenci a děti mohou odmítat potravu s vysokým obsahem bílkovin, jako jsou ryby, maso nebo mléčné výrobky. [24]

2.2 Novorozenecký screening

Průběh mnoha vrozených chyb metabolismu je dobře charakterizován, a proto jsou tyto poruchy vhodné k identifikaci již při screeningu. V posledních desítkách let jsou zastaralejší metody analýzy aminokyselin nahrazovány metodou tandemové hmotnostní spektrometrie. Tato technika umožnila analýzu více aminokyselin v suché kapce krve a účinnou detekci více vrozených metabolických vad v jednom testu. Odhalení pacientů s těmito poruchami má jednoznačný pozitivní vliv na jejich léčbu. [32, 37]

U pacientů zachycených screeningovým testem se poté provádějí doplňkové testy, jako je analýza hladiny kyseliny orotové, analýza aminokyselin v plazmě a v moči a amoniaku v plazmě. Dále dle potřeby se provádí i enzymatické a molekulární testy. Další sledování a léčbu novorozenců s dědičnou poruchou pak ve Victorii v Austrálii zajišťuje centralizovaná klinická metabolická služba, která úzce spolupracuje s laboratořemi provádějícími novorozenecký screening. Ovšem australský stejně jako americký screening zahrnuje pouze deficit argininsukcinátsyntetázy, kde se stanovuje hladina citrulinu, a argininsukcinátlyázy, kde se stanovuje hladina argininosukcinátu. Z 847 418 testovaných novorozenců narozených ve Victorii, Austrálii bylo během 12 let nalezeno 8 pacientů s deficitem argininsukcinátsyntetázy a 8 pacientů s deficitem argininsukcinátlyázy. U žádného dítěte s normálním výsledkem novorozeneckého screeningu nebyl později diagnostikován deficit jednoho z enzymů. [37]

Tradiční novorozenecký screening se zaměřuje na měření biochemických markerů v krvi pacienta pomocí hmotnostní spektrometrie, což je velmi přesná metoda u nemocí, pro které máme marker. Existuje i možnost genomového sekvenování, které má potenciál transformovat programy novorozeneckého screeningu. Tato metoda je schopna současně analyzovat až stovky genů spojených s dědičnými chorobami. Ačkoliv tyto stavy jsou relativně vzácné, společně představují jak zdravotní, tak ekonomickou zátěž pro společnost a zdravotní systém. Přestože gNBS nabízí dřívější a rychlejší identifikaci mnohem širšího spektra onemocnění, existují značné právní, etické a sociální aspekty, které je potřeba zvážit před zavedením metody na úroveň populace. V současné době je metoda využívána jako dobrovolná alternativa k možnosti standartního novorozeneckého screeningu v Austrálii. Kontrolní skupina byla sestavena z dvou nezávislých celoaustralských skupin dobrovolníků straších 18 let pomocí

firmy Pureprofile. Pro zajištění reprezentativního vzorku veřejnosti byly zavedeny kvóty pro věk, pohlaví, příjem a geografickou polohu. [38]

Citrulin je jedna ze stanovovaných aminokyselina metodou LC-MS/MS. Je syntetizován hlavně v matrix mitochondrie hepatocytů. Jeho vysoké hodnoty poukazují na citrulinemii nebo na argininosukcinovou acidurii. Naopak jeho nízké hladiny mohou být při deficitech prvních dvou enzymů, karbamoylfosfátsyntetázy a ornithintranskarbamoylázy. Může se také jednat o deficit NAGS, N-acetylglutamátsyntetázy. Nejčastěji jsou však nízké hladiny citrulinu detekovány u předčasně narozených dětí nebo u dětí narozených s nemocí, například patologických stavů postihující tenké střevo (syndrom krátkého střeva). [39]

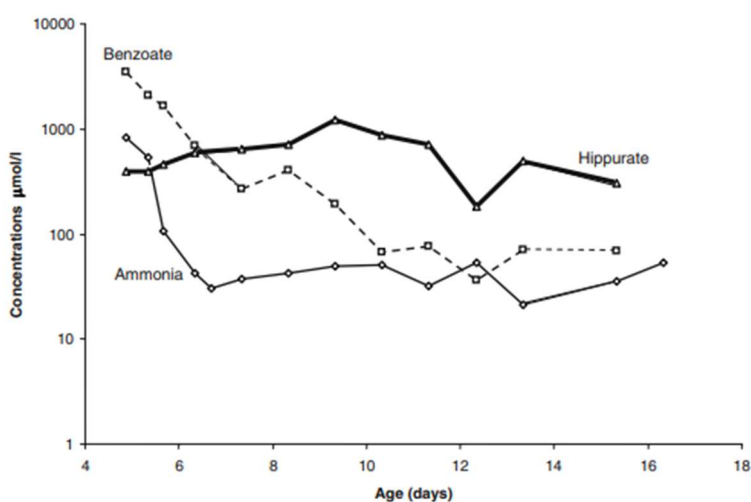
Prenatální testování je také jedna z metod dostupných pro testování ještě nenarozeného dítěte. Využívá se především při indikaci závažnosti poruchy a možnosti ukončení těhotenství či přípravy na prenatální péči. Genetické techniky sledování mutací pomocí vzorku z choriových klků či z plodové vody jsou využívány v prenatálním testování. Metoda má malé riziko pro plod. V plodové vodě lze také sledovat hladinu citrulinu a argininosukcinátu. [40, 41]

2.3 Léčba poruch cyklu močoviny

Správná diagnóza je nezbytná pro úspěšnou léčbu. Je-li v rodině již známá diagnóza, je vyšetření pacienta značně zjednodušené. Pokud pacient zemřel před ustanovením diagnózy, dochází ke komplikacím. Je zapotřebí odebrat vhodný vzorek a neprodleně provést další vyšetření. Při riziku neonatální hyperamonemie je důležité vědět před porodem, zda je dítě postiženo pro přijetí vhodných opatření. Při neprovedení prenatálního testování může matka souhlasit s odběrem plodové vody v pozdním stádiu těhotenství. Z toho vyšetření v některých případech nelze určit deficit CPS a OTC bez provedení molekulárně genetických testů. [42]

Při intenzivní péči je zapotřebí léčba hyperamonemie, která může rychle zhoršit stav pacienta. U dehydratovaných pacientů by se měl brát v ohledu sodík dodávaný z léku, aby nedošlo k mozkovému edému. Kojení novorozence je pravděpodobně méně významné než endogenní katabolismus při vyvolání hyperamonemie. Nicméně u závažných poruch by i tak měly být vynechány bílkoviny. Způsob porodu má také vliv na prevenci katabolismu. Provedení císařského řezu je spojeno s nižšími hladinami katecholaminů a kortizolu v porovnání s vaginálním porodem. Podnětem ke katabolismu je také pokles hladiny glukosy, proto je vhodné pacientovi po přerušení placentárního zásobování podávat glukosu intravenosně v dávce 6 až 8 mg/kg/min. Zpomalit katabolismu lze i pomocí léků. Oktreotid je

dlouhodobě působící analog somatostatinu. Potlačuje sekreci inzulínu a je používán při dlouhodobé léčbě hyperinzulismu. V kombinaci s infuzemi glukózy a inzulínem oktreotid potlačuje katabolismus bílkovin díky účinkům na glukagon, růstový hormon a kortizol. Při deficitu NAGS pak lze podávat N-karbamoylglutamat, alosterický aktivátor CPS1. Může být podáván i sourozencům preventivně nebo při hyperamonemii. Aktivace alternativních cest pro vylučování dusíku je pak dosaženo díky podání benzoátu sodného, fenylbutyrátu sodného nebo fenylacetátu sodného. Maximální rychlosti konjugace je při infuzním kontinuálním podání dosaženo až po několika dnech, jak je vidět na obrázku 7. Dialýza je nezbytně důležitá především při nedostatečné reakci na jinou léčbu. [42–44]



Obrázek 7 Sérové koncentrace amoniaku, benzoátu a hippurátu během dvou týdnů u novorozence s argininosukcinovou acidurií, převzato z [42]

2.3.1 Nutriční management pacientů

Cílem nutričního managementu je omezení příjmu bílkovin v potravě, dodání dostatečného množství energie, doplnění esenciálních aminokyselin, vitamínů a minerálů. Terapie spočívá v dietě s omezeným příjmem proteinů, doplněním esenciálními a podmíněně esenciálními aminokyselinami s vysokým obsahem aminokyselin s rozvětveným řetězcem, izoleucin, leucin a valin. Pro normální obrat nezbytných bílkovin musí být zajištěn dostatečný přísun energie, aby nedocházelo ke katabolismu tělesných bílkovin. [43–45]

2.3.1.1 Akutní léčba

Cílem akutní léčby je především snížit koncentraci amoniaku v krvi. Toho docílíme nejlépe dodáním dostatečného množství energie pro snížení katabolických pochodů v těle, dočasným omezením příjmu bílkovin a použitím léků. [45, 46]

2.3.1.2 Chronická léčba

Cílem chronické léčby je dosáhnout normálního vývoje pacienta, předcházení nedostatku esenciálních a podmíněně esenciálních bílkovin a normalizování hladiny amoniaku v krvi. Není neobvyklé, že rodina pacientovi nepodává všechny předepsané bílkoviny kvůli strachu z hyperamonemie. To je další důvod potřeby pravidelného sledování pacienta. [45, 47]

2.3.2 Transplantace jater

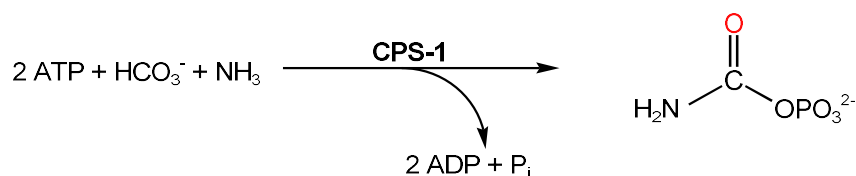
Jelikož játra jsou hlavním místem močovinového cyklu, při transplantaci jater dochází k obnovení funkce cyklu a aktivity enzymů. Tím se i eliminuje riziko hyperamonemie. Již první případy popsané v roce 1989 prokázaly, že transplantace jater dokáže normalizovat hladinu amoniaku v plazmě u pacientů s poruchou močovinového cyklu. Indikátory transplantace jater jsou především přetrvávající hyperamonemická krize i přes intenzivní léčbu alternativními způsoby. Výsledkem je normalizace metabolismu amoniaku, umožnění konzumace běžné stravy, prevence dalších neurologických onemocnění v důsledku hyperamonemie a celkové zlepšení úrovně života. Transplantace v kojeneckém věku je spojena s vyšším rizikem než u dospívajících pacientů. Ovšem s rozvojem technologie a vylepšení technik jsou rizika zhruba stejná. Naopak je nižší pravděpodobnost odmítnutí transplantátu a zlepšení neurovývojového a růstového potenciálu. Transplantaci by se mělo vyhýbat u dětí mladších 3 měsíců a s hmotností menší než 5 kg. Další nevýhodou je nemožnost dokončení očkovacího programu živými vakcínami. Při těžkém deficitu by měl být pacient zařazen do registru ve věku přibližně 6 let a po dokončení maximální lékařské a vakcinační terapie. [48, 49]

Během let 1989 až 2010 proběhlo v Japonsku 2224 transplantací jater s dětským příjemcem. Dárci byly vždy příbuzní k pacientovi, často rodiče. Pouze 8,7 % případů transplantace bylo indikováno kvůli metabolickému onemocnění. Z celkového počtu pacientů se 1 roku po transplantaci dožilo 88,3 %, 20 let 79,6 %. Věku 15 let se po transplantaci z důvodu poruchy cyklu močoviny dožije 95,9 % pacientů. [50]

3 VROZENÉ PORUCHY

3.1 Deficit CPS1

V prvním kroku se váže molekula amoniaku s bikarbonátem za vzniku karbamoylfosfátu, který vstupuje do ornithinového cyklu. Schéma reakce je na obrázku 8. Tento krok je katalyzován enzymem karbamoylfosfátsyntetázou, CPS1, která je kódována genem na dlouhém ramenu chromozomu 2 (2q25) obsahujícím 10 exonů kódujících prekursorový protein o 354 aminokyselinách. Důležitou součástí katalýzy je N-acetylglutamát, který funguje jako alosterický aktivátor CPS1. [2, 26, 40, 51]



Obrázek 8 První krok močovinového cyklu, převzato a upraveno [4]

Při nedostatku CPS1 nebo NAGS se snižuje nebo je úplně zastavena produkce citrulinu. Tato aminokyselina má pak nízkou koncentraci v krvi. Naopak neschopnost tvorby karbamoylfosfátu z amoniaku vede k jeho kumulaci a následné hyperamonemii. Důsledkem je pak využití amoniaku k syntéze glutaminu enzymem glutaminsyntetázou. Hladina glutaminu je pak zvýšená v krvi i v tkáních, což může nastat ještě před klinickými příznaky hyperamonemie a dále trvat i po jejím odeznění. V plazmě se mohou zvedat koncentrace i jiných neesenciálních aminokyselin, jako glycinu, serinu a glutamátu, které jsou vytvářeny z přebytečného amoniaku. Kromě hyperamonemie a vysoké hladiny glutaminu pak lze změřit i nízkou hladinu citrulinu v krvi. [40, 52]

Deficit karbamoylfosfátsyntetázy je vzácná autozomálně recesivní nemoc projevující se především jako život ohrožující hyperamonemie při velmi nízké nebo nulové aktivitě, při nižší aktivitě enzymu se může projevovat v mírnějších formách s pozdním nástupem. Četnost tohoto deficitu je zhruba 1 na 1 milion osob. Klinický obraz pacienta s deficitem CPS je k nerozeznání od pacientů s deficitem OTC. Byly zaznamenány i případy s nástupem klinických příznaků až v dospělosti. [6, 26, 35, 53]

Podle věku nástupu, klinických projevů a aktivity CPS1 rozlišujeme dva fenotypy, novorozeneckou formu a formu s pozdním nástupem. Pacienti s neonatálním nástupem se mohou jevit bezpříznakově i několik dní po porodu. Následně dochází ke špatnému krmení a novorozenec se stává letargickým. Projevuje se i hypotermie, zvracení, křeče a následně

i koma. Biochemický nálezn odhaluje těžkou hyperamonemii, nízké hladiny citrulinu a vysoké hladiny glutaminu v plazmě. V moči jsou pak nízké hladiny kyseliny orotové. Pacienti s pozdním nástupem vykazují obvykle méně závažné klinické projevy. [52]

U 26 pacientů s poruchou CPS1 byl analyzován jejich genetický materiál, DNA i RNA. Cílem bylo prozkoumat mutace vedoucí k nedostatku enzymu. Výzkum byl proveden v Vanderbilt University, Nashville, Tennessee, USA. U této skupiny pacientů bylo z 52 analyzovaných alel u 40 % zjištěny silné důkazy o mutaci silně ovlivňující RNA, s největší pravděpodobností prostřednictvím mechanismu nonsense-mediated decay. Tento mechanismus kontroly má za hlavní funkci detekovat a degradovat mRNA, pokud se v ní vyskytuje předčasný stop kodon. Tyto mutace nezpůsobují pouze produkci neaktivního proteinu, ale vedou i k degeneraci dané mRNA, čímž snižují množství dostupné pro translaci. [54]

3.1.1 Léčba

K léčbě deficitu CPS, podobně jako deficitu OTC, se používají nutriční omezení proteinů a podávání argininu/citrulinu a benzoátu sodného či fenylacetátu sodného. K diagnostice onemocnění se nejčastěji využívá genová analýza rodinných příslušníků. [35]

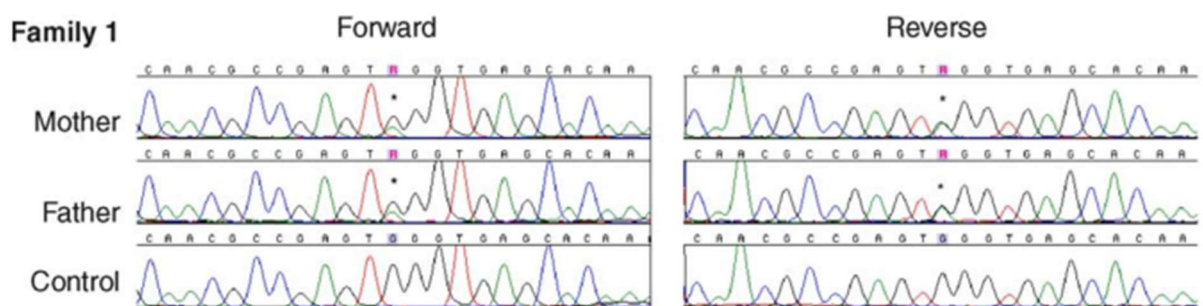
3.1.2 Deficit N-acetylglutamátsyntetázy

Pro správnou funkci karbamoylfosfátsyntetázy je nezbytná aktivace N-acetylglutamátem, NAG. V případě mutace genu N-acetylglutamátsyntetázy jsou klinické příznaky podobné až shodné s mutací CPS, jelikož dochází k sekundárnímu deficitu karbamoylfosfátsyntetázy. [35]

N-acetylglutamátsyntetáza je enzym zprostředkovávající syntézu N-acetylglutamátu. Tento alosterický aktivátor prvního a rychlost omezujícího kroku močovinového cyklu je syntetizován z L-glutamátu a acetyl-CoA v mitochondriích jaterních a střevových buněk. Enzym N-acetylglutamátsyntetáza byl purifikován z jater savců a jeho aktivita může být čtyřikrát až pětkrát zvýšena přidáním L-argininu. [55, 56]

Identifikace a klonování nejprve myšího a poté lidského genu NAGS umožňuje molekulární diagnostiku dědičné poruchy NAGS. První pacient, muž se narodil rodičům pocházejícím z Faerských ostrovů, kteří byli vzdálení příbuzní (přibližně pět generací). Těhotenství i porod byly bez komplikací, ovšem po 16 hodinách se objevilo chrčení při dýchání a dítě se stalo neklidným. Lékařské vyšetření odhalilo zrychlené dýchání. Jeho krevní obraz, sérová glukosa i elektrolyty byly v normě. Byla provedena kultivace krve, moči a rentgen hrudníku. Vše bylo negativní. Měření amoniaku v nemocnici nebylo k dispozici. Během

následujících dvou dnů se stav dále zhoršoval, objevila se hypertonie a hypotermie a byla změřena alkalóza s pH 7,56 a pCO₂ 31 mmHg. Kojenec poté upadl do kómatu a zemřel ve věku 4 dnů. Pitva neodhalila žádné abnormality, před smrtí odebraná moč neobsahovala citrulin, argininosukcinát ani kyselinu orotovou, a aminokyseliny v plazmě byly výrazně abnormální. Byla hlášena extrémně zvýšená hladina glutaminu a alaninu, což naznačuje právě hyperamonemii. Pitva jaterní tkáně byla provedena Dr. B. Wemuthou z Brenu, Švýcarsko. Aktivita CPS1 byla 30,7 U, normální je >12 U, bazální aktivita NAGS byla 10 U, normální >34 U, a argininem stimulovaná aktivita NAGS byla 20 U, normální je >144 U. Výsledky poukazyvaly na deficit NAGS jako pravděpodobnou příčinu poruchy cyklu močovinový. Tkáň ani jiná DNA nebyla dostupná přímo od pacienta, proto byla k analýze použita genomová DNA z krve obou rodičů. Sekvence genetického kódu odhalila, že oba rodiče byli heterozygoti nesoucí škodlivou mutaci v exonu 4, která změnila TGG kódující tryptofan na TAG kódující zastavení translace. Sekvence DNA je zobrazena na obrázku 9, kde je mutace zaznamenána hvězdičkou. Předčasné zastavení translace má za důsledek zkrácení peptidu, kterému chybí karboxyterminální polovina. Zajímavé je, že aktivita NAGS v játrech byla pouze výrazně snížena, ačkoliv nalezená mutace naznačuje, že by měla enzymatická aktivita být nulová. Nemá jasně, zda se jedná o nespecifitu enzymatického testu či jestli mají jiné enzymy nízkou aktivitu NAGS v nefyziologických podmínkách. Přeskočení mutaci obsahujícího exonu při zpracování RNA by mělo za následek ztrátu 13-aminokyselinového motivu, což by činilo obnovu malého množství zbytkové aktivity enzymu extrémně nepravděpodobnou. [55]

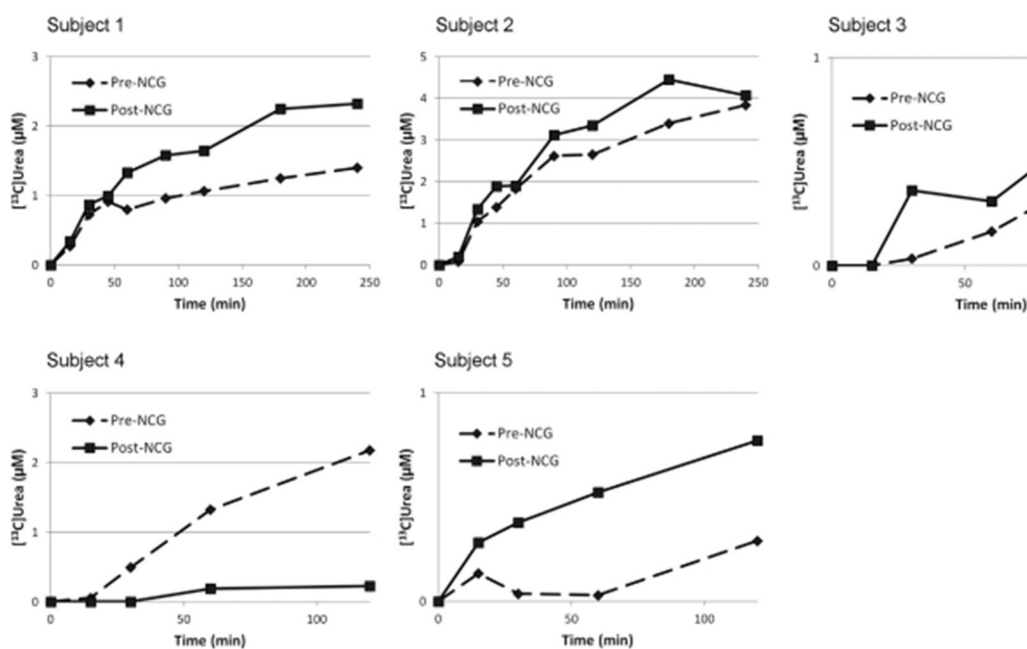


Obrázek 9 DNA sekvence exonu 4 genu NAGS postižené rodiny, převzato z [55]

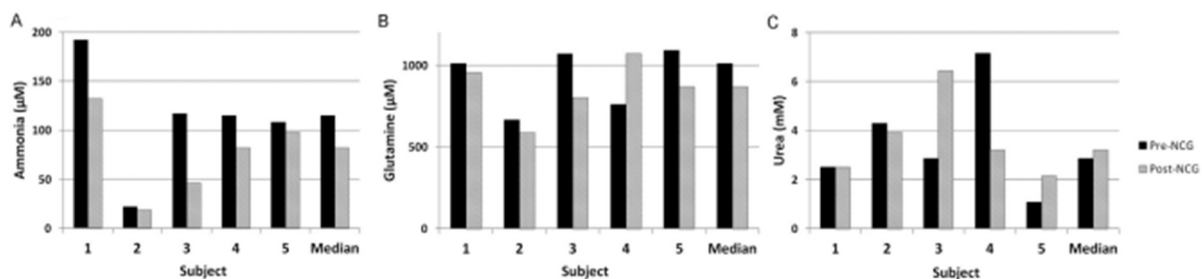
Jde o jednu z nejvzácnějších dědičných poruch močovinového cyklu a její léčba zahrnuje omezení příjmu bílkovin a podávání argininu a karbamoylglutamátu, což je analog N-acetylglutamátu. Koncentrace NAG závisí také na příjmu proteinů v dietě, koncentraci argininu a kortikosteroidů. [2, 35]

3.1.3 Supplementace NAG

Byla vytvořena hypotéza, že někteří pacienti s částečným deficitem CPS1 by mohli reagovat na podání N-karbamoyl-L-glutamátu. Byla provedena třídní studie u 5 subjektů s pozdním nástupem. Pacientům byla podána NCG 100 mg/kg/den, pokud pacient vážil pod 25 kg, bylo množství rozděleno do 4 dávek. Ke sledování ureageneze byla použita přeměna [1-13C] acetátu na [13C] močovinu pomocní hmotnostní spektrometrie izotopových poměrů. Dále byly sledovány hladiny amoniaku, glutaminu a močoviny v krvi. Po nočním hladovění byla pacientovi odebrána heparinizovaná krev a podána dávka vodného roztoku [1-13C] octanu sodného. Byly odebrány 4 vzorky po 15 minutách do první hodiny, 2 vzorky po 30 minutách do druhé hodiny a poslední 3 hodiny po podání. U pacientů do 5 let byly vzorky odebrány pouze po 15, 30, 60 a 120 minutách. Obrázek 10 pak znázorňuje hladinu [13C] močoviny před a po podání NCG. Po třech dnech podávání NCG vykazovali všichni pacienti kromě pacienta 4 v každém časovém bodě po 15 minutách vyšší hladinu [13C] močoviny. Hladiny amoniaku, glutaminu a močoviny jsou zaznamenány na obrázku 11, kde každý sloupec představuje jednoho pacienta. Z obrázku vyplývá, že u pacientů s původním zvýšeným amoniakem se objevila reakce na podání NCG. Celkový medián ukazuje na snížení z 115 mmol/l na 82 mmol/l. Medián celkového glutaminu pak také poklesl, z 1009 mmol/l na 868 mmol/l, ale u pacienta 4 se hladina zvýšila. Podobně na tom je i močovina v plazmě. U pacienta 3 se po ukončení vrátila hladina na původní hodnotu mezi 70–80 mmol/l. Kvůli nízké toleranci vyšších dávek fenylobutyrate sodného a slibným výsledkům této studie bylo obnoveno podávání NCG a hladina amoniaku se vrátila na nižší hodnotu do 3 dnů. Fenylobutyrate sodný byl pomalu vysazován během dvou měsíců. U pacienta 4 došlo po podání NCG ke snížení [13C] močoviny. Nebyly identifikovány žádné technické příčiny tohoto pozorování, proto je tato paradoxní reakce přiřazována subjektivním vlivům, jako jsou subklinické onemocnění nebo změna ve stravě. [57]



Obrázek 10 Koncentrace $[^{13}\text{C}]$ močoviny v plazmě u 5 pacientů s částečným deficitem CPS1 po podání $[1-^{13}\text{C}]$ před a po podání po podání NCG octanu, převzato z [57]



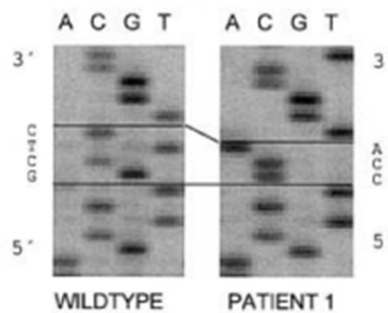
Obrázek 11 Hladiny amoniaku (A), glutaminu (B) a močoviny před a po podání NCG, převzato z [57]

3.1.4 Popis případu deficitu CPS1

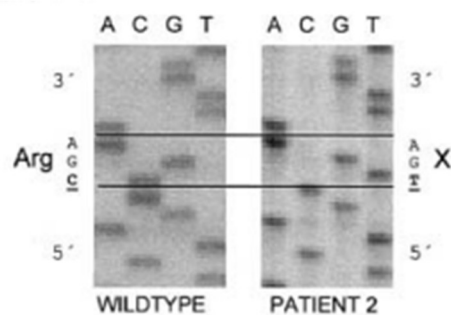
Pacientka, 27 let, podruhé těhotná. Poprvé otěhotněla ve 23 letech, porodila vaginálně v 38. týdnu a 6. dni. Čtvrtý den po porodu byla převezena do nemocnice k urgentnímu vyšetření se zhoršenou úrovní vědomí. Magnetická rezonance, tomografie hlavy ani elektroencefalogram neprokázal žádné abnormality. Krevní testy prokázaly zvýšenou hladinu amoniaku, 262 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Sedmý den po porodu byla zahájena hemodialýza a hladina amoniaku poklesla na 22 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Jedenáctý den po porodu byla hemodialýza zastavena. Klinické příznaky včetně snížené úrovně vědomí se zlepšily. Výsledek analýzy aminokyselin v krvi byl následující: citrulin 5,2 nmol/ml (ref. 29,8–49,0 nmol/ml) a glutamin 821,1 nmol/ml (ref. 478,3–658,5 nmol/ml). Výsledky naznačovaly enzymatický deficit v močovinovém cyklu, proto byla provedena biopsie jaterní tkáně. Histologické nálezy odhalily normální aktivitu OTC ale minimální až nulovou aktivitu CPS. Pacientce byl tedy diagnostikován deficit CPS. Pacientce byla zavedena dieta s restrikcí

proteinů a suplementace argininu. Pacientka byla ambulantně sledována bez změn. Ve věku 26 let pacientka znovu otěhotněla a 8 dní po porodu císařským řezem byla převezena do nemocnice k urgentnímu vyšetření kvůli letargii. Hladina amoniaku byla 233 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Pomocí hemodialýzy byla hladina snížena na 33 $\mu\text{g}/\text{dl}$, pacientce byla zavedena proteinová restrikce a ambulantní sledování. Během následujícího roku nedošlo k žádnému zvýšení hladiny amoniaku. [58]

Další případ dvou bratrů trpících defektem CPS1, kdy byla provedena sekvenace DNA u obou pacientů. Byla klonována celá oblast kódující CPS1. V prvním případě došlo k deleci čtyř párů bází (GCTC) a následné inzerci tří párů bází (CCA). To vedlo ke ztrátě jednoho páru bází, tím se posunul čtecí rámeček a na pozici 743. aminokyseliny se vytvořil stop kodon. Záměna je znázorněna na obrázku 12. U případu 2 došlo k záměně cytosinu za thymin a vytvoření předčasného stop kodonu. Mutace je zobrazena na obrázku 13. [51]



Obrázek 12 Sekvenční analýza genu kódující CPS1 – záměna čtveřice párů bází za trojici u pacienta 1, převzato a upraveno z [51]

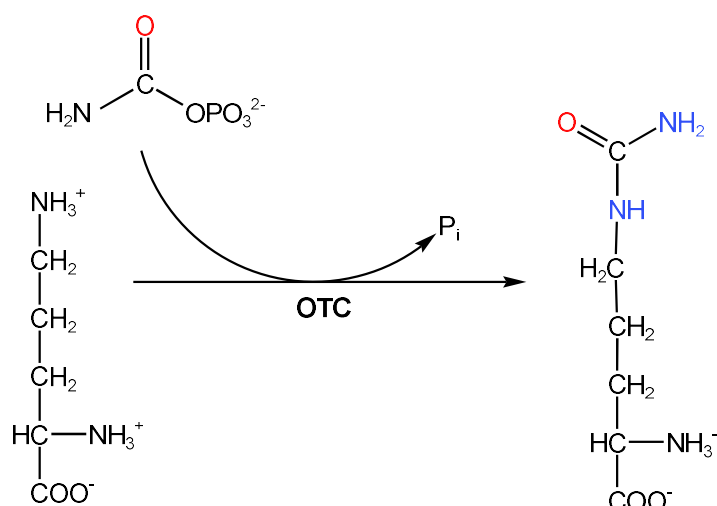


Obrázek 13 Sekvenční analýza genu kódující CPS1 – záměna cytosinu za thymin u pacienta 2, převzato a upraveno z [51]

3.2 Deficit OTC

Enzym ornithintranskarbamoyláza katalyzuje syntézu citrulinu z karbamoylfosfátu a ornithinu. Schéma reakce je na obrázku 14. Tento enzym je kódován na krátkém ramenu X chromozomu (Xp21.1), jeho lidský gen má 73 kb, skládá se z deseti exonů a devíti intronů [59]. Jeho nedostatek se u mužů projevuje jako závažnější klinické příznaky, obvykle už v mladším

věku než u žen. V souladu s tímto tvrzením jsou pacienti s neonatálním výskytem až na výjimky muži. U nejzávažnějších případů je zvýšení hladiny amoniaku během jednoho až dvou dní po narození a mezi typické příznaky také patří respirační selhání, záchvaty, které se podobají novorozenecké sepsi a ztráta vědomí. Mírnější příznaky jsou pak pozorovány u heterozygotních žen, které jsou ve skutečnosti často pouze nositelky nemoci, v závislosti na inaktivaci X chromozomu. Příznaky u mužů pak mohou zahrnovat hyperamonemii. U pacientů s pozdním nástupem deficitu OTC se mohou vyskytovat epizodické příznaky, jako nevolnost, zvracení, ztráta vědomí a záchvaty. Akutní hyperamonemie se ovšem také může kdykoliv objevit. Laboratorní nálezy během epizod zahrnují zvýšené koncentrace glutaminu a alaninu v plazmě spolu s velmi zvýšenou kyselinou orotovou v moči. Hladina citrulinu v krvi je pak snížena. Definitivní diagnóza se pak stanovuje genetickou analýzou, měřením aktivity enzymu OTC v játrech anebo kombinací těchto metod. [35, 40, 60]



Obrázek 14 Druhý krok močovinového cyklu, převzato a upraveno [4]

Bez ohledu na míru deficitu OTC, krizové faktory a životospráva může vyvolat hyperamonemickou krizi. Ta je život ohrožující v jakémkoliv věku a situaci. Prvním krokem v léčbě je rychlé snížení hladiny amoniaku pomocí aktivace alternativních cest vylučování amoniaku a zastavení katabolismu. Tím se sníží riziko neurologického poškození. Dlouhodobým cílem léčby je pak podpoření růstu a zabránění hyperamonemickým epizodám. U závažných případů deficitu se provádí transplantace jater ve věku šesti měsíců. U částečného deficitu se transplantace zvažuje pouze v případě, že se objevují časté epizody hyperamonemie. V případě komplikací deficitu OTC, jako je opožděný vývoj nebo mentální postižení se tyto příznaky léčí dle standardní léčby. Laboratorní analýza nedostatku vitamínů a minerálů se provádí jednou ročně a funkce jater se hodnotí každé tři až šest měsíců či častěji. Pokud je

v rodině patogenní varianta známá, je vhodné provést vyšetření všech novorozenců co nejdříve po narození pomocí molekulárně genetických metod. Pokud v rodině patogenní varianta není známá, je vhodné provést biochemické testy (aminokyseliny v plazmě, hladina amoniaku), test s alopurinolem a u mužů měření aktivity OTC enzymu v jaterní tkáni. Heterozygotní těhotné ženy jsou pak vystaveny riziku především v poporodním období. [61, 62]

3.2.1 Diagnóza

Diagnóza je zjednodušená díky využití genetických markerů založených na intragenních polymorfismech délky restrikčních fragmentů. Při mutaci sekvence DNA může dojít k vytvoření nového rozpoznávacího místa pro restrikční enzym nebo k zrušení stávajícího místa. To má za následek vznik fragmentů s rozdílnou délkou než u nezmutované DNA. Touto metodou lze stanovovat až 80 % nositelů a lze určit prenatální diagnostiku plodu. Diagnóza nosičů je také možná pomocí stanovení s proteiny, při nich se jako marker používá vylučování kyseliny orotové močí. Tento přístup detekuje 85 % až 90 % nosičů. Asymptotičtí heterozygoti pak tvoří močovinu normální rychlostí, ale mají zvýšenou produkci glutaminu. Metabolismus dusíku je tedy abnormální i u těchto jedinců. [59]

3.2.2 Popsání případu ze Španělska

Novorozenec, 41 měsíců a 3 týdny po narození, byl přijat na jednotku intenzivní péče kvůli rozvoji záchvatů a dechových depresí. 48 hodin po propuštění opět nařikal, byl prochladlý, potil se, odmítal stravu a měl toxické záchvaty. Pacientovi byl rektálně podán diazepam. Později se u něj projevila bledost kůže, žloutenka a generalizovaná hypotonie. Nereagoval na stimulační podmět. [23]

Byla naměřena zvýšená hladina kyseliny mléčné (11,5 mmol/l, ref.: 0,5–1,5) a amoniaku (2025 μ mol/l, ref.: <150). Byly vyžádány další testy kvůli podezření na metabolickou poruchu. Aminokyselinový profil pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie odhalil zvýšené hladiny glutaminu, alaninu, ornithinu, lysinu a až nedetekovatelnou hladinu citrulinu. Naměřené hodnoty a koncentrace jsou uvedeny v **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.** [23]

Tabulka 1 Naměřené hodnoty aminokyselinového profilu pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie, převzato a upraveno [23]

	Naměřená koncentrace (μmol/l)	Referenční hodnoty (μmol/l)
Glutamin	1740	371–641
Alanin	740	216–443
Ornithin	391	43–118
Lysin	401	99–209

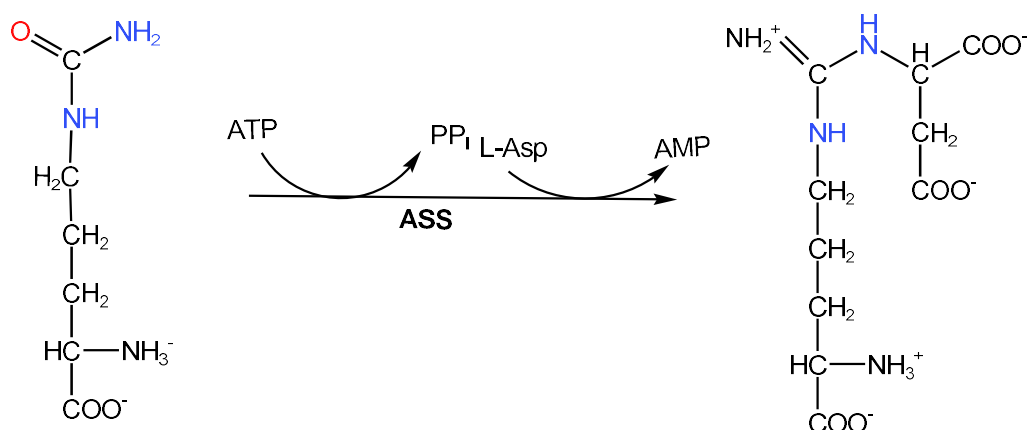
Jako druhý stupeň úrovně testů byla vyžádána kyselina orotová v moči kvůli podezření na poruchu cyklu močovininy. Její hladina byla 792 mmol/mol kreatininu (ref: 0,1–3,7). Krom toho bylo vyžádáno genetické vyšetření pacienta a byla zjištěna hemizygotní vada (c.790ANC, p. Thr264Pro) v genu pro ornithintranskarbamoylázu. Tato mutace nebyla do té doby v literatuře popsána, proto výsledek nepotvrdil ani nevyloučil deficit OTC. Při vyšetření příbuzných a matky, vzhledem k X vázané recesivní dědičnosti, byla nalezena stejná mutace, která potvrdila diagnózu deficitu OTC. [23]

3.2.3 Popis léčby deficitu OTC pomocí transplantace jater

Čtyřletá dívka byla hospitalizována s trvající podrážděností a silným zvracením. Zjištěná hyperamonemie byla léčena benzoátem sodným, fenylbutyrátem sodným a omezením příjmu bílkovin. Sekvenací genu OTC byla zjištěna heterozygotní mutace zděděná po otci. Ten byl i přes mutaci asymptomatický. Starší sestra pacientky měla opakované poruchy vědomí a později zemřela. I ona měla zděděnou mutaci. Během hospitalizace pacientky se její hladina amoniaku zvýšila na 443,6 mmol/l během 8 dní. Byla provedena terapeutická výměna plazmy, která částečně vyřešila symptomy. Bylo přistoupeno k transplantaci jater. Dostupnost od zemřelého dárce byla nejistá a rozdílná krevní skupina vylučovala matku jako dárce. Předchozí studie ukázaly, že u příjemce jater od asymptomatického dárce s mutací se nerozvinou specifické komplikace. Proto byl využit otec jako živý dárce. Na kontrole po šesti měsících od operace mělo dítě normální hladinu amoniaku i jaterní funkce. Tento případ dokazuje bezpečnost využití bezpříznakového heterozygotního nosiče deficitu OTC jako živého dárce při transplantaci jater. [63]

3.3 Deficit ASS1

Argininsukcinátsyntetáza je enzym katalyzující kondenzaci citrulinu a aspartátu na argininosukcinát. Schéma reakce je na obrázku 15. Tento enzym je kódován na 9. chromozomu a má 16 exonů. Bylo popsáno více než 93 mutací tohoto genu, nejčastěji missense mutace. Deficit ASS1 je autozomálně recesivní onemocnění. Vzhledem k tomu, že dochází k hromadění citrulinu, je nemoc také známá pod názvem citrulinemie I. Kromě zvýšené hladiny citrulinu lze také naměřit zvýšenou koncentraci amoniaku, glutaminu a kyseliny orotové v moči. [2, 40, 64]



Obrázek 15 Třetí krok močovinového cyklu, kondenzace citrulinu s aspartátem na argininosukcinát, převzato a upraveno z [4]

Odhadovaná frekvence onemocnění je 1 z 57 000 živě narozených dětí. [65, 66] Například v Argentině je odhadované nosičství mutace 1 z 25. Citrulinemie II je mutace v genu SLC25A13, který kóduje protein citrin, transportér přenášející L-aspartát přes mitochondriální membránu. Nejvíce pacientů postižených touto nemocí je v Japonsku. Případy citrulinemie I jsou pak zaznamenány i v Evropě a Americe. Citrulinemie II má podobné příznaky a laboratorní nálezy jako citrulinemie I, proto se k diagnóze využívá měřená aktivity ASS. [64–68]

Klinický průběh neléčené neonatální formy citrulinemie má typický a konzistentní průběh. Z 18 případů dětí trpících citrulinemií I jich 12 zemřelo ve věku méně než 2 týdny, 4 děti do 9 měsíců od narození a dvě přežily do 26, respektive do 32 měsíců. Přežití u pozdního nástupu je vyšší. [69]

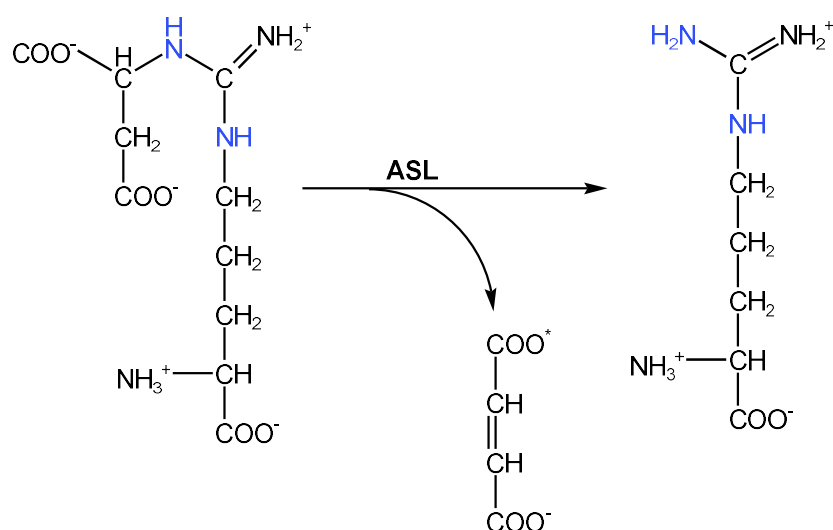
3.3.1 Popis případu neonatální citrulinemie

Chlapec se narodil ve 40. týdnu těhotenství pětadvacetileté matce. Porod proběhl doma bez větších komplikací za pomoci certifikované porodní asistentky. Čtvrtý den po narození projevil nechut k jídlu. Po převezení do nemocnice byla naměřena zvýšená hladina C-reaktivního proteinu. Sepse byla vyloučena pomocí kultur z krve a lumbální punkce. Při

prvním vyšetření byl pacient bdělý, druhý den byl v letargickém stavu. Hladina amoniaku dosáhla 586 $\mu\text{mol/l}$. Následující den přesáhla hladina hodnotu 1000 $\mu\text{mol/l}$. Kojenec byl intubován a léčen benzoátem sodným s fenylacetátem sodným. Také díky hemodialýze byla hladina amoniaku snížena pod 200 $\mu\text{mol/l}$ následující den. Analýza aminokyselin v krvi potvrdila citrulinemii. Pacient byl po 18 dnech v péči propuštěn domů se suplementovanou stravou doplněnou o arginin a fenylbutyrát sodný. [65]

3.4 Deficit ASL

Čtvrtou reakcí v močovinovém cyklu je enzymaticky katalyzovaný rozklad argininosukcinátu na arginin a fumarát, jak je vyobrazeno reakčním schématem na obrázku 16. Fumarát pak může odcházet do citrátového cyklu. Deficit argininosukcinátlyázy je druhá nejčastější vrozená porucha močovinového cyklu. Gen kódující ASL byl identifikován na 7. chromozomu, má 16 exonů a zhruba 35 kb. Deficit ASL je autozomální recesivní onemocnění nazývané argininosukcinaturie. Může se vyskytovat v neonatální formě a ve formě s pozdním nástupem. U pacientů trpících touto nemocí se kromě neurologických projevů způsobených hyperamonemií může vyskytnout i jaterní onemocnění, které se jeví jako nezávislé na defektu v ureogenezí. Zvýšení jaterních enzymů bylo zaznamenáno i u pacientů léčených omezením bílkovin a suplementací argininu bez zaznamenání hyperamonemie. Vzhledem k teoretické toxicitě argininosukcinové kyseliny na hepatocyty může mít snížení její hladiny v plazmě potenciální přínos. [70]



Obrázek 16 Čtvrtá reakce močovinového cyklu, rozpad argininsukcinátu na arginin a fumarát, převzato a upraveno [4]

Mezi biochemické nálezy patří hyperamonemie. Analýza plazmových aminokyselin může odhalit i zvýšenou koncentraci citrulinu, argininsukcinátu a jeho anhydridů. Vylučování

kyseliny orotové je obvykle v normálním rozmezí, někdy se ovšem může objevit orotová acidurie. Hladiny alaninu a glutaminu mohou být také zvýšené, což ukazuje na nedostatečné odbourávání dusíku. [17]

Jelikož se ASL skládá ze čtyř podjednotek, patogenní mutace zahrnují nonsense a missense bodové mutace, inserce a delece. To může ovlivňovat jejich schopnost navzájem se doplňovat. Tyto mutace jsou často přenášeny v rodinách. Existují i mutace s efektem zakladatele. U první mutace ve finské populaci dochází k nahrazení pozitivně nabitého argininu za cystein v blízkosti aktivního místa enzymu. Cystein pak nedokáže interagovat s negativně nabitým glutaminem a stabilizovat karboxyterminální helixový svazek proteinu. Ta se měří pomocí inkorporace [14C]citrulinu do proteinu. Druhá zakladatelská mutace se pak vyskytuje u lidí z Království Saúdské Arábie a vede k předčasnému stop kodónu. [17, 71]

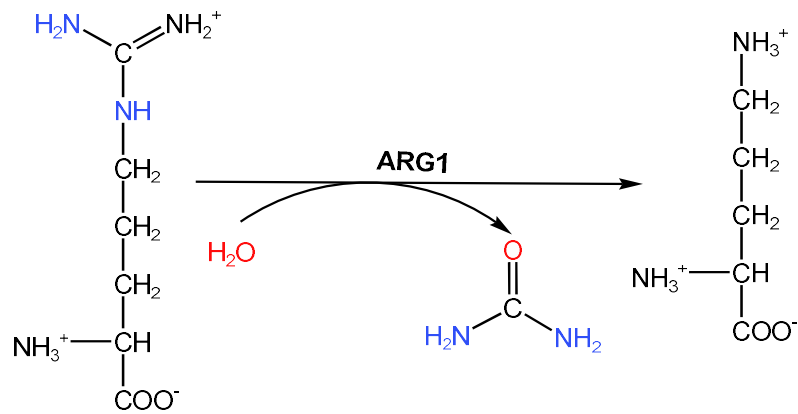
3.4.1 Genetická a funkční korekce ASL editace bází

Finská studie zkoumala upravení genu ASL pomocí adeninových editorů bází, ABE, v kombinaci s doručením prostřednictvím lipidových nanočástic. Vědcům se úspěšně podařilo vygenerovat homozygotní kmenové buňky postižené finskou zakladatelskou mutací, kterou má 70 % pacientů s deficitem ASL ve Finsku. Poté provedli editaci pomocí ABE, která katalyzuje přechod adeninu na thymin a guaninu na cytosin bez nutnosti vytvářet dvouvláknové zlomky DNA. Kmenové buňky byly následovně diferenciovány na hepatocytům podobné buňky. Tento přístup byl dále testován na fibroblastech, aby se ověřila účinnost editace a obnova aktivity enzymů. To ukázalo že byl vyvinut účinný přístup k editaci genu pro ASL. [71]

3.5 Deficit ARG1

Argináza je poslední z enzymů močovinového cyklu. Je zodpovědný za hydrolýzu argininu za vzniku močoviny a ornithinu. Schéma reakce je na obrázku 17. V nejvyšší koncentraci je přítomna v játrech, kde dochází k tvorbě močoviny. První zdokumentovaný případ deficitu ARG1 byl publikován v roce 1970, přičemž se jednalo o případ dvou sester. [72]

Deficit ARG1 je pak vzácné metabolické autozomálně recesivní onemocnění vyznačující se zvýšenou hladinou L-argininu a jeho metabolitů v krvi. Přítomna je i hyperamonemie a její projevy, jako je neurologické a motorické zhoršení ovlivňující pohyblivost, opožděný růst, záchvaty a předčasná smrt. Jedná se o méně častou poruchu močovinového cyklu. [73, 74]



Obrázek 17 Hydrolýza argininu na ornithin a močovinu, přejato a upraveno [4]

Klinický obraz se u jednotlivých pacientů může značně lišit. Společný mají často normální vývin až do 1. až 3. roku, kdy se objevují první příznaky. První příznaky jsou podobné například mozkové obrně, proto velmi často dochází k opožděné nebo chybné diagnostice, přesto že existují snadné diagnostické metody. Jedna z metod je stanovení hladiny argininu v krvi. Ukázalo se, že pokud začne léčba ihned po narození, lze oddálit nástup příznaků. Vyšší hladina L-argininu po porodu může pocházet z matčiny krve, proto dochází k maskování onemocnění při novorozeneckém screeningu. Vysoce progresivní povaha onemocnění a náročnost péče jsou stresující a mají velký dopad na kvalitu života pacienta i jeho pečovateli. [73–76]

Gen kódující ARG1 zahrnuje oblast o velikosti 15 kb a má 8 exonů na chromozomu 6q23. Existuje nejméně 43 potenciálně chorobných mutací, z nichž 18 jsou missense mutace a 5 nonsense mutace. Deficit ARG1 je hlášen u jedinců arabského, íránského, korejského, portorikánského, čínského, italského, japonského a hispánského původu, s tím, že polovina hlášení jsou heterozygoti. Kvůli nízké četnosti deficitu byly pokusy o genotypizaci a fenotypizaci provedeny pouze v malém množství. [74]

4 ZÍSKANÉ PORUCHY

Přestože poruchy močovinového cyklu jsou primárně dědičné genetické poruchy, může dojít k snížení produkce enzymu. Játra, jako největší metabolicky aktivní orgán, jsou velmi důležitá pro správnou funkci cyklu močoviny. [36]

Při transplantaci jater z asymptomatického dárce se může u příjemce projevit daný deficit. Klinické důsledky jsou ovšem hlášeny zřídka, proto není frekvence přenosu při transplantaci orgánů známá. V USA byl zaznamenán případ, kdy 59letá žena podstoupila transplantaci jater z důvodu terminálního stádia cirhózy. V anamnéza měla také cukrovku, hypotyreózu, spánkovou apnoe a také podstoupila bypass žaludku. Po operaci byla pacientka při vědomí, tolerovala stravu a měla jasnou mentální kondici. Náhle druhý den se stala nereagující, při počátečním vyšetření nebyly zaznamenány žádné akutní metabolické abnormality. Po převezení na jednotku intenzivní péče byla provedena počítačová tomografie, která odhalila edém mozku. Hladina amoniaku byla 608 $\mu\text{mol/l}$. Po přezkoumání anamnézy dárce byl odhalen deficit OTC. Po léčbě a hemodialýze byla zvážena retransplantace jater, avšak navzdory široké podpůrné péči se neurologický stav pacientky zhoršil a 4. den po transplantaci splňovala kritéria mozkové smrti. Podpora života byla ukončena. [77]

Byl také zaznamenán případ chronické nekrotizující pankreatitidy související s alkoholem u ženy ve středním věku z USA. Vyšetření odhalilo závažnou a rezistentní hyperamonemii dosahující hodnot 265 $\mu\text{mol/l}$. Metabolicko-genetické vyšetření odhalilo zvýšenou hladinu glutaminu, kyselinu orotovou v moči a nízkou hladinu citrulinu, klinický obraz konzistentní s deficitem OTC či CPS1. Genetické sekvenování bylo negativní pro jakoukoliv genetickou příčinu hyperamonemie. Z tohoto důvodu byla považována chronická pankreatitida jako příčina dysfunkce močovinového cyklu. [78]

ZÁVĚR

Močovinový cyklus hraje klíčovou roli v detoxikaci neurotoxického amoniaku v těle, přeměňující jej na močovinu. Poruchy tohoto cyklu jsou závažná vrozená metabolická onemocnění, která při neléčení vedou k hyperamonemii. Ta může mít za následky opoždění vývoje, poškození mozku až předčasné úmrtí, zejména u novorozenců. Závažnost a nástup symptomů souvisí se zbytkovou aktivitou enzymů a specifickými genetickými mutacemi.

Pro diagnózu je nezbytný novorozenecký screening ale i přesné a rychlé měření hladiny amoniaku v krvi. U pacientů s rodinou anamnézou je nezbytné sledování již od narození pro případ opožděných projevů. Poté se provádí genetické testování k potvrzení genové mutace v sekvenci kódující daný enzym. Včasná diagnóza je velmi důležitá při novorozenecké formě, která často vyústí v úmrtí pacienta ještě před identifikací deficitu.

Léčba těchto onemocnění je založená na prevenci expozici amoniaku, v akutních případech i pomocí dialýzy. Jinak se přistupuje k omezení příjmu bílkovin a užívání léků, čímž ovšem léčíme příznaky deficitu. Léčba přímo deficitu se provádí většinou pomocí transplantace jater, což je nejúčinnější cesta, která vede i ke zlepšení kvality života pacienta. V případě deficitu NAGS je velmi účinná i suplementace N-acetylglutamátu. K efektivní léčbě je ovšem nejdůležitější rychlá a správná diagnóza deficitu daného enzymu.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] SCHUTZ, Y. Protein Turnover, Ureagenesis and Gluconeogenesis. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* [online]. 2011, 2011-03-01, **81**(23), 101-107 [cit. 2025-04-18]. ISSN 0300-9831. Dostupné z: doi:10.1024/0300-9831/a000064.
- [2] TAKIGUCHI, M. a M. MORI. Transcriptional regulation of genes for ornithine cycle enzymes. *Biochemical Journal* [online]. 1995, 1995-12-15, **312**(3), 649-659 [cit. 2025-03-22]. ISSN 0264-6021. Dostupné z: doi:10.1042/bj3120649.
- [3] BATSHAW, M. L. Hyperammonemia. *Current Problems in Pediatrics* [online]. 1984, **14**(11), 6-69 [cit. 2025-04-17]. ISSN 00459380. Dostupné z: doi:10.1016/0045-9380(84)90047-1.
- [4] SKÁLOVÁ, L., B. SZOTÁKOVÁ a M. NETOPILOVÁ. *Základní biochemické dráhy v buňce*. Karolinum, 2022. ISBN 978-80-246-2681-9. Dostupné také z: <https://www.bookport.cz/kniha/zakladni-biochemicke-drahy-v-bunce-12147/>.
- [5] AHUJA, V. a S. G. POWERS-LEE. Human carbamoyl-phosphate synthetase N - acetylglutamate interaction and the functional effects of a common single nucleotide polymorphism: Insight into N -acetylglutamate interaction and the functional effects of a common single nucleotide polymorphism. *Journal of Inherited Metabolic Disease* [online]. 2008, **31**(4), 481-491 [cit. 2025-06-05]. ISSN 0141-8955. Dostupné z: doi:10.1007/s10545-008-0913.
- [6] PEKKALA, S., A. I. MARTÍNEZ, B. BARCELONA, I. YEFIMENKO, Ulrich FINCKH, Vicente RUBIO a Javier CERVERA. Understanding carbamoyl-phosphate synthetase I (CPS1) deficiency by using expression studies and structure-based analysis. *Human Mutation* [online]. 2010, **31**(7), 801-808 [cit. 2025-06-09]. ISSN 10597794. Dostupné z: doi:10.1002/humu.21272.
- [7] DÍEZ-FERNÁNDEZ, C., J. GALLEGO, J. HÄBERLE, J. CERVERA a V. RUBIO. The Study of Carbamoyl Phosphate Synthetase 1 Deficiency Sheds Light on the Mechanism for Switching On/Off the Urea Cycle. *Journal of Genetics and Genomics* [online]. 2015,

- 42(5), 249-260 [cit. 2025-06-09]. ISSN 16738527. Dostupné z: doi:10.1016/j.jgg.2015.03.009.
- [8] COUCHET, M., C. BREUILLARD, C. CORNE, J. RENDU, B. MORIO, U. SCHLATTNER a C. MOINARD. Ornithine Transcarbamylase – From Structure to Metabolism: An Update. *Frontiers in Physiology* [online]. 2021, 2021-10-1, **12** [cit. 2025-06-19]. ISSN 1664-042X. Dostupné z: doi:10.3389/fphys.2021.748249.
- [9] MATSUDA, I., A. HATA, T. MATSUURA, T. TSUZUKI a K. SHIMADA. Structure of the ornithine transcarbamylase (OTC) gene and DNA diagnosis of OTC deficiency. *Clinica Chimica Acta* [online]. 1989, **185**(3), 283-289 [cit. 2025-06-22]. ISSN 00098981. Dostupné z: doi:10.1016/0009-8981(89)90218-0.
- [10] HUSSON, A., C. BRASSE-LAGNEL, A. FAIRAND, S. RENOUF a A. LAVOINNE. Argininosuccinate synthetase from the urea cycle to the citrulline–NO cycle. *European Journal of Biochemistry* [online]. 2003, **270**(9), 1887-1899 [cit. 2025-06-20]. ISSN 0014-2956. Dostupné z: doi:10.1046/j.1432-1033.2003.03559.x.
- [11] ZHANG, M., P. SONG, H. JIANG a M. LI. The argininosuccinate synthetase can differentially regulate nitric oxide synthase in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. *Fish & Shellfish Immunology* [online]. 2022, **127**, 991-1000 [cit. 2025-06-21]. ISSN 10504648. Dostupné z: doi:10.1016/j.fsi.2022.07.044.
- [12] DENNIS, J., P. J. HEALY, A. BEAUDET a W. E. O'BRIEN. Molecular definition of bovine argininosuccinate synthetase deficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 1989, **86**(20), 7947-7951 [cit. 2025-06-22]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.86.20.7947.
- [13] APARAJITA, R., K. ELSETH, B.J. VESPER, K. HAINES, G. TARJAN a A. KOLOKYTHAS. O35. Human oral tumors and expression of argininosuccinate synthetase (ASS) and argininosuccinate lyase (ASL). *Oral Oncology Supplement* [online]. 2009, **3**(1), 67-68 [cit. 2025-06-21]. ISSN 17447895. Dostupné z: doi:10.1016/j.oos.2009.06.120
- [14] HAINES, R., L. PENDLETON a D. EICHLER. Argininosuccinate synthase: at the center of arginine metabolism. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology 2*

- [online]. 2010, **2010**(1), 8–23 [cit. 2025-06-21]. PMID: 21494411. Dostupné z: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3074183/>
- [15] RATNER, S. a B. PETRACK. BIOSYNTHESIS OF UREA. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 1951, **191**(2), 693-705 [cit. 2025-06-22]. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1016/S0021-9258(18)55974-3
- [16] YU, B. a P. L. HOWELL. Intragenic complementation and the structure and function of argininosuccinate lyase. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS* [online]. 2000, **57**(11), 1637-1651 [cit. 2025-06-22]. ISSN 1420-682X. Dostupné z: doi:10.1007/PL00000646
- [17] NAGAMANI, S. C.S., A. EREZ a B. LEE. Argininosuccinate lyase deficiency. *Genetics in Medicine* [online]. 2012, **14**(5), 501-507 [cit. 2025-06-22]. ISSN 10983600. Dostupné z: doi:10.1038/gim.2011.1
- [18] SHI, Z., X. GE, M. LI, et al. Argininosuccinate lyase drives activation of mutant TERT promoter in glioblastomas. *Molecular Cell* [online]. 2022, **82**(20), 3919-3931.e7 [cit. 2025-06-23]. ISSN 10972765. Dostupné z: doi:10.1016/j.molcel.2022.09.024
- [19] CALDWELL, R. B., H. A. TOQUE, S. P. NARAYANAN a R. William CALDWELL. Arginase: an old enzyme with new tricks. *Trends in Pharmacological Sciences* [online]. 2015, **36**(6), 395-405 [cit. 2025-06-23]. ISSN 01656147. Dostupné z: doi:10.1016/j.tips.2015.03.006
- [20] CALDWELL, R. W., P. C. RODRIGUEZ, H. A. TOQUE, S. Priya NARAYANAN a Ruth B. CALDWELL. Arginase: A Multifaceted Enzyme Important in Health and Disease. *Physiological Reviews* [online]. 2018, 2018-04-01, **98**(2), 641-665 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0031-9333. Dostupné z: doi:10.1152/physrev.00037.2016
- [21] LI, Di, Y. LV, G. DU, Y. ZHU, B. SHI, X. YE a M. ZHANG. Malvidin-3-O-glucoside ameliorates the development of vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus by inhibiting arginase 1 expression. *Food Bioscience* [online]. 2025, **68** [cit. 2025-06-23]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2025.106592
- [22] CEDERBAUM, S. D, H. YU, W. W GRODY, Rita M KERN, Paul YOO a Ramaswamy K IYER. Arginases I and II: do their functions overlap? *Molecular Genetics and*

- Metabolism* [online]. 2004, **81**, 38-44 [cit. 2025-06-23]. ISSN 10967192. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymgme.2003.10.012
- [23] MATHIAS, R. S., D. KOSTINER a S. PACKMAN. Hyperammonemia in urea cycle disorders: Role of the nephrologist. *American Journal of Kidney Diseases* [online]. 2001, **37**(5), 1069-1080 [cit. 2025-03-02]. ISSN 02726386. Dostupné z: doi:10.1016/S0272-6386(05)80026-5
- [24] FERNANDES, J., J.-M. SAUDUBRAY a G. VAN DEN BERGHE, ed. *Inborn metabolic diseases* [online]. 4th, rev. ed. New York: Springer, 2006 [cit. 2025-06-27]. ISBN 3-540-28783-3.
- [25] MAESTRI, N. E., K. D. MCGOWAN a S. W. BRUSILOW. Plasma glutamine concentration: A guide in the management of urea cycle disorders. *The Journal of Pediatrics* [online]. 1992, **121**(2), 259-261 [cit. 2025-06-10]. ISSN 00223476. Dostupné z: doi:10.1016/S0022-3476(05)81200-4.
- [26] STONE, W. L., H. BASIT a G. B. JAISHANKR. Urea Cycle Disorders. *StatPearls* [online]. [cit. 2025-04-12]. PMID: 29493985. Dostupné z: <https://europepmc.org/article/med/29493985>.
- [27] GONZÁLEZ, R., L. GONZÁLEZ, A.I. ÁLVAREZ, A. GONZÁLEZ, J.M. GUERRERO a C. DELGADO. Neonatal hyperammonemia as a consequence of a defect of the urea cycle. *Clinica chimica acta* [online]. Elsevier B.V, 2019, **493**, S456-S456 [cit. 2025-01-21]. ISSN 0009-8981. Dostupné z: doi:10.1016/j.cca.2019.03.966.
- [28] MEIER, C., K. BURNS, C. MANOLIKOS, D. FATOVICH a D. A. BELL. Hyperammonaemia: review of the pathophysiology, aetiology and investigation. *Pathology* [online]. 2024, **56**(6), 763-772 [cit. 2025-04-12]. ISSN 00313025. Dostupné z: doi:10.1016/j.pathol.2024.06.002.
- [29] LEONARD, J.V. a A.A.M. MORRIS. Urea cycle disorders. *Seminars in Neonatology* [online]. 2002, **7**(1), 27-35 [cit. 2025-05-06]. ISSN 10842756. Dostupné z: doi:10.1053/siny.2001.0085.
- [30] WALKER, V. S. hyperammonaemia in adults not explained by liver disease. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine* [online]. 2012,

- 49(3), 214-228 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0004-5632. Dostupné z: doi:10.1258/acb.2011.011206.
- [31] RICCI, P. P. a O. J. GREGORY. Sensors for the detection of ammonia as a potential biomarker for health screening. *Scientific Reports* [online]. 2021, **11**(1) [cit. 2025-04-12]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-021-86686-1.
- [32] MERRITT, J. L., L. L. BRODY, Gisele PINO a Piero RINALDO. Newborn screening for proximal urea cycle disorders: Current evidence supporting recommendations for newborn screening. *Molecular Genetics and Metabolism* [online]. 2018, **124**(2), 109-113 [cit. 2025-04-17]. ISSN 10967192. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymgme.2018.04.006.
- [33] PARMEGGIANI, B. a C. Regla VARGAS. Oxidative stress in urea cycle disorders: Findings from clinical and basic research. *Clinica Chimica Acta* [online]. 2018, **477**, 121-126 [cit. 2025-05-05]. ISSN 00098981. Dostupné z: doi:10.1016/j.cca.2017.11.041.
- [34] SUMMAR, M. L., S. KOELKER, D. FREEDENBERG, C. LE MONS, J. HABERLE, H. LEE a B. KIRMSE. The incidence of urea cycle disorders. *Molecular Genetics and Metabolism* [online]. 2013, **110**(1-2), 179-180 [cit. 2025-05-05]. ISSN 10967192. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymgme.2013.07.008.
- [35] ENDO, F., T. MATSUURA, K. YANAGITA a I. MATSUDA. Clinical Manifestations of Inborn Errors of the Urea Cycle and Related Metabolic Disorders during Childhood. *The Journal of Nutrition* [online]. 2004, **134**(6), 1605S-1609S [cit. 2025-06-03]. ISSN 00223166. Dostupné z: doi:10.1093/jn/134.6.1605S.
- [36] BIGOT, A., M. C. TCHAN, B. THOREAU, H. BLASCO a F. MAILLOT. Liver involvement in urea cycle disorders: a review of the literature. *Journal of Inherited Metabolic Disease* [online]. 2017, **40**(6), 757-769 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0141-8955. Dostupné z: doi:10.1007/s10545-017-0088-5.
- [37] BARENDS, M., J. PITT, S. MORRISSY, N. TZANAKOS a A. BONEH. Biochemical and molecular characteristics of patients with organic acidaemias and urea cycle disorders identified through newborn screening. *Molecular Genetics and Metabolism* [online]. 2014, **113**(1-2), 46-52 [cit. 2025-05-10]. ISSN 10967192. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymgme.2014.07.003.

- [38] PETERS, R., S. BEST, F. LYNCH, et al. Public preferences for the value and implementation of genomic newborn screening: Insights from two discrete choice experiments in Australia. *The American Journal of Human Genetics* [online]. 2025 [cit. 2025-06-08]. ISSN 00029297. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajhg.2025.05.001.
- [39] CAVICCHI, C., S. MALVAGIA, G. LA MARCA, et al. Hypocitrullinemia in expanded newborn screening by LC–MS/MS is not a reliable marker for ornithine transcarbamylase deficiency. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2009, **49**(5), 1292-1295 [cit. 2025-06-10]. ISSN 07317085. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpba.2009.03.001.
- [40] MATSUMOTO, S., J. HÄBERLE, J. KIDO, H. MITSUBUCHI, F. ENDO a Kimitoshi NAKAMURA. Urea cycle disorders—update. *Journal of Human Genetics* [online]. 2019, **64**(9), 833-847 [cit. 2025-06-09]. ISSN 1434-5161. Dostupné z: doi:10.1038/s10038-019-0614-4.
- [41] HÄBERLE, J. a H. G. KOCH. Genetic approach to prenatal diagnosis in urea cycle defects. *Prenatal Diagnosis* [online]. 2004, **24**(5), 378-383 [cit. 2025-06-10]. ISSN 0197-3851. Dostupné z: doi:10.1002/pd.884.
- [42] LEONARD, J. V., M. . WARD PLATT a A. A. Myles MORRIS. Hypothesis: proposals for the management of a neonate at risk of hyperammonaemia due to a urea cycle disorder. *European Journal of Pediatrics* [online]. 2008, **167**(3), 305-309 [cit. 2025-06-10]. ISSN 0340-6199. Dostupné z: doi:10.1007/s00431-007-0486-z.
- [43] MAESTRI, N. E., Elizabeth R. HAUSER, D. BARTHOLOMEW a S. W. BRUSILOW. Prospective treatment of urea cycle disorders. *The Journal of Pediatrics* [online]. 1991, **119**(6), 923-928 [cit. 2025-06-10]. ISSN 00223476. Dostupné z: doi:10.1016/S0022-3476(05)83044-6.
- [44] BERRY, G. T. a R. D. STEINER. Long-term management of patients with urea cycle disorders. *The Journal of Pediatrics* [online]. 2001, **138**(1), S56-S61 [cit. 2025-06-10]. ISSN 00223476. Dostupné z: doi:10.1067/mpd.2001.111837.

- [45] SINGH, R. H. Nutritional management of patients with urea cycle disorders. *Journal of Inherited Metabolic Disease* [online]. 2007, **30**(6), 880-887 [cit. 2025-06-10]. ISSN 0141-8955. Dostupné z: doi:10.1007/s10545-007-0718-4.
- [46] HÄBERLE, J., N. BODDAERT, A. BURLINA, et al. Suggested guidelines for the diagnosis and management of urea cycle disorders. *Orphanet Journal of Rare Diseases* [online]. 2012, **7**(1) [cit. 2025-06-19]. ISSN 1750-1172. Dostupné z: doi:10.1186/1750-1172-7-32.
- [47] STEPIEN, K. M., T. GEBERHIWOT, C. J. HENDRIKSZ a E. P. TREACY. Challenges in diagnosing and managing adult patients with urea cycle disorders. *Journal of Inherited Metabolic Disease* [online]. 2019, **42**(6), 1136-1146 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0141-8955. Dostupné z: doi:10.1002/jimd.12096.
- [48] LEONARD, J. V a P. J MCKIERNAN. The role of liver transplantation in urea cycle disorders. *Molecular Genetics and Metabolism* [online]. 2004, **81**, 74-78 [cit. 2025-06-10]. ISSN 10967192. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymgme.2003.08.027
- [49] KIUCHI, T, Y EDAMOTO, M KAIBORI, et al. Auxiliary liver transplantation for urea-cycle enzyme deficiencies: lessons from three cases. *Transplantation Proceedings* [online]. 1999, **31**(1-2), 528-529 [cit. 2025-06-20]. ISSN 00411345. Dostupné z: doi:10.1016/S0041-1345(98)01539-5.
- [50] KASAHARA, M., K. UMESHITA, Y. INOMATA a S. UEMOTO. Long-Term Outcomes of Pediatric Living Donor Liver Transplantation in Japan: An Analysis of More Than 2200 Cases Listed in the Registry of the Japanese Liver Transplantation Society. *American Journal of Transplantation* [online]. 2013, **13**(7), 1830-1839 [cit. 2025-06-10]. ISSN 16006135. Dostupné z: doi:10.1111/ajt.12276.
- [51] RAPP, B., J. HÄBERLE, M. LINNEBANK, B. WERMUTH, T. MARQUARDT, Erik HARMS a Hans Georg KOCH. Genetic analysis of carbamoylphosphate synthetase I and ornithine transcarbamylase deficiency using fibroblasts. *European Journal of Pediatrics* [online]. 2001, 2001-4-24, **160**(5), 283-287 [cit. 2025-06-09]. ISSN 0340-6199. Dostupné z: doi:10.1007/s004310100725.

- [52] ALI, E. Z., M. K. N. M. KHALID, Z. M. YUNUS, Y. YAKOB, C. B. CHIN, K. A. LATIF a N. L. HOCK. Carbamoylphosphate synthetase 1 (CPS1) deficiency: clinical, biochemical, and molecular characterization in Malaysian patients. *European Journal of Pediatrics* [online]. 2016, **175**(3), 339-346 [cit. 2025-01-21]. ISSN 0340-6199. Dostupné z: doi:10.1007/s00431-015-2644-z.
- [53] TAKEOKA, M., T. B. SOMAN, V. E. SHIH, V. S. CAVINESS a K. S. KRISHNAMOORTHY. Carbamyl phosphate synthetase 1 deficiency: A destructive encephalopathy. *Pediatric Neurology* [online]. 2001, **24**(3), 193-199 [cit. 2025-06-09]. ISSN 08878994. Dostupné z: doi:10.1016/S0887-8994(00)00259-9.
- [54] EEDS, A, L HALL, M YADAV, A WILLIS, S SUMMAR, A PUTNAM, F BARR a M SUMMAR. The frequent observation of evidence for nonsense-mediated decay in RNA from patients with carbamyl phosphate synthetase I deficiency. *Molecular Genetics and Metabolism* [online]. 2006, **89**(1-2), 80-86 [cit. 2025-06-10]. ISSN 10967192. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymgme.2006.04.006.
- [55] CALDOVIC, L., H. MORIZONO, M. G.PANGLAO, S. F. CHENG, S. PACKMAN a M. TUCHMAN. Null mutations in the N-acetylglutamate synthase gene associated with acute neonatal disease and hyperammonemia. *Human Genetics* [online]. 2003, **112**(4), 364-368 [cit. 2025-06-08]. ISSN 0340-6717. Dostupné z: doi:10.1007/s00439-003-0909-5.
- [56] SONODA, T. a M. TATIBANA. An improved method for determination of N⁻ by its function as an activator of carbamoyl phosphate synthetase I. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* [online]. 1990, **1033**(2), 162-168 [cit. 2025-06-08]. ISSN 03044165. Dostupné z: doi:10.1016/0304-4165(90)90007-J.
- [57] AHMEW, N., R. MCCARTER, Y. DAIKHIN, U. LICHTER-KONECKI, I. NISSIM, M. YUDKOFF a M. TUCHMAN. Augmenting Ureagenesis in Patients with Partial Carbamyl Phosphate Synthetase 1 Deficiency with N-carbamyl-l-glutamate. *The Journal of Pediatrics* [online]. 2014, **165**(2), 401-403.e3 [cit. 2025-06-08]. ISSN 00223476. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpeds.2014.04.012.
- [58] KOTANI, Y., M. SHIOTA, M. UMEMOTO, M. TSURITANI a H. HOSHIAI. Carbamyl phosphate synthetase deficiency and postpartum hyperammonemia. *American Journal of*

- Obstetrics and Gynecology* [online]. 2010, **203**(1), e10-e11 [cit. 2025-06-09]. ISSN 00029378. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajog.2010.03.032.
- [59] SIEGEL, G. J. a B. W. AGRANOFF, ed. *Basic neurochemistry: molecular, cellular and medical aspects*. 6th ed. Philadelphia - New York: Lippincott - Raven Publishers, 1999. ISBN 0-397-51820-X.
- [60] MATEOS SEXMERO, M.J. a J.A. BLANCO. A late-onset Ornithine Transcarbamylase deficiency case as an organic psychosis. *European Psychiatry* [online]. 2022, **65**(S1), S792-S793 [cit. 2025-06-20]. ISSN 0924-9338. Dostupné z: doi:10.1192/j.eurpsy.2022.2048.
- [61] LICHTER-KONECKI, U., L. CALDOVIC, H. MORIZONO, K. SIMPSON, N. AH MEW a E. MACLEOD. Ornithine Transcarbamylase Deficiency. *GeneReviews®* [online]. University of Washington, Seattle, Seattle (WA), 2016 [cit. 2025-06-27]. Dostupné z: <https://europepmc.org/article/NBK/nbk154378>.
- [62] KARTHIKEYAN, S. J. PICK a K. CULLIS. P.120 Managing a traumatic unknown: A caesarean section in a women with potential ornithine transcarbamylase deficiency. *International Journal of Obstetric Anesthesia* [online]. 2025, **62** [cit. 2025-06-19]. ISSN 0959289X. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijoa.2025.104498.
- [63] DENG, Y., J. SONG, J. CHEN a S. JIN. Liver transplantation for a child with Ornithine Transcarbamylase Deficiency: A mutation carrier father as the donor. *Asian Journal of Surgery* [online]. 2025 [cit. 2025-06-19]. ISSN 10159584. Dostupné z: doi:10.1016/j.asjsur.2025.04.095.
- [64] WOO, H. In, H. PARK a Y. LEE. Molecular genetics of citrullinemia types I and II. *Clinica Chimica Acta* [online]. 2014, **431**, 1-8 [cit. 2025-06-22]. ISSN 00098981. Dostupné z: doi:10.1016/j.cca.2014.01.032.
- [65] RUDER, J., J. LEGACY, G. RUSSO a R. DAVIS. Neonatal Citrullinemia: Novel, Reversible Neuroimaging Findings Correlated With Ammonia Level Changes. *Pediatric Neurology* [online]. 2014, **51**(4), 553-556 [cit. 2025-06-22]. ISSN 08878994. Dostupné z: doi:10.1016/j.pediatrneurol.2014.07.010.

- [66] MOHANDASS, K., G. MOHAN a P. MURUGASAMY. A case series on citrullinemia in Indian families. *Journal of the Neurological Sciences* [online]. 2023, **455** [cit. 2025-06-22]. ISSN 0022510X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jns.2023.121697.
- [67] ZHAO, H., X. YU, J. CHENG, D. CHEN, Q. XU, J. SHENG a Y. SHI. Citrullinemia type II accompanied by mental derangement combined with multidrug resistance 3 decrease, case report. *Heliyon* [online]. 2023, **9**(11) [cit. 2025-06-22]. ISSN 24058440. Dostupné z: doi:10.1016/j.heliyon.2023.e21760.
- [68] HABERLE, J. Mild citrullinemia in Caucasians is an allelic variant of argininosuccinate synthetase deficiency (citrullinemia type 1). *Molecular Genetics and Metabolism* [online]. 2003, **80**(3), 302-306 [cit. 2025-06-22]. ISSN 10967192. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymgme.2003.08.002.
- [69] MAESTRI, N. E., D. B. CLISSOLD a S. W. BRUSILOW. Long-term survival of patients with argininosuccinate synthetase deficiency. *The Journal of Pediatrics* [online]. 1995, **127**(6), 929-935 [cit. 2025-06-21]. ISSN 00223476. Dostupné z: doi:10.1016/S0022-3476(95)70030-7.
- [70] NAGAMANI, S. C.S., A. EREZ a B. LEE. Argininosuccinate lyase deficiency. *Genetics in Medicine* [online]. 2012, **14**(5), 501-507 [cit. 2025-06-22]. ISSN 10983600. Dostupné z: doi:10.1038/gim.2011.1.
- [71] JALIL, S., T. KESKINEN, J. JUUTILA, et al. Genetic and functional correction of argininosuccinate lyase deficiency using CRISPR adenine base editors. *The American Journal of Human Genetics* [online]. 2024, **111**(4), 714-728 [cit. 2025-06-23]. ISSN 00029297. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajhg.2024.03.004.
- [72] IYER, R., C. P. JENKINSON, J. G. VOCKLEY, R. M. KERN, W. W. GRODY a S. CEDERBAUM. The human arginases and arginase deficiency. *Journal of Inherited Metabolic Disease* [online]. 1998, **21**(S1), 86-100 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0141-8955. Dostupné z: doi:10.1023/A:1005313809037.
- [73] BIN SAWAD, A., J. JACKIMIEC, M. BECHTER, A. TRUCILLO, K. LINDSLEY, A. BHAGAT, J. UYEI a G. A. DIAZ. Epidemiology, methods of diagnosis, and clinical management of patients with arginase 1 deficiency (ARG1-D): A systematic review.

- Molecular Genetics and Metabolism* [online]. 2022, **137**(1-2), 153-163 [cit. 2025-06-23]. ISSN 10967192. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymgme.2022.08.005.
- [74] SIN, Y. Y., G. BARON, A. SCHULZE a C. D. FUNK. Arginase-1 deficiency. *Journal of Molecular Medicine* [online]. 2015, **93**(12), 1287-1296 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0946-2716. Dostupné z: doi:10.1007/s00109-015-1354-3.
- [75] KIDO, J., S. MATSUMOTO, E. TAKESHITA, et al. Current status of surviving patients with arginase 1 deficiency in Japan. *Molecular Genetics and Metabolism Reports* [online]. 2021, **29** [cit. 2025-06-23]. ISSN 22144269. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymgmr.2021.100805.
- [76] IYER, R., C. P. JENKINSON, J. G. VOCKLEY, R. M. KERN, W. W. GRODY a S. CEDERBAUM. The human arginases and arginase deficiency. *Journal of Inherited Metabolic Disease* [online]. 1998, **21**(S1), 86-100 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0141-8955. Dostupné z: doi:10.1023/A:1005313809037.
- [77] GHABRIL, M., J. NGUYEN, D. KRAMER, T. GENCO, M. MAI a B. G. ROSSER. Presentation of an Acquired Urea Cycle Disorder Post Liver Transplantation. *Liver Transplantation* [online]. 2007, **13**(12), 1714-1716 [cit. 2025-06-23]. ISSN 1527-6465. Dostupné z: doi:10.1002/lt.21291.
- [78] BRAZITIS, M. a B. JAVAID. Acquired Hyperammonemia and L-carnitine Deficiency Mimicking Urea Cycle Disorder (P3-4.007). *Neurology* [online]. 2024, 2024-04-09, **102**(7_supplement_1) [cit. 2025-06-23]. ISSN 0028-3878. Dostupné z: doi:10.1212/WNL.0000000000204946.