

ŠTO BI PEDIJATAR TREBAO ZNATI O AMINOKISELINAMA I KAD NE BI SMIO PROPUSTITI NJIHOVO MJERENJE

KSENIJA FUMIĆ, KARMEN BILIĆ*

Nalazi aminokiselina iz uzoraka plazme, mokraće i likvora trebali bi imati važno mjesto ponajprije u dijagnostici i praćenju tijeka liječenja niza nasljednih metaboličkih bolesti. U radu se razmatra utjecaj raznih čimbenika na izmjerene vrijednosti aminokiselina. Opisuje se ograničenja metoda mjerenja kao i poteškoće koje u praksi najčešće onemogućuju odgovarajuće tumačenje izmjerenih vrijednosti.

Deskriptori: AMINOKISELINE, NASLJEDNE METABOLIČKE BOLESTI

Uvod

Aminokiseline su sastavni dijelovi proteina i peptida, produkti raznih metaboličkih putova, izvori energije, te se ubrajaju u najznačajnije niskomolekularne spojeve u ljudskom organizmu. Naziv aminokiseline potječe od njihove kemijske strukture: sadrže amino -NH₂ i karboksilnu -COOH skupinu, a mogu sadržavati i druge funkcionalne skupine (hidroksilne, sulfhidrilne i sl.). Nekoliko imino-kiselina (prolin, hidroksiprolin, pipekolična kiselina) također se ubraja u ovu skupinu spojeva. Proteini se sastoje od kombinacija 20 različitih aminokiselina. Više od polovine ovih aminokiselina organizam može sintetizirati iz ketokiselina, a ostale (esencijalne) prima hranom.

Esencijalne aminokiseline su leucin, izoleucin, valin, metionin, treonin, triptofan, fenilalanin, histidin, lizin, a u novorođenčadi još taurin, arginin i glicin.

Iako je za sintezu proteina neophodno samo 20 aminokiselina, u metaboličkim putovima nastaje čitav niz "neobičnih" aminokiselina. Tako se u literaturi navodi više od 100 mogućih aminokiselina u mokraći, a tehnologijom tandemске spektrometrije masa moguće je prepoznati 76 aminokiselina koje mogu biti od kliničkog interesa (1, 2). Sve su to biokemijske činjenice, no pedijatri se u dnevnoj praksi najčešće nameću pitanja: koje su to indikacije za mjerenje aminokiselina, u kojem uzorku, kojom metodom (kvalitativno ili kvantitativno) i kako protumačiti dobivene nalaze. Cilj ovog članka je dati smjernice koje će liječnicima, ponajprije pedijatri, omogućiti najoptimalnije korištenje nalaza aminokiselina u kliničkoj praksi.

Zašto, kada i kakav uzorak treba uzeti za analizu aminokiselina

Jedan od najčešćih razloga za mjerenje aminokiselina u djece je selektivni probir za nasljednim metaboličkim bolestima. U ovu svrhu nalaz aminokiselina, uz nalaze drugih specifičnih metaboličkih pretraga (organske kiseline u mokraći, karnitin, acil-karnitini i nalazi drugih metabolita), trebao bi doprinijeti razjašnjenju uzroka bolesti. Drugi razlog je osnovana klinička sumnja na neki od nasljednih metaboličkih poremećaja ka-

tabolizma, biosinteze i prijenosa aminokiselina. Neki od ovih poremećaja poznati su već više desetljeća. Tako je cistinuriju, uz albinizam, alkaptonuriju i pentozuriju opisao već Sir Archibald Garrod 1909. godine u prvoj knjizi o nasljednim metaboličkim bolestima "Inborn errors of metabolism" (3). Od tada je opisan niz nasljednih poremećaja metabolizma aminokiselina, pa se učestalost te skupine nasljednih metaboličkih bolesti procjenjuje na oko 1:6000 živorođene djece (4, 5). Fenilketonurija, kao jedna od najučestalijih aminoacidoopatija, otkrivena je prije oko 80 godina, a različiti aspekti ove bolesti ostaju i danas predmet znanstvenih istraživanja. Dodatan opravdan razlog za mjerenje aminokiselina je praćenje tijeka liječenja poremećaja u bolesnika koji su na dijeti s ograničenim unosom proteina. Osim za područje nasljednih metaboličkih bolesti, promjene u koncentracijama i sastavu aminokiselina mogu biti od pomoći i u dijagnostici bolesti jetre, bubrega, crijeva i mišića.

Neovisno o indikaciji, da bi dobiveni nalazi izmjerenih aminokiselina u potpunosti imali pravu kliničku vrijednost, neophodno bi bilo pripremiti bolesnika (obzirom na vrijeme uzimanja i prehranu), uzeti krv (pri tome nastojati izbjeći hemolizu) i dostaviti (poštujući preporučeno vrijeme i uvjete) uzorak u labo-

*Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku
Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Medicinskog
fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Adresa za dopisivanje:
Dr. sc. Ksenija Fumić
Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku
Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Medicinskog
fakulteta Sveučilišta u Zagrebu
10000 Zagreb, Kišpatićeva 12
E-mail: ksenija.fumic@zg.t-com.hr

Tablica 1.

Najznačajnije promjene koncentracija aminokiselina u serumu/plazmi (sekundarne promjene u kurzivu). GABA-gama-aminobutirična kiselina; HHH-hiperornitinemija, hiperamonijemija, homocitrulinurija; MTHFR-metiltetrahydrofolat reduktaza

Table 1

The most significant changes in serum/plasma amino acid concentrations (secondary changes in italics). GABA-gamma-aminobutyric acid; HHH-hyperornithinemia, hyperammonemia, homocitrullinemia; MTHFR-5,10-methylene-tetrahydrofolate reductase

Povišena koncentracija	AMINOKISELINA	Snížena koncentracija
Mitondrijski poremećaji stvaranja energije (poremećaji oksidacije piruvata) Hiperamonijemija	ALANIN	Dulje gladovanje
Manjak GABA-transaminaze β -alaninemija <i>Terapija vigabatrinom</i>	β -ALANIN	Manjak ureidopeptidaze
Leucinoza	ALOIZOLEUCIN	
α -keto adipinska acidurija	α -AMINOADIPINSKA KISELINA	
Produljeno gladovanje	β -AMINOIZOMASLAČNA KISELINA	Poremećaji razgradnje pirimidina
Hiperargininemija	ARGININ	Lizinurička intolerancija proteina Poremećaji ciklusa ureje HHH sindrom <i>Hemolitična plazma/serum</i>
Manjak ASA-liaze <i>Hemolitična plazma/serum</i>	ARGININOSUKCINIČNA KISELINA ASPARTIČNA KISELINA	
Citrulinemija tipa 1 i 2 Manjak ASA-liaze Lizinurička intolerancija proteina <i>Manjak piruvat karboksilaze</i> Bubrežna insuficijencija	CITRULIN	Manjak N-acetilglutamat sintetaze Manjak karbamilfosfat sintetaze Manjak ornitin transkabilaze Manjak pirolin-5-karboksilat sintaze <i>Celijakija, Cronova bolest</i>
Manjak cistationaze	CISTATIONIN	
	CISTIN	Manjak sulfit oksidaze Homocistinurija
Manjak GABA transaminaze <i>Hemolitična plazma/serum</i> <i>Dugo čuvanje plazme/seruma</i>	GABA GLUTAMINSKA KISELINA	
Hiperamonijemije	GLUTAMIN	Manjak glutamin sintaze
Neketotična hiperglicinemija Terapija valproatima <i>Ketotična hiperglicinemija</i>	GLICIN	Poremećaji biosinteze serina
Histidinemija	HISTIDIN	
Manjak cistation- β -sintaze Poremećaji metabolizma kobalamina Manjak MTHFR Manjak metionin adenoiltransferaze Hiperhomocisteinemija	HOMOCISTIN	Manjak sulfit oksidaze
Hidroksilizinemija	HIDROKSILIZIN	
Prolinemija tipa 2	HIDROKSIPROLIN	
Leucinoza Manjak lipoamid dehidrogenaze	IZOLEUCIN	Značajni nedostatak proteina u prehrani
Leucinoza Manjak lipoamid dehidrogenaze	LEUCIN	Značajni nedostatak proteina u prehrani
Hiperlizinemija tipa 1 i 2 Saharopinurija <i>Poremećaji urea ciklusa</i> <i>Organske acidemije</i>	LIZIN	Lizinurička intolerancija proteina HHH sindrom Hiperornitinemija

Manjak metionin adenziltransferaze Manjak glicin N-metiltransferaze Manjak S-adenozil hidrolaze Manjak cistation- β -sintaze <i>Tirozinemija tipa 1</i> <i>Jetrene bolesti</i>	METIONIN	Poremećaji metabolizma kobalamina Manjak MTHFR
Hiperornitinemija HHH sindrom <i>Hemolitična plazma/serum</i>	ORNITIN	Poremećaji ciklusa ureje Manjak pirolin-5-karboksilat sintaze
Fenilketonurije	FENILALANIN	
Peroksisomski poremećaji Manjak dehidrogenaze argininosukcinične kiseline Hiperlizinemija	PIPEKOLIČNA KISELINA	
Prolinemija tipa 1 i 2 <i>Laktacidoza</i>	PROLIN	Manjak pirolin-5-karboksilat sintaze
Saharopinurija	SAHAROPIN	
Sarkozinemija Višestruki manjak acil-CoA dehidrogenaza	SARKOZIN	
	SERIN	Poremećaji biosinteze serina
Manjak sulfat oksidaze Manjak kofaktora molibdena <i>Hemolitična plazma/serum</i>	TAURIN	
Triptofanemija	TRIPTOFAN	
Tirozinemija tipa 1, 2 i 3 <i>Jetrene bolesti</i>	TIROZIN	
Leucinoza Manjak lipoamid dehidrogenaze <i>Produljeno gladovanje, ketoza</i>	VALIN	

ratorij. Ovaj dio tzv. predanalitičke faze isključivo je pod nadzorom liječnika i medicinskih sestara, a u djece ima posebnu vrijednost zbog dostupne količine krvi. Koje uzorke i kada treba poslati u laboratorij ponajprije ovisi o kliničkoj slici bolesnika. Tako za dijete u metaboličkoj krizi, bez obzira na predanalitičke preporuke, uzorke treba uzeti na početku dijagnostičke obrade jer mjerenje aminokiselina u mirnoj fazi bolesti može znatno otežati otkrivanje uzroka. U ovakvim situacijama preporučljivo je i obavijestiti laboratorijsko osoblje o stanju bolesnika, odnosno hitnosti pretraga.

U ostalim za to indiciranim stanjima (djeca kod kojih se sumnja na poremećaje stvaranja energije u mitohondriju, na pojedine aminoacidopatije, pri nekontroliranoj epilepsiji, zastoju u rastu i razvoju, miopatiji s povišenom kreatin-kinazom, ranim tromboemboličkim incidentima, jetrenim bolestima nejasne etiologije, urolitijazom, bubrežnom tubulopatijom,

pri praćenju terapije i sl.) uputno bi bilo pridržavati se u tekstu navedenih predanalitičkih preporuka.

Aminokiseline su male molekule i kao takve se prenose uz pomoć specifičnih prijenosnika kroz različite membrane. Zato se promjene u njihovim koncentracijama i sastavu mogu pratiti u raznim tjelesnim tekućinama. No, najčešći i najinformativniji uzorak za mjerenje aminokiselina je krv uzeta na EDTA kao antikoagulant (ovisno o hematokritu obično je dovoljno oko 1,5 ml krvi). Ovo je ujedno i preporuka struke, iako nisu primijećene značajnije razlike u izmjerenim vrijednostima aminokiselina u uzorcima plazme i seruma (5). Korištenjem seruma povećava se rizik za stvaranje artefakata iz procesa deaminacije, gubitaka aminokiselina koje sadrže sumpor zbog njihovog vezanja na proteine, te oslobađanja oligopeptida. Uzimanje krvi na antikoagulant ujedno omogućuje brže odvajanje plazme od stanica, a tre-

balo bi i smanjiti mogućnost hemolize, te tako spriječiti oslobađanje većih količina glutamina, aspartične kiseline i taurina iz eritrocita. Najvažnije je da se plazma, odnosno serum, najkasnije unutar dva do tri sata nakon vađenja krvi centrifugiranjem odvoje od stanica i deproteiniziraju (obično uz sulfosalicilnu kiselinu). Tek tako priređen uzorak je stabilan, a u slučaju da se ne analizira odmah, može ostati zamrznut. Nažalost, niti u tako pohranjenom uzorku nije moguće u potpunosti spriječiti postupnu razgradnju glutamina u glutaminsku kiselinu. Također, stajanjem necentrifugirane krvi oslobađa se enzim arginaza koji prevodi arginin u ornitin. Odvajanje plazme od stanica posebno je značajno za aminokiseline homocistein, cistin i triptofan koje se brzo i nepovratno vežu za proteine na sobnoj temperaturi, te je za njihovo mjerenje prethodno opisani postupak potrebno provesti unutar jednog sata.

Ako je to u bolesnika moguće, krv za analizu aminokiselina trebalo bi vaditi ujutro natašte ili najmanje 4 sata nakon obroka, a u male dojenčadi koja se često hrani neposredno prije obroka. Treba naglasiti da su iz tako uzetih uzoraka napravljeni i referentni rasponi. U uzorcima vađenim poslijepodne vrijednosti aminokiselina više su za oko 10-15%. Najveći broj aminokiselina maksimalnu koncentraciju u plazmi postiže oko dva i pol sata nakon obroka, dok leucin, izoleucin i valin ovu koncentraciju dosegnu nakon otprilike pet sati. Iznimka od prije navedenih preporuka je klinička sumnja na hiperamonijemiju kada bi aminokiseline trebalo mjeriti postprandijalno kao i kod glikogenoza u kojih bi dulje gladovanje moglo ugroziti bolesnika. Naravno, provođenje ovih preporuka u praksi nije uvijek moguće, ali je pri tumačenju dobivenih nalaza potrebno uzeti u obzir vrijeme uzimanja uzorka kao i posebno sti prehrane. Primjerice, visoki unos proteina mlijeka, posebno u novorođenčadi, ima za posljedicu povećane koncentracije većine aminokiselina u plazmi (najviše metionina i tirozina), dok izrazita mišićna aktivnost prije uzimanja krvi uzrokuje porast alanina i ornitina. U Tablici 1 prikazane su najznačajnije promjene aminokiselina plazme koje nastaju primarno kao posljedica nasljednih metaboličkih poremećaja, ali su naznačene i sekundarne promjene. Osim prije spomenutih sekundarnih promjena vezanih za stajanje uzorka i hemolizu, poznato je da povišena koncentracija propionske kiseline ili metabolita valproata interferira s kompleksom koji cijepa glicin, što kao posljedicu ima sekundarnu ketotičnu hiperglicinemiju. Dulje gladovanje ima za posljedicu porast aminokiselina razgrađenog lanca (leucin, izoleucin, valin) uz blago sniženje ostalih aminokiselina, a u postprandijalnom uzorku vidljiv je porast esencijalnih aminokiselina. Visoka koncentracija laktata u bolesnika s laktacidozom uz primarnu hiperalaninemiju, zbog inhibicije prolin-oksidge, sekundarno uzrokuje i hiperprolinemiju. Iz svega navedenog može se zaključiti da je pri tumačenju izmjerenih aminokiselina u plazmi nužno posvetiti posebnu pozornost poznavanju svih čimbenika predanalitičke faze kao i mogućih sekundarnih promjena.

Temeljem dosadašnjega laboratorijskog iskustva može se reći da se, neovisno o kliničkoj indikaciji za mjerenje aminokiselina, najčešće uz uzorak krvi automatski šalje i uzorak mokraće. Takav pristup klinički je opravdan u malom broju slučajeva (urolitijaza, sumnja na poremećaje bubrežnog prijenosa aminokiselina i nejasna hiperamonijemija), a znatno opterećuje rad laboratorija. Mokraća je pogodna za analizu aminokiselina koje imaju velik bubrežni klirens (npr. argininosukcinat), što može biti korisno u razjašnjenju hiperamonijemije. Kao uzorak za mjerenje aminokiselina u mokraći može se koristiti porcija mokraće ili 24-satna mokraća, a kod djece s urolitijazom ponekad je potrebno prikupljati i uzorke mokraće u određenim vremenskim periodima tijekom 24-sata. Preporuka je da se nakon prikupljanja uzorci mokraće čuvaju na hladnom kako bi se smanjilo moguće bakterijsko zagađenje koje može uzrokovati promjene u sastavu aminokiselina (porast koncentracija alanina, glicina i prolina, a smanjenje triptofana i serina). Prisutnost hidroksi-prolina u uzorku upućuje na zagađenost mokraće stolicom.

Osim ovih mogućih promjena, poznato je da na nalaz aminokiselina u mokraći utječu lijekovi (ampicilin, paracetamol, cefradin, amoksicilin, vigabatrin i dr.) i prehrana. Potonje je slučaj u dojenčadi koja se hrane isključivo majčinim mlijekom, pa se u urin izlučuju veće količine taurina, a prisutnost homocitrulina upućuje na hranjenje tvorničkim mlijekom za dojenčad koja sadrži ovu aminokiselinu. U starije djece prehrana koja sadrži veće količine bijelog mesa (piletina i sl.) dovodi do značajnijeg porasta aminokiselina karnozina, anserina i 3-metilhistidina u urinu. Kod duljeg gladovanja dolazi i do razgradnje nukleinskih kiselina, što ima za posljedicu izlučivanje odgovarajuće količine β -aminoizomaslačne kiseline u urinu. Metaboliti kao što su fruktoza-1-fosfat (kod intolerancije fruktoze) i galaktoza-1-fosfat (kod galaktozemije) imaju nefrotoksično djelovanje, te zbog toga uzrokuju generaliziranu aminoaciduriju. Isto djelovanje ima i suvišak bakra u Wilsonovoj bolesti. Kao i kod plazme, terapija valproatima sekundarno dovodi do pojačanog izluči-

vanja glicina u urinu. Ako se pak obrati pažnja na referentne raspone aminokiselina u urinu s obzirom na dob, vidljivo su niže vrijednosti u starije djece u odnosu na novorođenčaku i dojenučaku dob. To je u prvom redu posljedica sazrijevanja tubularnog reapsorpcijskog sustava u bubregu.

Za isključivanje nekih dijagnoza, neophodan je nalaz aminokiselina u likvoru. Tako usporedno mjerenje aminokiselina u likvoru i u plazmi ima poseban dijagnostički značaj pri sumnji na neketotičnu hiperglicinemiju (normalan omjer likvor/plazma $>0,06$), dok izmjerena snižena koncentracija serina u likvoru (uz normalnu ili blago sniženu u plazmi) upućuje na nedostatak 3-fosfoglicerat dehidrogenaze. Druge kliničke indikacije su sve nejasne encefalopatije i nekontrolirane epilepsije. Potrebno je naglasiti da su u likvoru sve koncentracije aminokiselina, osim glutamina, značajno niže nego u krvi (6). Iz toga je jasno da i mala primjesa krvi u likvoru bitno utječe na izmjerene vrijednosti pojedinih aminokiselina. Zbog prije spomenutih činjenica i ograničene količine uzorka, uvijek se preporuča kvantitativna analiza aminokiselina u likvoru.

Kvalitativno ili kvantitativno - kako odlučiti

Jedna od čestih dilema liječnika koji šalje uzorke u laboratorij je da li zatražiti kvalitativnu ili kvantitativnu analizu aminokiselina. Oba pristupa imaju prednosti, ali i ograničenja, koja treba imati u vidu pri tumačenju dobivenih nalaza. U ekonomski bogatijim zemljama, ako za to postoje neke od prije navedenih indikacija, analiza aminokiselina u likvoru i plazmi provodi se isključivo kvantitativno. Tako se analiziraju i uzorci urina bolesnika s prisutnim indikacijama. Ostali uzorci urina koji dolaze u sklopu selektivnog traganja za nasljednim metaboličkim bolestima analiziraju se najprije kvalitativno, a tek naknadno, ako kromatogram pokazuje odstupanja od za to predviđenih kontrola, i kvantitativno.

Prednost kvalitativne analize aminokiselina (razne metode tankoslojne kromatografije) je u tome što nije potrebna posebno skupa oprema, pa se mogu

provoditi i u manje opremljenim laboratorijima. Tako je pretraga pristupačnija većem broju liječnika što u pojedinim slučajevima može korisno usmjeriti daljnju dijagnostiku. S druge strane, kvalitativna analiza ima i brojne nedostatke, u prvom redu ograničenu osjetljivost i slabu mogućnost razdvajanja koja omogućuje samo upozorenje na vjerojatno povećanje koncentracije neke od aminokiselina. Metodama tankoslojne kromatografije nije moguće otkriti blago povišene, a niti snižene koncentracije aminokiselina, pa tako nije upotrebljiva pri kontroli terapije. Nažalost, u nas okolnosti nameću da je to često jedina metoda koja je na raspolaganju.

Bitno osjetljivije, ali i značajnije skuplje, su različite kvantitativne metode. U većini metaboličkih laboratorija ove pretrage provode se na aminoanalizatorima koji s kolone ionskog izmjenjivača, pod visokim pritiskom i uz pomoć više pufera, postupno istiskuju pojedine aminokiseline. Nakon reakcije s ninhidrinom, koncentracije aminokiselina izračunavaju se uz interne standarde. Možda je dobro naglasiti da sam proces od pripreme uzorka do izdavanja nalaza u optimalnim uvjetima traje i do pet sati. Jedno od bitnih ograničenja ove "rutinske metode" je nemogućnost odvajanja sulfocisteina od fosfoserina. Zato ako postoji klinička sumnja na manjak sulfit oksidaze ili ksantin oksidaze, odnosno njihovog zajedničkog kofaktora molibdena, potrebno je ponoviti kvantitativnu analizu aminokiselina uz poseban program koji će omogućiti mjerenje sulfocisteina. U praksi je uobičajeno i fluorimetrijsko mjerenje fenilalanina za praćenje bolesnika na dijeti s ograničenom unosom ove aminokiseline. Noviji osjetljiviji postupak mjerenja aminokiselina je metoda visokotlačne tekućinske kromatografije povezana s elektrosprej tandemskom spektrometrijom masa. Ovim postupkom se za nekoliko sati može iz uzorka plazme izdvojiti do 79 dijagnostički važnih aminokiselina (7). Bez obzira na te izuzetne mogućnosti, zbog iznimno skupe opreme i potrebnih vještina za njeno provođenje, ova metoda se ne koristi u rutinskom radu metaboličkih laboratorija. Nešto manje zahtjevno je mjerenje aminokiselina iz uzoraka suhe kapi krvi na filter

papiru. To je metoda koja se uobičajeno koristi zajedno s analizom acil-karnitina u sklopu novorođenačkog traganja za nasljednim metaboličkim bolestima. Uz sve ove tehnologije ne treba zaboraviti na jednostavnu mikroskopsku analizu sedimenta urina, kojom je moguće prepoznati kristale cistina i tirozina, te tako dalje usmjeriti dijagnostičku obradu.

Kako tumačiti dobivene vrijednosti

Klinički koristan nalaz aminokiselina trebao bi osim jasno ispisanih izmjerenih vrijednosti uz referentne raspone za dob, dati liječniku i neka dodatna objašnjenja. Naime, svaka promjena u koncentraciji aminokiselina ne mora nužno biti povezana i s bolesti. To je slučaj primjerice kod histidinemije, hiperlizinemije, α -aminoadipinske acidurije te formimino-glutamične acidurije. Osim promjena u koncentracijama pojedinih aminokiselina, od značaja može biti i promjena u njihovom međusobnom odnosu. Tako omjer alanina i lizina manji od 3 upućuje na moguće poremećaje mitohondrijskog stvaranja energije, dok na teško oštećenje jetre uz rizik jetrene encefalopatije može uputiti tzv. "Fisherov omjer" manji od 2 (koncentracija valin + leucin + izoleucina / fenilalanin + tirozin). U tu svrhu, preporučljivo je pri tumačenju izmjerenih vrijednosti aminokiselina, prvenstveno odgovoriti na pitanja: da li je to normalan nalaz, ima li dijete primarni metabolički poremećaj metabolizma aminokiselina, daje li nalaz neke korisne informacije koje mogu pomoći u praćenju ili promjeni terapije bolesnika s već poznatom dijagnozom, postoje li neke zanimljive osobitosti koje su klinički relevantne, te druge korisne napomene. Osim toga, ako nalaz aminokiselina ukazuje na potrebu za proširenom laboratorijskom obradom, korisno bi bilo i navesti preporučene pretrage.

Poteškoće koje u praksi najčešće onemogućuju odgovarajuće tumačenje nalaza aminokiselina su: poslan samo uzorak urina, bez plazme ili seruma; uzorak bez popratnih kliničkih podataka o bolesniku; uzorak koji je dugo stajao do slanja u laboratorij; nepoznavanje točne dobi bolesnika kako bi se dobivene vrijednosti usporedile s odgovarajućim

referentnim rasponom; postprandijalno uzimanje krvi; nepoznavanje drugih laboratorijskih nalaza bolesnika i sl. Osim potonjih nedoumica, pri tumačenju nalaza često nije jednostavno niti definirati granice kada treba preporučiti daljnju obradu uzoraka bolesnika. Tako još nije jasno određeno: koja je to vrijednost povišene koncentracije glutamina pri kojoj treba odmah mjeriti amonijak u plazmi; treba li i kod blago povišene koncentracije citrulina proširiti dijagnostičku obradu; treba li kod blago povišene koncentracije taurina napraviti provjeru sulfita test-trakicom u svježem uzorku urina ili odmah mjeriti sulfocistein; kakva je klinička značajnost izolirano povišene koncentracije prolina ili lizina u plazmi; kada pojačano izlučivanje tirozina u urinu novorođenčadi postaje klinički značajno; kada je potrebno ponoviti pretragu iz novog uzorka, te niz drugih sličnih dvojbenih situacija.

Što možemo poboljšati

Pri slanju uzoraka na analizu aminokiselina liječnik najčešće očekuje da dobiveni nalazi pomognu u razjašnjenju kliničke slike, isključe moguće nasljedne metaboličke bolesti i pomognu pri praćenju tijeka bolesti. Da bi se u potpunosti zadovoljila ova očekivanja, idealno bi bilo u laboratoriju tumačiti izmjerene vrijednosti aminokiselina uz poznavanje kliničkih podataka i drugih laboratorijskih nalaza (posebice organskih kiselina i acil-karnitina), u suradnji s liječnikom specijalistom iz područja nasljednih metaboličkih bolesti. U svim drugim situacijama, dobra suradnja analitičara i liječnika može značajno poboljšati kvalitetu dobivenog nalaza. Činjenica da na tumačenje nalaza aminokiselina utječe niz predanalitičkih čimbenika nameće potrebu da se ti postupci standardiziraju, a svako odstupanje od preporučenih postupaka zabilježi, kako bi se kasnije pravilno protumačilo. Dobro bi bilo da se u bolesnika koji se kontroliraju u svrhu praćenja terapije, aminokiseline mjere u istom laboratoriju (ista metoda), a uzorak uzima u isto vrijeme nakon obroka.

LITERATURA

1. Bremer HJ, Duran M, Kamerling JP, Przyrembel H, Wadman SK. Disturbances of Amino Acid Metabolism: Clinical Chemistry and Diagnosis. Urban Schwarzenberg Munchen, 1981; 1-525.
2. Piraud M, Vianey-Saban C, Bourdin C, Acquavica-Bourdain C, Boyer S, Elfakir C, Bouchu D. A new reversed-phase liquid chromatographic/tandem mass spectrometric method for analysis of underivatized amino acid: evaluation for the diagnosis and the management of inherited disorders of amino acid metabolism. Rapid Commun Mass Spectrom 2005; 19: 3287-97.
3. Garrod AE. Inborn errors of metabolism. Oxford University Press. Oxford, 1909.
4. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D et al. The metabolic and molecular basis of inherited diseases, 8. izd. New York: McGraw-Hill, 2001.
5. Grier RE, Gahl WA, Cowan T, Bernardini I, McDowell GA, Rinaldo P. Revised Section F7.5 (Quantitative Amino Acid Analysis) and F7.6. (Qualitative Amino Acid Analysis): American College of Medical Genetics Standards and Guidelines for Clinical Genetics Laboratories, 2003. Genet Med 2004; 6 (1): 66-8.
6. Blau N, Duran M, Gibson KM. Ur. Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics, Springer, Berlin-Heidelberg, Germany, 2008.
7. Blau N, Hoffmann GF, Leonard J, Clarke JTR. Ur. Physician's Guide to the treatment and Follow-Up of Metabolic Diseases, Springer, Heidelberg, Germany, 2005; 3-26.

Summary

WHAT PEDIATRICIANS SHOULD KNOW ABOUT AMINO ACIDS AND WHEN THEY SHOULD NOT OMIT AMINO ACID DETERMINATION

K. Fumić, K. Bilić

Results of amino acid analysis of plasma, urine and CSF samples should have an important role primarily in diagnostics and follow-up of the treatment course of many inherited metabolic diseases. In this study, we discuss the influence of various factors on results of amino acid determination. Limitations of measurement methods are described, as well as difficulties that in practice most often prevent proper interpretation of determined values.

Descriptors: AMINO ACIDS, INBORN ERRORS OF METABOLISM