

Received: 2015.05.04
Accepted: 2015.09.16
Published: 2016.03.16

Aminotransferaza asparaginianowa – kluczowy enzym w metabolizmie ogólnoustrojowym człowieka

Aspartate aminotransferase – key enzyme in the human systemic metabolism

Dagmara Otto-Ślusarczyk, Wojciech Graboń, Magdalena Mielczarek-Puta

Katedra i Zakład Biochemii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Streszczenie

Aminotransferaza asparaginianowa (AST) jest enzymem nieswoistym narządowo, występującym w wielu tkankach organizmu człowieka, gdzie katalizuje odwracalną reakcję transaminacji. Istnieją dwie izoformy aminotransferazy asparaginianowej - cytoplazmatyczna (AST1) i mitochondrialna (AST2), które zwykle występują razem i współdziałają metabolicznie. Obie izoformy są homodimerami z wysoce konserwatywnymi regionami odpowiedzialnymi za katalityczne właściwości enzymu. Cechą wspólną wszystkich znanych aminotransferaz asparaginianowych jest konserwatywna reszta Lys-259, która tworzy wiązanie kowalencyjne z grupą prostetyczną - fosforanem pirydoksalu. Różnice w budowie pierwszorzędowej obu izoform determinują ich odmienne właściwości fizykochemiczne, kinetyczne i immunologiczne. Z powodu niskiego stężenia L-asparaginianu (L-Asp) we krwi, aminotransferaza asparaginianowa jest jedynym enzymem dostarczającym ten aminokwas jako substrat do wielu procesów metabolicznych, takich jak cykl mocznikowy oraz synteza nukleotydów purynowych i pirymidynowych w wątrobie, synteza L-argininy w nerkach oraz cykl nukleotydów purynowych w mózgu i mięśniach szkieletowych. AST uczestniczy także w powstawaniu D-asparaginianu, który reguluje metabolizm na poziomie auto-, para- i endokrynnym. Aminotransferaza asparaginianowa wchodzi w skład czółenka jabłczanowo-asparaginianowego w mięśniu sercowym, bierze udział w procesach glukoneogenezy w wątrobie i nerce, gliceroneogenezy w tkance tłuszczowej oraz syntezie neuroprzekaźników w szlaku neuronowo-glejowym mózgu. W ostatnich latach stwierdzono istotny udział aminotransferazy asparaginianowej w glutaminolizie - podstawowym szlaku metabolicznym w komórkach nowotworowych.

W artykule omówiono rolę AST, znanej głównie jako enzym diagnostyczny chorób wątroby, w przemianach metabolicznych różnych tkanek i narządów organizmu człowieka.

Słowa kluczowe:

aminotransferaza asparaginianowa • izoformy • L- asparaginian • metabolizm

Summary

Aspartate aminotransferase is an organ - nonspecific enzyme located in many tissues of the human body where it catalyzes reversible reaction of transamination. There are two aspartate aminotransferase isoforms - cytoplasmic (AST1) and mitochondrial (AST2), that usually occur together and interact with each other metabolically. Both isoforms are homodimers containing highly conservative regions responsible for catalytic properties of enzyme. The common feature of all aspartate aminotransferases is Lys - 259 residue covalent binding with prosthetic group - pyridoxal phosphate. The differences in the primary structure of AST isoforms determine their physico-chemical, kinetic and immunological properties. Because of the low concentration of L-aspartate (L-Asp) in the blood,

Key words:	AST is the only enzyme, which supply of this amino acid as a substrate for many metabolic processes, such as urea cycle or purine and pyrimidine nucleotides in the liver, synthesis of L-arginine in the kidney and purine nucleotide cycle in the brain and the skeletal muscle. AST is also involved in D-aspartate production that regulates the metabolic activity at the auto-, para- and endocrine level. Aspartate aminotransferase is a part of the malate-aspartate shuttle in the myocardium, is involved in gluconeogenesis in the liver and kidney, glyceroneogenesis in the adipose tissue, and synthesis of neurotransmitters and neuro-glial pathway in the brain. Recently, the significant role of AST in glutaminolysis - normal metabolic pathway in tumor cells, was demonstrated. The article is devoted the role of AST, known primarily as a diagnostic liver enzyme, in metabolism of various human tissues and organs.
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1197373
Word count:	3871
Tables:	–
Figures:	5
References:	62

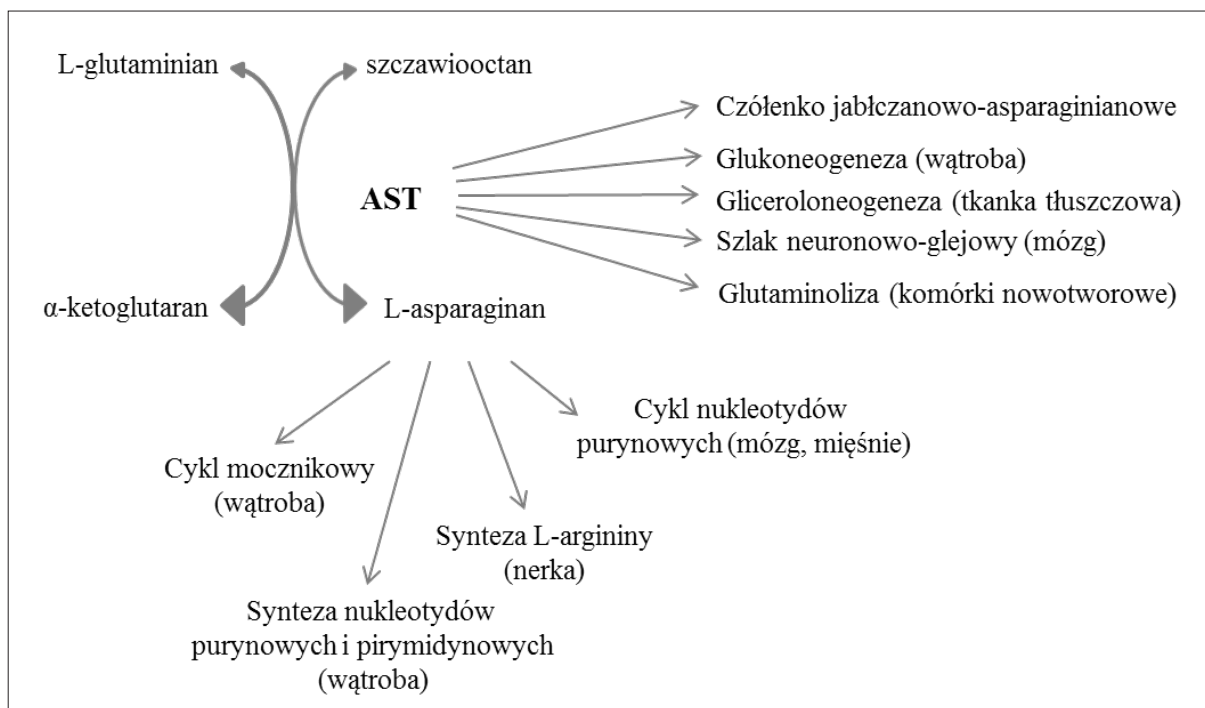
Adres autorki: dr Magdalena Mielczarek-Puta, Katedra i Zakład Biochemii Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul: Banacha 1, 02-097 Warszawa; e-mail: mmielczarek@wum.edu.pl

Wykaz skrótów: **ACO1** - cytosolowa izoforma cis-akonitazy, **ACO2** - mitochondrialna izoforma cis-akonitazy, **ASL** - liaza arginiobursztynianowa, **ASS** - syntetaza argininobursztynianowa, **AST** - aminotransferaza asparaginianowa, **AST1** - cytosolowa izoforma aminotransferazy asparaginianowej, **AST2** - mitochondrialna izoforma aminotransferazy asparaginianowej, **cAMP- 3',5'** - cykliczny adenozymonofosforan, **CNP** - cykl nukleotydów purynowych, **CTNL2** - cytrulinemia typu 2, **cMDH** - cytosolowa izoforma dehydrogenazy jabłczanowej, **mMDH** - mitochondrialna izoforma dehydrogenazy jabłczanowej, **D-Asp** - D-asparaginian, **DHEA** - dehydroepiandrosteron, **IDH1** - cytosolowa izoforma dehydrogenazy izocytrynianowej, **IDH2** - mitochondrialna izoforma dehydrogenazy izocytrynianowej, **GABA** - kwas γ-aminomasłowy, **GDH** - dehydrogenaza glutaminianowa, **Got1** - gen kodujący AST1, **Got2** - gen kodujący AST2, **IMP** - inozynomonofosforan, **LDH** - dehydrogenaza mleczanowa, **L-Asp** - L-asparaginian, **L-Arg** - L-arginina, **L-Glu** - L-glutaminian, **L-Gln** - L-glutamina, **NICCD** - noworodkowa cholestaza wewnątrzwątrobową, **NMDA** - kwas N-metylo-D-asparaginianowy, **NOS** - synteza tlenu azotu, **PC** - karboksylaza pirogronianowa, **StAR** - gen kodujący białko steroidogenowe ostrej regulacji, **TCA** - cykl Krebsa, **WKT** - wolne kwasy tłuszczowe.

WSTĘP

Aminotransferaza asparaginianowa (AST, AspAT, GOT; glutamate-oxalaceta tetransaminase; EC 2.6.1.1) jest narządowo nieswoistym, wielofunkcyjnym enzymem, który w tkankach ssaków występuje w postaci dwóch izoform - cytosolowej AST1 (cAST lub sAST - soluble, serum AST) i mitochondrialnej AST2 (mAST). Należy do klasy transferaz i katalizuje odwracalną reakcję transaminacji, w wyniku której szczawiooctan i L-glutaminian (L-Glu) są przekształcane do L-asparaginianu (L-Asp) i α-ketoglutaranu [55]. Wbrew informacjom podawanym w niektórych podręcznikach biochemii, swoistość substratowa enzymu jest ograniczona do czterech wyżej wymienionych związków. Wydaje się, że o kierunku reakcji decydują stężenia L-Asp (0-20 μM) i L-Glu (125-150 μM)

w osoczu krwi, wartości Km dla obu aminokwasów, jak również zużycie L-Asp w wielu ważnych procesach metabolicznych [28]. Synteza L-Asp może się odbywać z udziałem asparaginazy, jednak to AST wytwarza większość tego aminokwasu do omawianych przemian wewnątrzkomórkowych. AST ma zatem wpływ na przemiany wymagające L-Asp, takie jak cykl mocznikowy, synteza nukleotydów purynowych i pirymidynowych w wątrobie, powstawanie L-argininy (L-Arg) z L-cytruliny w nerkach i innych tkankach oraz cykl nukleotydów purynowych w mięśniach szkieletowych, mięśniu sercowym i mózgu. AST jest elementem czółenka jabłczanowo-asparaginianowego, szlaku neuronowo-glejowego w mózgu, uczestnicząc zarówno w przemianach energetycznych, jak i syntezie neuroprzekaźników - L-Asp i L-Glu. W komórkach nowotworowych obie izoformy AST wchodzą



Ryc. 1. Udział aminotransferazy asparaginianowej w ogólnoustrojowym metabolizmie człowieka

w skład glutaminolizy mitochondrialnej i cytoplazmatycznej, podstawowego szlaku dostarczającego zarówno energii, jak i związków budulcowych niezbędnych do proliferacji (ryc. 1). Potwierdzeniem znaczącej roli AST w metabolizmie ogólnoustrojowym jest brak stwierdzonych mutacji genów obu izoform enzymu, co wskazuje, że jest to wada letalna powodująca niezdolność wzrostu i rozwoju organizmu już w okresie płodowym.

AST nie powinien być kojarzony jedynie z diagnostyką chorób wątroby, lecz także z udziałem w podstawowych procesach metabolicznych zachodzących w wielu tkankach i narządach organizmu.

CHARAKTERYSTYKA AMINOTRANSFERAZY ASPARAGINIANOWEJ

Enzymy przeprowadzające proces transaminacji po raz pierwszy opisano w 1937 r. i pierwotnie nazwano aminoferezami (aminopherases) [4]. Początkowo uważano, że reakcja transaminacji jest katalizowana przez dwa odrębne enzymy - aminoferezę glutaminianową i aminoferezę asparaginianową. W 1942 r. Cohen wykazał, że to właśnie AST katalizuje reakcję transaminacji [6,16]. W 1950 r. stwierdzono u ssaków obecność dwóch izoform AST - cytosolowej AST1 i mitochondrialnej AST2 [43].

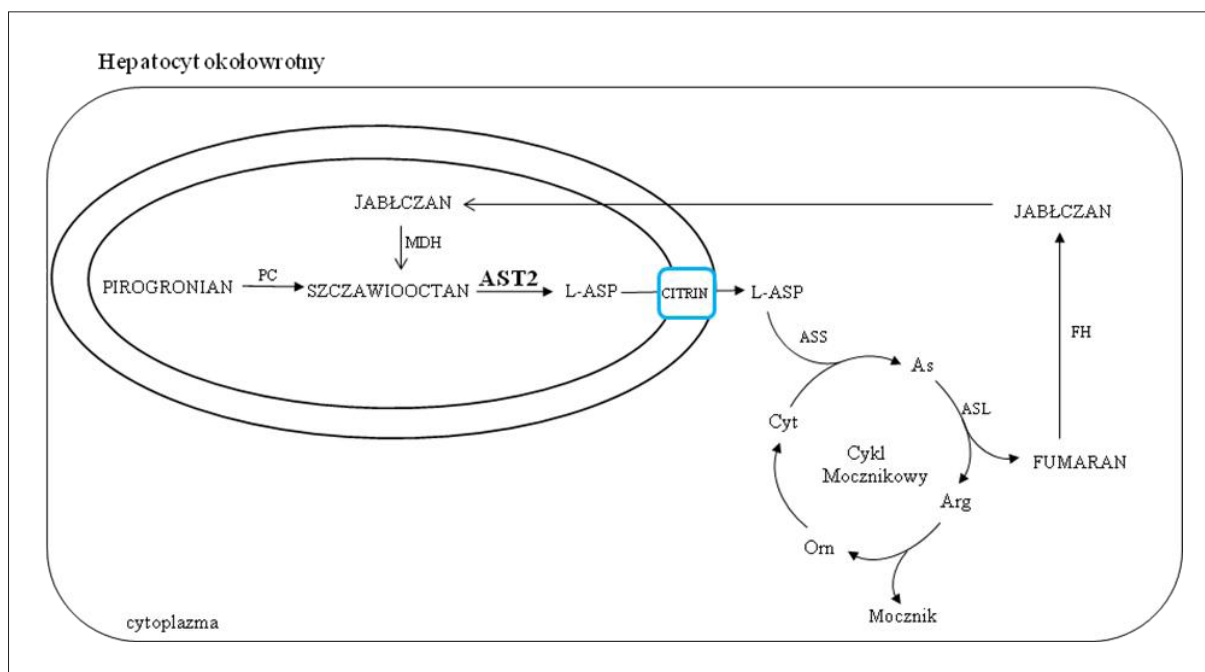
Izoformy AST człowieka są homodimerami kodowanymi przez odrębne geny *Got1* i *Got2* [9,12]. Gen *Got1* jest umiejscowiony na chromosomie 10 w pozycji q24.1 - 25, składa się z 9 eksonów, a jego produktem jest białko o długości 413 aminokwasów i masie cząsteczkowej 46,248 kDa [40,59,60].

Gen *Got2* znajduje się na chromosomie 16 w pozycji q21 i koduje białko o długości 430 aminokwasów oraz masie cząsteczkowej 47,476 kDa. Pierwsze 29 aminokwasów na N-końcu tworzy sekwencję sygnałową, dzięki której enzym jest transportowany do mitochondrium, gdzie w wyniku jej odcięcia zostaje przekształcony w postać dojrzałą. Ponadto w pozycjach 12p13.2-p13.1, 1p33-p32 oraz 1q25-q31 znajdują się 3 pseudogeny AST2 [26].

Cechą wspólną wszystkich znanych AST jest konserwatywna reszta Lys-259, która tworzy wiązanie kowalencyjne z koenzymem - fosforanem pirydoksalu [10]. Izoformy ludzkiej AST mają wysoce konserwatywne regiony odpowiedzialne za właściwości katalityczne enzymu. AST1 i AST2 człowieka są identyczne w 48%, a różnice w sekwencji aminokwasów dotyczą regionów 1-31, 120-137, 275-295, 335-349AA [10]. Analiza sekwencji aminokwasowej AST1 różnych organizmów (człowieka, świni, konia, szczura, myszy, kurczęcia) wykazała obecność wielu konserwatywnych regionów, jednak aminokwasy His-46, Lys-54, Val-186, Ile-198, Phe-250, Glu-278, Gln-282, Val-389, Ser-390 są charakterystyczne jedynie dla ludzkiej AST1 [10].

Różnice w budowie pierwszorzędowej AST1 i AST2 determinują ich odmienne właściwości fizykochemiczne. W wątrobie dorosłego człowieka aktywność obu izoform jest podobna (cytosolowej 198 kU/g tkanki, mitochondrialnej 208 kU/g tkanki), natomiast stosunek procentowy AST1 do AST2 wynosi według różnych autorów od 19-25 do 75-81% [16,27,43].

Wartość K_m dla α -ketoglutaranu i L-asparaginanu AST1 człowieka wynosi odpowiednio 2,06 i 22,5mM [5]. Do in-



Ryc. 2. Udział aminotransferazy asparaginianowej w cyklu mocznikowym

hibitorów obu izoform należą aminooksyocetan, maleinian, bursztynian oraz izoniazyd (lek przeciwgruźliczy). Wybiórczym inhibitorem izoformy mitochondrialnej jest kwiskwalan [16,22,42,43,60].

Asparaginian

Podstawową fizjologiczną rolą AST jest synteza L-Asp niezbędnego w wielu ważnych procesach metabolicznych. L-Asp (kwas L-aminobursztynowy) jest klasyfikowany jako aminokwas „nie niezbędny”, którego zapotrzebowanie w organizmie zdrowego, dorosłego człowieka w całości jest pokrywane przez endogenną syntezę. W reakcji katalizowanej przez syntetazę asparaginy kwas L-asparaginy tworzy amid - L-asparaginę (L-Asn, N). Bogatym, naturalnym źródłem obu aminokwasów są szparagi, kiełkujące nasiona, owies, awokado, młoda trzcina cukrowa, buraki cukrowe, soja, nabiał, jaja, ryby, owoce morza, drób, wołowina oraz dziczyzna.

W tkankach ssaków występuje także D-asparaginian (D-Asp), którego obecność stwierdzono w mózgu, szyszynce, przysadce mózgowej, nadnerczach oraz jądrach szczura [18,48,49]. Jego stężenie w mózgu kilkunastodniowych embrionów szczura było prawie 20-krotnie wyższe niż u osobników dorosłych [11]. Z wielu badań wynika, że D-Asp indukuje syntezę białek biorących udział w rozwoju układu nerwowego i działa jako neuromodulator lub neuroprzebiegacz w synapsach oraz pełni ważną rolę w regulacji hormonalnej [36].

Badania prowadzone na liniach komórkowych guza chromocłonowego nadnerczy szczura (PC12), liniach komórek nabłonkowych przysadki mózgowej (GH3) i neuronów em-

brionalnych szczura wykazały, że zachodzi w nich biosynteza D-Asp, w której pośrednio uczestniczy AST [13,18]. Powstający w reakcji transaminacji L-Asp z udziałem recemazy asparaginianowej jest przekształcany w postać D [13,18]. D-Asp pełni rolę auto-, para- i endokrynnego przekazywacza regulującego metabolizm. Syntetyzowany w przednim płacie przysadki mózgowej stymuluje syntezę i wydzielanie prolaktyny (działanie autokrynnie). Wydzielany przez kanaliki nasienne działa na ekspresję genu *StAR* w komórkach Leydiga obecnych w jądrze, stymulując je do wytwarzania testosteronu (działanie parakrynnie), wydzielane przez komórki jądra do krwi i pobierany przez nadnercza pobudza w nich syntezę hormonów steroidowych oraz hamuje wydzielanie melatoniny przez pinealocyty (działanie endokrynnie). Rola D-Asp w mózgu nie została w pełni wyjaśniona. Można przypuszczać, że syntetyzowany w czasie rozwoju embrionalnego D-Asp jako agonista receptorów NMDA (kwas N-metylo-D-asparaginy) może brać udział w neurogenezie, a działając jako auto-, para- i endokrynni przekazywacz może regulować powstawanie neurosteroidów, takich jak dehydroepiandrosteron (DHEA) i pregnenolon [13,18].

UDZIAŁ AMINOTRANSFERAZY ASPARAGINIANOWEJ W METABOLIZMIE

Unieczynnianie amoniaku w wątrobie

Wydaje się, że najlepiej znaną fizjologiczną funkcją AST jest dostarczenie L-Asp do cyklu mocznikowego. Zachodzący w hepatocytach okołowrotnych proces ma na celu wiązanie amoniaku pochodzącego z katabolizmu aminokwasów oraz nukleotydów. W reakcji katalizowanej przez syntetazę argininobursztynianową (ASS) L-Asp ulega kondensacji z cytruliną z wytworzeniem argininobursztynianu, który z udziałem liazy (ASL) jest rozszczepiany do do

Arg i L hydrolizowanej do ornityny i mocznika oraz fumaranu. Powstający fumaran jest przekształcany przez cytosolową izoformę hydratazy fumaranowej (FH) do jabłczanu, który powraca do mitochondriów i jest substratem dehydrogenazy jabłczanowej (mMDH) (ryc. 2) [7,39,41].

W reakcji katalizowanej przez ten enzym powstaje szczawiooctan przekształcany przez AST2 do L-Asp. Potwierdzeniem udziału mitochondrialnej izoformy AST w dostarczeniu L-Asp dla ASS - cytoplazmatycznego enzymu cyklu mocznikowego są badania osób z wadami genetycznymi - cytrulinemią dorosłych typu 2 (CTNL2) oraz noworodkową cholestazą wewnątrzwątrobową (NICCD). Przyczyną obu chorób są mutacje w genie kodującym citrin (aralar 2-przenośnik L-Asp-L-Glu), transporter znajdujący się w wewnętrznej błonie mitochondriów wątroby i przenoszący L-Asp do cytoplazmy z jednoczesnym transportem L-Glu do mitochondriów [45]. Stwierdzono, że u chorych z CTNL2 zmniejsza się ilość białka ASS bez zmian ekspresji na poziomie genu i mRNA. Wskazuje to na funkcjonalne powiązanie transportera citrin z ASS [45]. Hiperamonemia jest jednym z typowych objawów cytrulinemii typu 2 [19]. Chorzy z tą wadą wykazują specyficzne preferencje żywieniowe. Nie unikają pokarmów wysokobiałkowych, co jest charakterystyczne dla innych wad genetycznych i stanów chorobowych przebiegających z hiperamonemią, spożywają dużo orzechów i roślin strączkowych - pokarmów zawierających białka bogate w L-Arg i L-Asp aminokwasy uczestniczące w cyklu mocznikowym. Stronią natomiast od alkoholu oraz pokarmów wysoko węglowodanowych wywołujących hiperamonemię i pogorszenie samopoczucia, a nawet encefalopatię i śpiączkę wątrobową [47]. Spożywanie tych pokarmów wpływa na zwiększenie proporcji NADH/NAD⁺, co zwiększa pobieranie szczawiooctanu przez cytoplazmatyczną izoformę dehydrogenazy jabłczanowej (cMDH) i wywołuje niedobór substratu AST1 do kompensacyjnej syntezy L-Asp [45,46].

Badania pacjentów z wrodzonym niedoborem mitochondrialnej karboksylazy pirogronianowej (PC) wskazują, że szczawiooctan zużywany przez AST2 do syntezy L-Asp powstaje także z pirogronianu. Poza typowymi objawami, takimi jak hipoglikemia, kwasica ketonowa i mleczanowa, występuje również u tych chorych łagodna hiperamonemia [1]. Niedobór PC objawia się głównie po posiłkach wysokobiałkowych (w okresie resorpcyjnym), kiedy wzrasta aktywność cyklu mocznikowego, a tym samym zapotrzebowanie na L-Asp. Nie bez znaczenia jest też to, że szczawiooctan jest związkiem nietrwałym i ulega spontanicznej dekarboksylacji do pirogronianu, a jego ponowne odtworzenie wymaga aktywności karboksylazy pirogronianowej. Dożylnie podawanie wysokich dawek L-Asp i cytrynianu chorym z niedoborem PC prowadzi do ogólnoustrojowej poprawy metabolizmu, obniżając znacznie stężenie mleczanu i ciał ketonowych oraz normalizując stężenie aminokwasów we krwi [1,37].

Opisane zaburzenia metaboliczne wskazują, że to mitochondrialna izoforma AST2 stanowi główne źródło L-Asp dla cyklu mocznikowego. Jest to także potwierdzenie inter-

pretacji diagnostycznej wskaźnika de Ritisa, w myśl której wzrost aktywności AST w surowicy krwi (zwiększenie wartości wskaźnika) świadczy o uszkodzeniu nie tylko błony, ale i organelli komórkowych, w tym mitochondriów.

Synteza puryn i pirymidyn

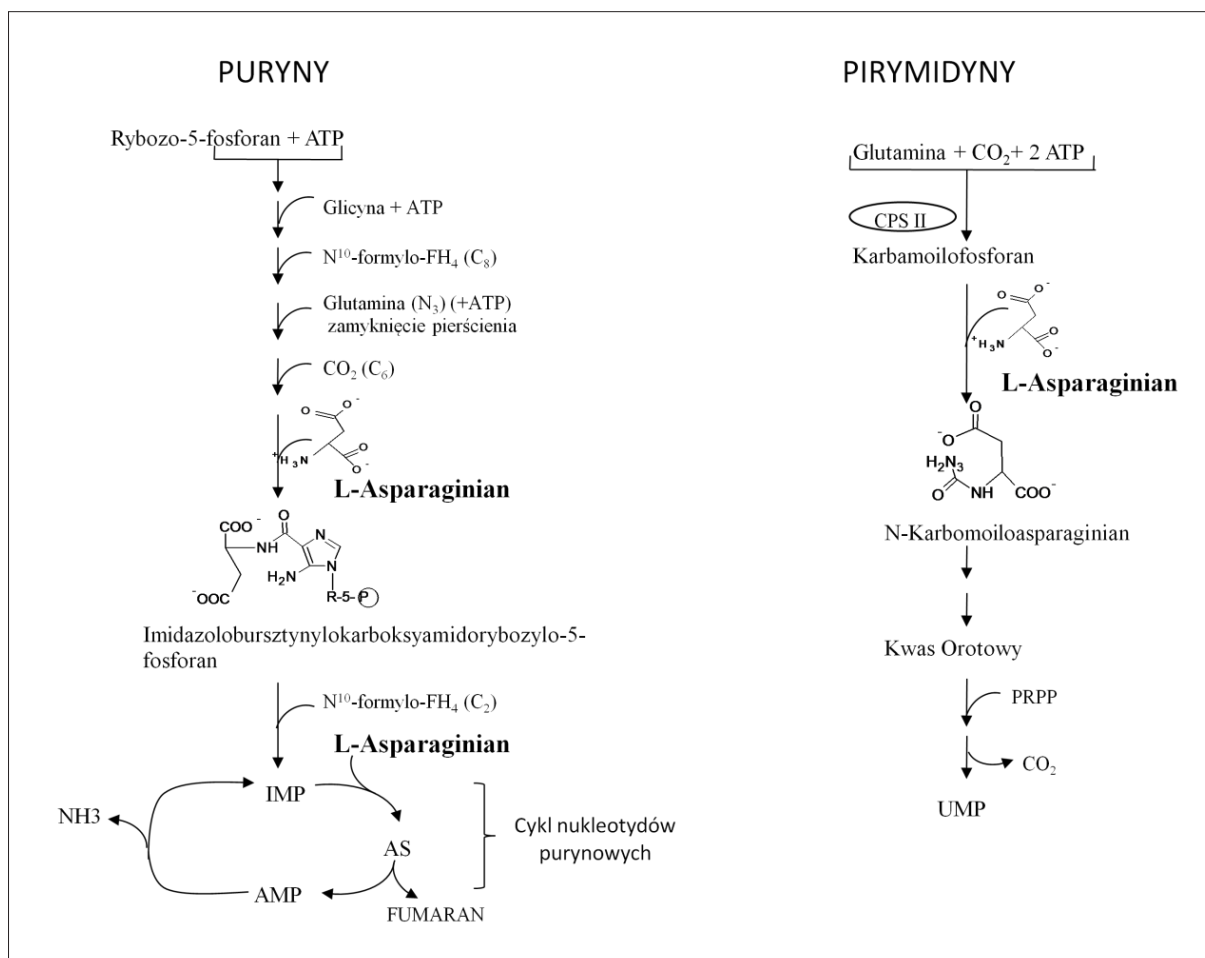
AST, dostarczając L-Asp odgrywa bardzo ważną rolę w syntezie zasad azotowych, zarówno purynowych jak i pirymidynowych. Związki te są składnikami nukleotydów niezbędnych do budowy kwasów nukleinowych oraz pełnią znaczącą rolę w metabolizmie i przekazywaniu sygnałów w komórce. Nukleotydy adeninowe wchodzi także w skład koenzymów, takich jak NAD⁺, NADP⁺, FAD, koenzym A. ATP i GTP stanowią główne źródło energii, cAMP i cGMP służą jako przekaźniki drugiego rzędu, a pochodne nukleotydów, takie jak UDP-glukoza, CDP-diacylglicerol, CDP-cholina, S-adenozylometionina są aktywnymi, wysokoenergetycznymi związkami pośrednimi w syntezie wielu związków [13]. Synteza zasad azotowych odbywa się przede wszystkim w cytosolu hepatocytów, choć większość narządów zawiera komplet enzymów niezbędnych do ich tworzenia. Obecnie uważa się, że oprócz cytosolowej AST1 do syntezy tych związków dawcą L-Asp może być również mitochondrialna izoforma AST2. Jest to możliwe dzięki obecności mitochondrialnych przenośników L-Asp-L-Glu (citrin w wątrobie, aralar w większości tkanek) [19,47].

Udział L-Asp w syntezie zasad purynowych polega na jego kondensacji ze związkiem pośrednim - rybonukleotydem 5-aminoimidazolo-4-karboksylowym, co powoduje wbudowanie pierwszego azotu (N-1) do tworzonego pierścienia purynowego. Ostateczny produkt biosyntezy nukleotydów purynowych - IMP (inozynomonofosforan) jest przekształcany do AMP odpowiednio w reakcji aminacji i utleniania. Dwuetapowa reakcja aminacji IMP wymaga udziału L-Asp [50].

L-Asp uczestniczy również w syntezie zasad pirymidynowych, gdzie w przeciwieństwie do syntezy pierścienia purynowego, jego cała cząsteczka jest wbudowana w pierścień. W wyniku kondensacji z karbamiloofosforanem powstaje N-karbamiloasparaginian, który po cyklizacji, odwodorowaniu, przyłączeniu rybozofosforanu z PRPP i dekarboksylacji jest przekształcany w urydyno-5'-fosforan (UMP) - prekursor kolejnych nukleotydów pirymidynowych (UTP, CTP i dTMP) (ryc.3) [50].

Synteza L-argininy

Enzymy cytoplazmatyczne cyklu mocznikowego (ASS i ASL) występują także w wielu tkankach pozawątrobowych. Ich obecność umożliwia syntezę L-Arg z L-cytruliny, która powstaje w reakcji katalizowanej przez syntazę tlenku azotu (NOS) lub jest pobierana z krwi. L-cytrulina znajdująca się we krwi jest wyłącznie pochodzenia endogennego, gdyż jest aminokwasem niebiałkowym [14,23]. Jedynym miejscem jej syntezy *de novo* z L-Gln są komórki nabłonka jelita cienkiego (enterocyty), gdyż tylko w nich poza hepatocytami występują mitochondrialne enzymy



Ryc. 3. Udział L-asparagianu w syntezie nukleotydów purynowych i pirymidynowych

cyklu mocznikowego. Stwierdzono, że narządem odpowiedzialnym za syntezę L-Arg na potrzeby całego organizmu są nerki, a pozostałe tkanki wytwarzają go głównie na własne potrzeby (cykl cytrulina-arginina). Rola AST w pozawątrobowej syntezie L-Arg polega, podobnie jak w cyklu mocznikowym, na dostarczeniu substratu dla ASS. Jednak u pacjentów z cytrulinemią typu II nie stwierdza się niedoboru L-Arg, gdyż w mitochondriach komórek kanalików nerkowych występuje inna izoforma przenośnika L-Asp - aralar1 [14,19,23,53].

Cykl nukleotydów purynowych

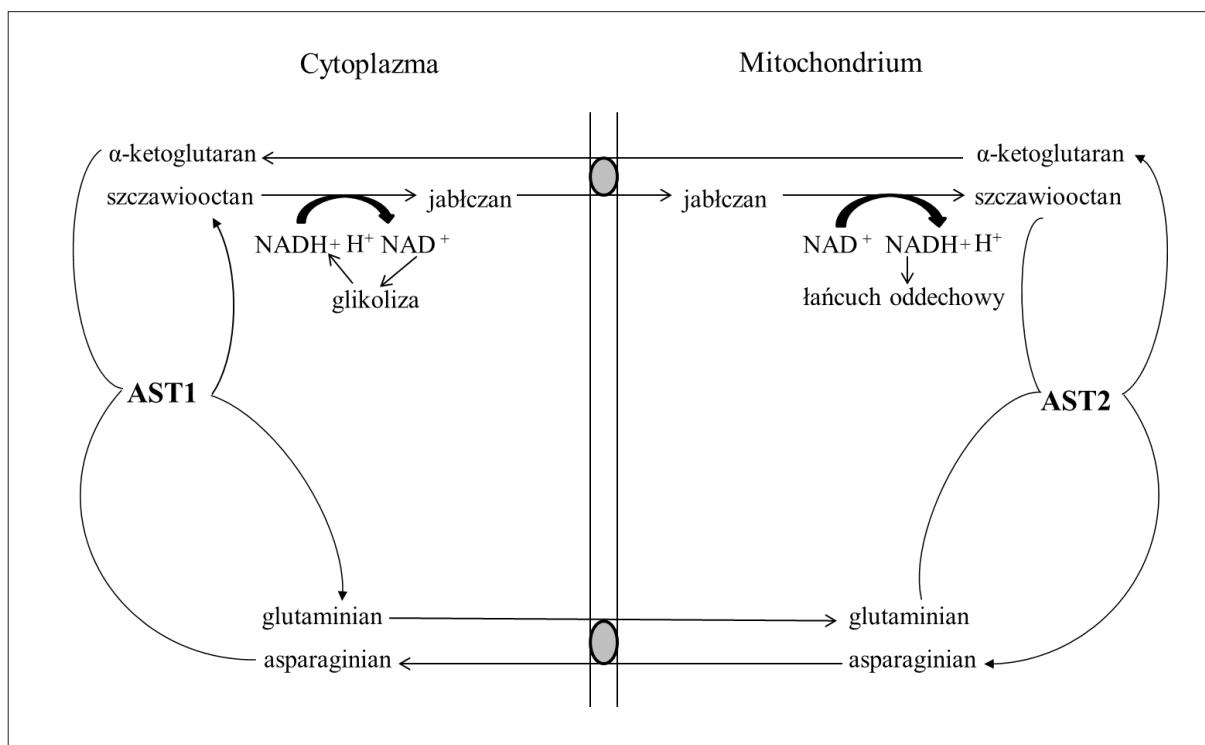
Przekształcanie IMP do AMP z udziałem L-Asp dostarczanego przez AST2 stanowi część obecnego w mięśniach i mózgu cyklu nukleotydów purynowych (CNP) (ryc. 3). W cyklu tym dochodzi do deaminacji AMP w wyniku czego powstaje cząsteczka amoniaku i IMP, a ponowne przeniesienie grupy aminowej z L-Asp odtwarza AMP i powoduje powstanie fumaranu [25,52]. CNP jest szczególnie ważny w pracującym mięśniu, gdzie odbywa się hydroliza wiązania wysokoenergetycznego ATP (źródło energii) z wytworzeniem ADP i nieorganicznego fosforanu. Następnie, w odwracalnej reakcji katalizowanej przez kinazę adeniny-

lanową dwie cząsteczki ADP zostają przekształcone do ATP i AMP, który ponownie wchodzi do cyklu nukleotydów purynowych. Powstający w CNP amoniak alkalizuje środowisko, chroniąc pracujący mięsień przed kwasną mleczanową, a fumaran uzupełnia cykl Krebsa (TCA), zwiększając tym samym syntezę ATP. Zatem źródłem szczawiooctanu może być TCA lub powstający z glukozy pirogronian [48,50]. Obecność cyklu purynowego w mózgu wydaje się mieć podobne znaczenie, jednak powstający amoniak może służyć do syntezy L-Glu pełniącego rolę neuroprzekaźnika o działaniu pobudzającym.

Czółenko jabłczanowo-asparaginianowe

Obie izoformy AST stanowią ważny element czółenka jabłczanowo-asparaginianowego, którego celem jest transport do mitochondrium powstałych w procesie glikolizy równoważników redukcyjnych (NADH) [33,44].

AST1 dostarcza szczawiooctan, który z udziałem cMDH ulega redukcji do jabłczanu i transportuje protony do wnętrza mitochondrium. W macierzy mitochondrium dochodzi do odtworzenia NADH⁺, gdyż jabłczan jest utleniany przez mMDH do szczawiooctanu, który w wyniku



Ryc. 4. Udział aminotransferazy asparaginianowej w czółenku jabłczanowo-asparaginianowym

działania AST2 ulega transaminacji do L-Asp. Obecność mitochondrialnego transportera L-Asp-L-Glu (aralar1) umożliwia przeniesienie L-Asp do cytosolu, gdzie ulega transaminacji do szczawiooctanu wykorzystywanego w kolejnym cyklu (ryc. 4) [20,29,58]. Złożoność tego układu wynika z braku swoistych transporterów dla szczawiooctanu, który aby przejść przez wewnętrzną błonę mitochondrialną musi być przekształcony do jabłczanu lub L-Asp. Czółenko jabłczanowo-asparaginianowe jest szczególnie aktywne w tkankach o nasilonym metabolizmie, takich jak mięsień sercowy, mięśnie szkieletowe czy wątroba. Niedobór aralaru zaburza transport L-Asp i wpływa niekorzystnie na funkcjonowanie czółenka [21,38].

Glukoneogeneza

Substratem w syntezie glukozy *de novo* jest szczawiooctan, który powstaje w wyniku mitochondrialnej karboksylacji pirogronianu pochodzącego głównie z mleczanu i L-alaniny. Szczawiooctan pochodzi także z cyklu Krebsa, będąc produktem metabolizmu aminokwasów glukogennych. Brak transporterów w błonie mitochondrialnej dla szczawiooctanu sprawia, że musi ulec przekształceniu w inny związek transportowany przez błonę mitochondrialną, a następnie zostać odtworzony w cytoplazmie jako substrat do glukoneogenezy.

W skład jednego z mechanizmów transportowych wchodzi oba izoformy AST oraz przenośnik citrin (wątroba) lub aralar (nerki) [23]. AST2 przekształca szczawiooctan w L-Asp, który jest transportowany z mitochondrium do

cytoplazmy przez przenośnik citrin/aralar, a AST1 odtwarza szczawiooctan, który wchodzi w szlak glukoneogenezy. Wydaje się, że ten mechanizm transportu szczawiooctanu wykorzystywanego w glukoneogenezie nie jest wydajny zarówno w wątrobie, jak i nerkach. W obu narządach odbiorcą L-Asp w cytoplazmie jest ASS; w wątrobie do cyklu mocznikowego, w nerkach do syntezy L-Arg.

Obecność izoformy AST1 sugeruje, że L-Asp (aminokwas glukogenny) w wyniku reakcji transaminacji może być przekształcany do szczawiooctanu wykorzystywanego w syntezie glukozy *de novo*. Jednak biorąc pod uwagę niskie stężenie L-Asp we krwi oraz jego udział w cyklu mocznikowym i syntezie nukleotydów, wydaje się mało prawdopodobne, aby służył jako substrat do syntezy glukozy *in vivo*.

Gliceroneogeneza

Tordjman i wsp. wykazali, że AST1 uczestniczy w procesie gliceroneogenezy w tkance tłuszczowej [56]. Gliceroneogeneza jest słabo poznanym szlakiem, którego produktem końcowym jest glicerolo-3-fosforan syntetyzowany ze związków innych niż glicerol i glukoza. Ma szczególne znaczenie w okresie głodu, kiedy w wyniku wzmożonej lipolizy dochodzi do powstawania dużych ilości wolnych kwasów tłuszczowych (WKT), których podwyższone stężenie we krwi może doprowadzić do insulinooporności i rozwoju cukrzycy typu 2. Syntetyzowany glicerolo-3-fosforan jest estryfikowany kwasami tłuszczowymi, co zapobiega przedostaniu się do krwi ich całkowitej puli. W szlak gliceroneogenezy są zaangażowane enzymy glukoneogenezy, a enzymem

regulującym cały proces jest karboksykinaza fosfoenolopirrogoniana. Wydaje się, że poza mleczanem i pirogronianem substratem służącym do syntezy glicerolo-3-fosforanu może być L-Asp, który w wyniku reakcji transaminacji jest przekształcany do szczawiooctanu. Tordjmana i wsp. wykazali, że znakowany węglem L-Asp był wbudowywany do cząsteczki triacyloglicerolu w dojrzałych adipocytach, co wiązało się ze wzrostem aktywności AST1 [56]. Zaobserwowano również, że ekspresja mRNA AST1 i jej aktywność była stymulowana przez rozyglitazon [56]. Rozyglitazon jest lekiem stosowanym w cukrzycy typu 2, który pobudza adipogenezę i wychwyt kwasów tłuszczowych jedynie przez obwodową tkankę tłuszczową. Taki mechanizm działania zapobiega syntezie lipidów w trzewnej tkance tłuszczowej, a tym samym chroni przed rozwojem cukrzycy insulinoniezależnej. Indukowana rozyglitazonem AST1 dostarcza szczawiooctan, który po przekształceniu do glicerolo-3-fosforanu jest estryfikowany kwasami tłuszczowymi. Uzyskane przez autorów wyniki wskazują, że AST1 może być wykorzystana w leczeniu chorych z cukrzycą typu 2 [3,49]. Wydaje się jednak, że *in vivo* obie izoformy AST katalizują reakcję w kierunku tworzenia L-Asp, gdzie szczawiooctan jest substratem, a nie produktem. Świadczyć o tym mogą wartości K_m oraz to, że L-Asp występuje w krwiobiegu w stosunkowo niskim stężeniu, a białko transportujące L-Asp do komórki ma większe powinowactwo do L-Glu, którego stężenie we krwi jest ponad 6-krotnie wyższe. Ponadto L-Asp jest niezbędny jako element czółenka jabłczanowo-asparaginianowego i jako substrat do syntezy nukleotydów, a wykorzystywany w syntezie glicerolo-3-fosforanu szczawiooctan może powstawać z udziałem enzymów cyklu Krebsa po przekształceniu innych glukogennych aminokwasów.

Szlak neuronowo-glejewy

Aminotransferaza asparaginianowa wraz z dehydrogenazą glutaminianową (GDH) są ważnymi enzymami zachodzącymi w mózgu cyklu glutaminian-glutamina, nazywanego również szlakiem neuronowo-glejewym. W mózgu ssaków L-Glu pełni rolę neuroprzekaźnika pobudzającego, uwalnianego przez zakończenia synaptyczne [29]. Następnie L-Glu jest wychwytywany przez astrocyty, w których syntetaza glutaminowa przekształca go do L-Gln. Uwalniania L-Gln jest pobierana przez neurony i wykorzystana do resyntezy L-Glu, który może służyć jako substrat energetyczny, substrat do syntezy glutationu lub kwasu γ -aminomasłowego (GABA) [2]. Poza syntezą L-Gln, L-Glu pobierany przez astrocyty z przestrzeni synaptycznych może być utleniony w cyklu Krebsa lub służyć do biosyntezy białek i glutationu [33]. Liczne badania wykazały obecność AST i GDH w astrocytach i zakończeniach synaptycznych, jednak wciąż niewiele wiadomo na temat ich udziału w metabolizmie L-Gln i L-Glu [31,34]. Oprócz syntezy *de novo* z L-Glu, ważnym źródłem L-Gln w astrocytach jest krew. Pobrana z krwi L-Gln z udziałem umiejscowionej w mitochondriach glutaminazy ulega deamidacji do L-Glu, który może być substratem mitochondrialnych enzymów, takich jak AST2 i GDH. Oba enzymy są zdolne do syntezy α -ketoglutaranu, który następnie jest utleniany w cyklu Krebsa. Wykazano, że pochodzący z L-Gln

tw. endogenne L-Glu jest przede wszystkim metabolizowany z udziałem AST2 (umiejscowionej wraz z glutaminazą na wewnętrznej błonie mitochondrialnej), podczas gdy pobierany z przestrzeni synaptycznej tw. egzogenne L-Glu jest utleniany z udziałem GDH. Ponadto wykazano, że astrocyty utleniają egzogenne L-Glu prawie dwa razy szybciej, co może mieć związek z ich fizjologiczną rolą, która polega przede wszystkim na usuwaniu nadmiaru L-Glu z przestrzeni synaptycznej i syntezie L-Gln, a nie jej degradacji. Szybsze utlenianie egzogenne L-Glu w astrocytach może być spowodowane konkurencją o wiązanie do błony mitochondrialnej między AST a enzymem cyklu Krebsa - mMDH. Wykazano, że oba enzymy do pełnej aktywności wymagają związania z wewnętrzną błoną mitochondrialną, a ich jednoczesne przyłączenie jest niemożliwe [29,30,31]. Ponadto GDH jest aktywowana przez ADP, którego stężenie w komórce wzrasta, gdy poziom energii jest niski. Wzrost stężenia substratów energetycznych prowadzi do oddysocjowania mMDH i przyłączenia AST2 w celu zwiększenia wydajności czółenka jabłczanowo-asparaginianowego [32,33].

Zakończenia synaptyczne są bogate w mitochondria i charakteryzują się intensywnym metabolizmem tlenowym i dużą aktywnością AST1 i AST2. W odróżnieniu od astrocytów w zakończeniach synaptycznych przekształcenie L-Gln w α -ketoglutaran i włączenie go w cykl Krebsa odbywa się przede wszystkim z udziałem GDH, a nie AST. Duże zapotrzebowanie na energię w zakończeniach synaptycznych wymaga dużej aktywności enzymów czółenka jabłczanowo-asparaginianowego, m.in. AST2, które konkuruje o miejsce wiązania do wewnętrznej błony mitochondrialnej z dehydrogenazą glutaminianową, co wpływa na szybkość utleniania tkankowego.

Izoforma AST2 odgrywa także bardzo istotną rolę w stanach patologicznych mających podstawowe znaczenie dla przeżycia i funkcjonowania komórek nerwowych - hipoglikemii oraz stresu oksydacyjnego. Wynika to z unikalnej cechy tego enzymu, jest to bowiem jedyna aminotransferaza, dla której substratem i produktem są związki pośrednie cyklu Krebsa: szczawiooctan i α -ketoglutaran. Pozwala to na ominięcie reakcji na etapie od syntazy cytrynianowej do dehydrogenazy izocytrynianowej, a zatem włączania acetylo-CoA w cykl Krebsa.

Stwierdzono, że AST2 umożliwia przeżycie neuronów w stanie długotrwałej hipoglikemii, gdyż staje się wówczas enzymem zamykającym skrócony cykl Krebsa. Substratem energetycznym neuronów jest L-Gln przekształcana w L-Glu, a następnie α -ketoglutaran. Produktem końcowym tego szlaku analogicznego do glutaminolizy w komórkach szybko dzielących się jest L-Asp [51].

AST2 jest także enzymem, który przeciwdziała negatywnym skutkom stresu oksydacyjnego na metabolizm komórek nerwowych. Cis-akonitaza, enzym cyklu Krebsa zawierający kompleksy żelazowo-siarkowe (FE-S) jest podatny na hamujące działanie reaktywnych form tlenu powstających m.in. w wyniku reakcji oksydoredukcyjnych przebiegają-



Guidetti i wsp. wykazali, że AST2 jest zdolny do syntezy kwasu kinurenowego (kinurenianowego), który jako produkt degradacji tryptofanu jest antagonistą receptorów NMDA i $\alpha 7$ nikotynowych w mózgu. Kwas kinurenowy powstaje w wyniku nieodwracalnej transaminacji L-kinureniny, a wiążąc się z receptorami blokuje glutaminergiczne i cholinergiczne neuroprzekaźnictwo. Reakcja transaminacji jest katalizowana przez trzy różne enzymy mające właściwości aminotransferaz kinurenianowych (KAT). Aminotransferaza glutaminy K ma aktywność KATI, aminotransferaza α -aminadypinianowa aktywność KATII, natomiast AST2 KATIII [16].

Pierwotnie opisany „klasyczny” szlak glutaminolizy jest umiejscowiony w mitochondriach i przebiega z udziałem części enzymów cyklu Krebsa [8,61]. Polega na przekształceniu L-Gln do L-Glu z udziałem glutaminazy. Następnie L-Glu jest przekształcany przez AST2 do α -ketoglutaranu, który ulega oksydacyjnej dekarboksylacji w cyklu Krebsa.

Izoformy AST, ze względu na pełnione funkcje w glutaminolizie oraz syntezie zasad azotowych, odgrywają istotną rolę w metabolizmie komórek nowotworowych. Stwierdzono, że wyciszenie genu *Got1* powodowało zahamowanie proliferacji komórek raka sutka i trzustki.

Uważa się, że izoformy aminotransferazy asparaginianowej ze względu na pełnione funkcje w glutaminolizie oraz

syntezie zasad azotowych odgrywają istotną rolę w metabolizmie komórek nowotworowych. Thornboug i wsp. donoszą, że zastosowanie aminooksyotanu i oksamianu - związków, które są inhibitorami AST hamuje proliferację linii komórkowej raka piersi MDA-MB-231 [54]. Autorzy stwierdzili, że działanie antymetaboliczne badanych inhibitorów polega na upośledzeniu transportu elektronów do wnętrza mitochondrium, ponieważ AST jest elementem łańcucha jabłczanowo-asparaginianowego, jednak może to być również wynik braku syntezy L-Asp. Jednocześnie zaobserwowali, że oksamian opisywany wcześniej jako inhibitor dehydrogenazy mleczanowej (LDH) nie hamuje jej aktywności, co wskazuje, że powstający w procesie glikolizy NADH jest regenerowany w cytosolu z wytworzeniem mleczanu. Istnieje wiele danych literaturowych opisujących nadekspresję LDH w komórkach nowotworowych [24]. Jest to związane ze zmienionym metabolizmem komórek nowotworowych, gdzie zaburzony zostaje transport równoważników redukcyjnych i działanie klasycznego łańcucha jabłczanowo-asparaginianowego, a jedynym sposobem pozwalającym na odtworzenie NAD jest redukcja pirogronianu. W przeciwieństwie do komórek prawidłowych, w komórkach nowotworowych istotnym źródłem pirogronianu jest proces glutaminolizy, a nie glikolizy, której intermediaty są zużywane do syntezy seryny, glicyny, fragmentów jednowęglowych i fosfolipidów. Ponadto, ostatni enzym glikolizy - kinaza pirogronianowa w ko-

mórkach nowotworowych występuje w postaci nieaktywnej (dimerycznej) [54]. Prawdopodobną przyczyną zahamowania proliferacji komórek linii MDA-MB-231 na skutek inhibicji AST nie jest zablokowanie łańcucha jabłczanowo-asparaginianowego, lecz brak syntezy L-Asp niezbędnej do powstania nukleotydów.

PODSUMOWANIE

Aminotransferaza asparaginianowa (AST) jest powszechnie znanym enzymem wskaźnikowym stosowanym w diagnostyce chorób wątroby, serca oraz stanach zapalnych różnych narządów. AST uczestniczy w wielu ważnych procesach metabolicznych organizmu, takich jak cykl mocznikowy w wątrobie czy łańcucha jabłczanowo-asparaginianowe w mięśni sercowym. Jej udział w syntezie nukleotydów i tym samym w proliferacji szybko dzielących się komórek stawia ją w kręgu zainteresowania enzymów zaangażowanych w rozwój procesu nowotworowego. Przemawia za tym także udział AST w procesach glutaminolizy i syntezy argininy. Interesująca jest również rola tego enzymu w przeżywalności neuronów w stanie długotrwałej hipoglikemii oraz udział w szlaku neuronowo-glejowym, którego zaburzenia mogą doprowadzić do zakłócenia syntezy neuroprzekazników glutaminianu i GABA. Wieloraka funkcja metaboliczna aminotransferazy asparaginianowej wskazuje na możliwość wykorzystania jej do nowych celów zarówno diagnostycznych, jak i terapeutycznych.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Ahmad A., Kahler S.G., Kishnani P.S., Artigas-Lopez M., Pappu A.S., Steiner R., Millington D.S., Van Hove J.L.: Treatment of pyruvate carboxylase deficiency with high doses of citrate and aspartate. *Am. J. Med. Genet.*, 1999; 87: 331-338
- [2] Bak L.K., Schousboe A., Waagepetersen H.S.: The glutamate/GABA-glutamine cycle: aspects of transport, neurotransmitter homeostasis and ammonia transfer. *J. Neurochem.*, 2006; 98: 641-653
- [3] Bose T., Voruganti V.S., Tejero M.E., Proffitt J.M., Cox L.A., Vandenberg J.L., Mahaney M.C., Rogers J., Freeland-Graves J.H., Cole S.A., Comuzzie A.G.: Identification of a QTL for adipocyte volume and of shared genetic effects with aspartate aminotransferase. *Biochem. Genet.* 2010; 48: 538-547
- [4] Braunstein A.E., Kritzmman M.G.: Formation and breakdown of amino-acids by inter-molecular transfer of amino group. *Nature*, 1937; 140: 503-504
- [5] Brenda – enzyme database <http://www.brenda-enzymes.org/> (17.05.2014)
- [6] Cohen N.D., Beegen H., Utter M.F., Wrigley N.G.: A re-examination of the electron microscopic appearance of pyruvate carboxylase from chicken liver. *J. Biol. Chem.*, 1979; 254: 1740-1747
- [7] Crow K.E., Braggins T.J., Hardman M.J.: Human liver cytosolic malate dehydrogenase: purification, kinetic properties, and role in ethanol metabolism. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1983; 225: 621-629
- [8] DeBerardinis R.J., Mancuso A., Daikhin E., Nissim I., Yudkoff M., Wehrli S., Thompson C.B.: Beyond aerobic glycolysis: transformed cells can engage in glutamine metabolism that exceeds the requirement for protein and nucleotide synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 19345-19350
- [9] Doonan S., Barra D., Bossa F.: Structural and genetic relationships between cytosolic and mitochondrial isoenzymes. *Int. J. Biochem.*, 1984; 16: 1193-1199
- [10] Doyle J.M., Schinina M.E., Bossa F., Doonan S.: The amino acid sequence of cytosolic aspartate aminotransferase from human liver. *Biochem. J.*, 1990; 270: 651-657
- [11] Dunlop D.S., Neidle A., McHale D., Dunlop D.M., Lajtha A.: The presence of free D-aspartic acid in rodents and man. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1986; 141: 27-32
- [12] Ford G.C., Eichele G., Jansonius J.N.: Three-dimensional structure of a pyridoxal-phosphate-dependent enzyme, mitochondrial aspartate aminotransferase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1980; 77: 2559-2563
- [13] Furuchi T., Homma H.: Free D-aspartate in mammals. *Biol. Pharm. Bull.*, 2005; 28: 1566-1570
- [14] Graboń W.: Arginina-podstawowy aminokwas w procesie nowotworzenia. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2006; 60: 483-489
- [15] Green D.E., Leloir L.F., Nocolo V.: Transaminases. *J. Biol. Chem.*, 1945; 161: 559-582
- [16] Guidetti P., Amori L., Sapko M.T., Okuno E., Schwarcz R.: Mitochondrial aspartate aminotransferase: a third kynurenate-producing enzyme in the mammalian brain. *J. Neurochem.*, 2007; 102: 103-111
- [17] Hertz L., Kala G.: Energy metabolism in brain cells: effects of elevated ammonia concentrations. *Metab. Brain Dis.*, 2007; 22: 199-218
- [18] Homma H.: Biochemistry of D-aspartate in mammalian cell. *Amino Acids*, 2007; 32: 3-11
- [19] Iijima M., Jalil A., Begum L., Yasuda T., Yamaguchi N., Li M.X., Kawada N., Endou H., Kobayashi K., Saheki T.: Pathogenesis of adult-

-onset type II citrullinemia caused by deficiency of citrin, a mitochondrial solute carrier protein: tissue and subcellular localization of citrin. *Adv. Enzyme Regul.*, 2001; 41: 325-342

[20] Indiveri C., Krämer R., Palmieri F.: Reconstitution of the malate/aspartate shuttle from mitochondria. *J. Biol. Chem.*, 1987; 262: 15979-15983

[21] Jalil M.A., Begum L., Contreras L., Pardo B., Iijima M., Li M.X., Ramos M., Marmol P., Horiuchi M., Shimotsu K., Nakagawa S., Okubo A., Sameshima M., Isashiki Y., Del Arco A., Kobayashi K., Satrustegui J., Saheki T.: Reduced N-acetylaspargate levels in mice lacking aralar, a brain- and muscle-type mitochondrial aspartate-glutamate carrier. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 31333-31339

[22] Jenkins W.T., Yphantis D.A., Sizer Y.W.: Glutamic aspartic transaminase. I. Assay, purification, and general properties. *J. Biol. Chem.*, 1959; 234: 51-57

[23] Kobayashi K., Sinasac D.S., Iijima M., Boright A.P., Begum L., Lee J.R., Yasuda T., Ikeda S., Hirano R., Terazono H., Crackower M.A., Kondo I., Tsui L.C., Scherer S.W., Saheki T.: The gene mutated in adult-onset type II citrullinemia encodes a putative mitochondrial carrier protein. *Nat. Genet.*, 1999; 22: 159-163

[24] Koukourakis M.I., Giatromanolaki A., Sivridis E., Gatter K.C., Harris A.L.: Tumor and Angiogenesis Research Group: Pyruvate dehydrogenase and pyruvate dehydrogenase kinase expression in non small cell lung cancer and tumor-associated stroma. *Neoplasia*, 2005; 7: 1-6

[25] Kovacević Z., Jerance D., Brkljac O.: The role of glutamine oxidation and the purine nucleotide cycle for adaptation of tumour energetics to the transition from the anaerobic to the aerobic state. *Biochem. J.*, 1988; 252: 381-386

[26] Lancha A.H. Jr., Recco M.B., Abdalla D.S., Curi R.: Effect of aspartate, asparagine, and carnitine supplementation in the diet on metabolism of skeletal muscle during a moderate exercise. *Physiol. Behav.*, 1995; 57: 367-371

[27] Leung F.Y., Henderson A.R.: Isolation and purification of aspartate aminotransferase isoenzymes from human liver by chromatography and isoelectric focusing. *Clin. Chem.*, 1981; 27: 232-238

[28] Martinez M., Frank A., Diez-Tejedor E., Hernanz A.: Amino acid concentrations in cerebrospinal fluid and serum in Alzheimer's disease and vascular dementia. *J. Neural Transm. Park. Dis. Dement. Sect.*, 1993; 6: 1-9

[29] McKenna M.C.: The glutamate-glutamine cycle is not stoichiometric: fates of glutamate in brain. *J. Neurosci. Res.*, 2007; 85: 3347-3358

[30] McKenna M.C., Sonnewald U., Huang X., Stevenson J., Zielke H.R.: Exogenous glutamate concentration regulates the metabolic fate of glutamate in astrocytes. *J. Neurochem.*, 1996; 66: 386-393

[31] McKenna M.C., Stevenson J.H., Huang X., Hopkins I.B.: Differential distribution of the enzymes glutamate dehydrogenase and aspartate aminotransferase in cortical synaptic mitochondria contributes to metabolic compartmentation in cortical synaptic terminals. *Neurochem. Int.*, 2000; 37: 229-241

[32] McKenna M.C., Tildon J.T., Stevenson J.H., Boatright R., Huang S.: Regulation of energy metabolism in synaptic terminals and cultured rat brain astrocytes: differences revealed using aminooxyacetate. *Dev. Neurosci.*, 1993; 15: 320-329

[33] McKenna M.C., Waagepetersen H.S., Schousboe A., Sonnewald U.: Mitochondrial and astrocytic shuttle mechanisms for cytosolic-mitochondrial transfer of reducing equivalents: current evidence and pharmacological tools. *Biochem. Pharmacol.*, 2006; 71: 399-407

[34] Morán J., Rivera-Gaxiola M.: Effect of potassium and N-methyl-D-aspartate on the aspartate aminotransferase activity in cultured cerebellar granule cells. *J. Neurosci. Res.*, 1992; 33: 239-247

[35] Mullen A.R., Wheaton W.W., Jin E.S., Chen P.H., Sullivan L.B., Cheng T., Yang Y., Linehan W.M., Chandel N.S., DeBerardinis R.J.: Reductive carboxylation supports growth in tumour cells with de-

fective mitochondria. *Nature*, 2011; 481: 385-388

[36] Ota N., Shi T., Sweedler J.V.: D-Aspartate acts as a signaling molecule in nervous and neuroendocrine systems. *Amino Acids*, 2012; 43: 1873-1886

[37] Palmieri L., Pardo B., Lasorsa F.M., del Arco A., Kobayashi K., Iijima M., Runswick M.J., Walker J.E., Saheki T., Satrustegui J., Palmieri F.: Citrin and aralar1 are Ca²⁺-stimulated aspartate/glutamate transporters in mitochondria. *EMBO J.*, 2001; 20: 5060-5069

[38] Pardo B., Rodrigues T.B., Contreras L., Garzón M., Llorente-Folch I., Kobayashi K., Saheki T., Cerdan S., Satrustegui J.: Brain glutamine synthesis requires neuronal-born aspartate as amino donor for glial glutamate formation. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2011; 31: 90-101

[39] Pithukpakorn M., Wei M.H., Toure O., Steinbach P.J., Glenn G.M., Zbar B., Linehan W.M., Toro J.R.: Fumarate hydratase enzyme activity in lymphoblastoid cells and fibroblasts of individuals in families with hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer. *J. Med. Genet.*, 2006; 43: 755-762

[40] Pol S., Bousquet-Lemerrier B., Pavé-Preux M., Bulle F., Passage E., Hanoune J., Mattei M.G., Barouki R.: Chromosomal localization of human aspartate aminotransferase genes by *in situ* hybridization. *Hum. Genet.*, 1989; 83: 159-164

[41] Raimundo N., Ahtinen J., Fumić K., Barić I., Remes A.M., Renkonen R., Lapatto R., Suomalainen A.: Differential metabolic consequences of fumarate hydratase and respiratory chain defects. *Biochim. Biophys. Acta*, 2008; 1782: 287-294

[42] Rej R.: Measurement of aspartate aminotransferase activity: effects of oxamate. *Clin. Chem.*, 1979; 25: 555-559

[43] Rej R.: Aspartate aminotransferase activity and isoenzyme proportions in human liver tissues. *Clin. Chem.*, 1978; 24: 1971-1979

[44] Rej R.: Measurement of aminotransferases. Part 1. Aspartate aminotransferase. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 1984; 21: 99-186

[45] Saheki T., Kobayashi K.: Mitochondrial aspartate glutamate carrier (citrin) deficiency as the cause of adult-onset type II citrullinemia (CTLN2) and idiopathic neonatal hepatitis (NICCD). *J. Hum. Genet.*, 2002; 47: 333-341

[46] Saheki T., Kobayashi K., Iijima M., Horiuchi M., Begum L., Jalil M.A., Li M.X., Lu Y.B., Ushikai M., Tabata A., Moriyama M., Hsiao K.J., Yang Y.: Adult-onset type II citrullinemia and idiopathic neonatal hepatitis caused by citrin deficiency: involvement of the aspartate glutamate carrier for urea synthesis and maintenance of the urea cycle. *Mol. Genet. Metab.*, 2004; 81 (Suppl. 1): S20-S26

[47] Saheki T., Kobayashi K., Terashi M., Ohura T., Yanagawa Y., Okano Y., Hattori T., Fujimoto H., Mutoh K., Kizaki Z., Inui A.: Reduced carbohydrate intake in citrin-deficient subjects. *J. Inher. Metab. Dis.*, 2008; 31: 386-394

[48] Sakai K., Homma H., Lee J.A., Fukushima T., Santa T., Tashiro K., Iwatsubo T., Imai K.: D-aspartic acid localization during postnatal development of rat adrenal gland. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1997; 235: 433-436

[49] Schell M.J., Cooper O.B., Snyder S.H.: D-Aspartate localizations imply neuronal and neuroendocrine roles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 2013-2018

[50] Schultz V., Lowenstein J.M.: Purine nucleotide cycle. Evidence for the occurrence of the cycle in brain. *J. Biol. Chem.*, 1976; 251: 485-492

[51] Sutherland G.R., Tyson R.L., Auer R.N.: Truncation of the Krebs cycle during hypoglycemic coma. *Med. Chem.*, 2008; 4: 379-385

[52] Szydłowska M.: Rodzina genów deaminazy AMP. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 503-509

[53] Ścibior D., Czczot H.: Arginina - metabolizm i funkcje w organizmie człowieka. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2004; 58: 321-332

[54] Thornburg J.M., Nelson K.K., Clem B.F., Lane A.N., Arumugam

S., Simmons A., Eaton J.W., Telang S., Chesney J.: Targeting aspartate aminotransferase in breast cancer. *Breast Cancer Res.*, 2008; 10: R84

[55] Toney M.D.: Reaction specificity in pyridoxal phosphate enzymes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2005; 433: 279-287

[56] Tordjman J., Leroyer S., Chauvet G., Quette J., Chauvet C., Tomkiewicz C., Chapron C., Barouki R., Forest C., Aggerbeck M., Antoine B.: Cytosolic aspartate aminotransferase, a new partner in adipocyte glyceroneogenesis and an atypical target of thiazolidinedione. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 23591-23602

[57] Tretter L., Adam-Vizi V.: Inhibition of Krebs cycle enzymes by hydrogen peroxide: a key role of α -ketoglutarate dehydrogenase in limiting NADH production under oxidative stress. *J. Neurosci.*, 2000; 20: 8972-8979

[58] Ugochukwu E., Pilka E., Cooper C., Bray J.E., Yue W.W., Muniz J., Chaikuad A., Müller S., Lee W.H., Atienza-Herrero J., Marsden B.D., Kavanagh K.L., Oppermann U.: GOT1 (Glutamate Oxaloacetate Transaminase 1). http://www.thesgc.org/sites/default/files/activeISec/GOT1A_3ii0_v1_372a/GOT1A_3ii0_v1_372a_index.html (11.12.2015)

[59] UniPort. <http://www.uniprot.org/uniprot/P17174> (20.05.2014)

[60] Vessal M., Taher M.: Partial purification and kinetic properties of human placental cytosolic aspartate transaminase. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.*, 1995; 110: 431-437

[61] Wise D.R., DeBerardinis R.J., Mancuso A., Sayed N., Zhang X.Y., Pfeiffer H.K., Nissim I., Daikhin E., Yudkoff M., McMahon S.B., Thompson C.B.: Myc regulates a transcriptional program that stimulates mitochondrial glutaminolysis and leads to glutamine addiction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 18782-18787

[62] Wise D.R., Ward P.S., Shay J.E., Cross J.R., Gruber J.J., Sachdeva U.M., Platt J.M., DeMatteo R.G., Simon M.C., Thompson C.B.: Hypoxia promotes isocitrate dehydrogenase-dependent carboxylation of α -ketoglutarate to citrate to support cell growth and viability. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011; 108: 19611-19616

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.