

Received: 2005.03.11
Accepted: 2005.05.10
Published: 2005.06.16

Metabolizm tryptofanu w ślinie szlakiem kinureninowym

Metabolism of tryptophan via the kynurenine pathway in saliva

Piotr Buczko, Dorota Cylik, Wanda Stokowska

Zakład Stomatologii Zachowawczej i Chorób Przyzębia Akademii Medycznej w Białymstoku

Streszczenie

W pracy opisano rolę enzymów szlaku kinureninowego (TDO - 2,3 dioksygenazy tryptofanu i IDO - 2,3 dioksygenazy indolowej), a także właściwości metabolitów rozpadu kinureniny obecnej w ludzkiej ślinie. Opisano także udział metabolitów w patomechanizmie zaburzeń tkanek i narządów. Zwrócono również uwagę na możliwą rolę tych metabolitów w wystąpieniu i przebiegu chorób przyzębia u ludzi.

Słowa kluczowe: szlak kinureninowy • metabolity • ślina

Summary

In this review, the role of the kynurenine pathway enzymes TDO (tryptophan 2,3 dioxygenase) and IDO (indoleamine 2,3 -dioxygenase) as well as the properties of the metabolites of kynurenine degradation present in human saliva described. The implications of these metabolites in the pathomechanism of tissue and organs dysfunction are demonstrated. The authors also describe at length the role of saliva kynurenine derivatives in the onset and development of periodontal disease in humans.

Key words: kynurenine pathway • metabolites • saliva

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_59/7550.pdf

Word count: 3044

Tables: –

Figures: 1

References: 84

Adres autorki: prof. dr hab. Wanda Stokowska, Zakład Stomatologii Zachowawczej i Chorób Przyzębia Akademia Medyczna, ul. M. C. Skłodowskiej 24A, 15-276 Białystok; e-mail: stomzach@amb.edu.pl

1. WSTĘP

Ślina jest jednym z najważniejszych płynów ustrojowych. Ze względu na swój skład i właściwości, spełnia niezmiernie ważną rolę w homeostazie ustrojowej. I tak, ślina zawierając enzymy bierze udział w początkowej fazie trawienia pokarmów, stanowi wstępną barierę przed zakażeniami, a także utrzymuje wilgotność jamy ustnej. Rozwój technik analitycznych, doprowadził do odkrycia wielu substancji mających znaczenie dla właściwości fizykochemicznych i biologicznych śliny. Okazało się, że występowanie niektórych substancji w ślinie może być markerem nie tylko zmian patologicznych zachodzących w jamie ustnej, ale także schorzeń ogólnoustrojowych. Z tego powodu ślina może stać się łatwym do pobierania materiałem diagnostycznym, pozwalającym na wyjaśnienie nieznanych dotąd jeszcze patomechanizmów schorzeń jamy ustnej czy też zaburzeń ogólnoustrojowych i otwierając nowe możliwości terapeutyczne. Badania ostatnich lat wskazują, że takim markerem mogą być metabolity tryptofanu.

2. METABOLIZM TRYPTOFANU

Tryptofan (TRP) – należy do aminokwasów egzogennych niezbędnych do syntezy białek. Na obwodzie aminokwas ten ulega trzem głównym przemianom:

- dekarboksylacji z utworzeniem tryptaminy,
- hydroksylacji z przekształceniem w 5-hydroksytryptofan i utworzenia serotoniny,
- rozerwaniu pierścienia indolowanego, prowadzącego do otrzymania kinureniny (KYN).

W ośrodkowym układzie nerwowym (o.u.n.) tryptofan jest przekształcany do serotoniny i melatoniny, substancji odgrywających fundamentalną rolę w funkcji o.u.n. Melatonina wydzielana w czasie snu jest odpowiedzialna za występowanie rytmu dobowego u ludzi. Serotonina jest neuroprzekaznikiem odpowiedzialnym za występowanie stanów emocjonalnych (agresja, nastrój, sen), a także zachowań seksualnych [7].

Przemiana tryptofanu do serotoniny i melatoniny odbywa się tylko w o.u.n. a w tkankach obwodowych stanowi zaledwie 1–2%. Z puli tryptofanu tylko 4% służy do biosyntezy białek natomiast aż 94% jest metabolizowana na drodze szlaku kinureninowego [67].

W roku 1979 Riley i wsp. [54] opisali metodę oznaczenia metabolitów tryptofanu w ślinie. W 1988 roku Mäkinen i wsp. [38] stwierdzili, że ślina zawiera 9–13 rodzajów aminokwasów, przy czym w niektórych próbach nie stwierdzano argininy, tryptofanu i proliny. Badania wykonano na młodych ochotnikach. Dopiero w 1998 roku, dzięki udoskonaleniu technik analitycznych, wykazano obecność tryptofanu w ślinie [49]. W roku 1989 Yoskida i wsp. [83], a także inni [14] wykazali, że bakterie zawarte w ślinie mogą metabolizować tryptofan.

Nie można wykluczyć, że również same ślinianki mogą przekształcać tryptofan do aktywnych metabolitów mogących spełniać istotną rolę w fizjologii, czy patologii jamy ustnej. Metabolity TRY mogą wreszcie przenikać do śliny z krwi obwodowej.

3. SEROTONINA A ŚLINA

Serotonina jest jednym z produktów degradacji tryptofanu [43]. Amina ta należy do niezmiernie aktywnych biologicznie substancji biorących udział w wielu procesach fizjologicznych i patologicznych. W o.u.n. amina ta jest odpowiedzialna za procesy snu i czuwania. Niedobór serotoniny w mózgu prowadzi do zaburzeń nastroju i namiętności samobójczych oraz depresji. Jej nadmiar wywołuje złość i agresję [43]. Na obwodzie gromadzona jest głównie w przewodzie pokarmowym, gdzie jej nadmiar prowadzi głównie do wzmożonej perystaltyki oraz biegunkę [43]. W układzie krążenia serotonina gromadzi się głównie w płytkach krwi i odpowiada za tworzenie czopu hemostatycznego niezbędnego do zatrzymania krwawienia przy uszkodzeniu naczynia krwionośnego [11].

Pierwsze wzmianki na temat obecności serotoniny w ślinie ukazały się w 1995 roku i zostały opisane przez Nowaka i wsp. [46]. Autorzy ci wykazali, że u samic komara egipskiego (*Aedes aegypti*) serotonina odgrywa ważną rolę w wydzielaniu śliny. Rok później Turner i wsp. [75] wykazali, iż izolowane ślinianki szczura mają receptory serotoniny. Ich pobudzenie hamuje wydzielanie śliny stymulowane acetylocholiną, a także zwiększa stężenie białka w ślinie [5,29].

Niezmiernie interesujące wyniki przyniosły badania Marukawa i wsp. [39], w których zbadano zawartość serotoniny w ślinie u osób z migrenowymi i innymi bólami głowy. Jeżeli w grupie kontrolnej stężenie serotoniny wynosiło 405–450 µg/ml, to u osób z migreną stężenie tej aminy rosło do 900–1000 µg/ml. Okazuje się, że u pacjentów z depresją, chorobą Alzheimera stężenie serotoniny w ślinie jest równie małe jak w o.u.n. [2,16,69].

Wyniki tych badań świadczą o tym, że serotonina zawarta w ślinie stanowić może odbicie zmian zachodzących w o.u.n. a zatem może być prostym i łatwo oznaczalnym markerem diagnostycznym [61]. Wyniki badań własnych wskazują przy tym, iż warunkiem niezbędnym dokonania takich ocen jest wydolny aparat gruczołowy ślinianek, a także stan naczyń krwionośnych [10].

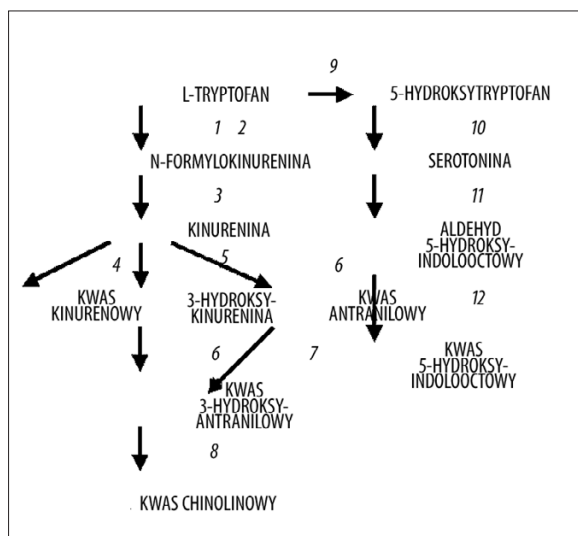
4. SZLAK KINURENINOWY

Drugą, znacznie ważniejszą drogą metabolizmu tryptofanu niż szlak serotoninowy jest droga szlaku kinureninowego.

W roku 1904 wykazano obecność kwasu kinureninowego w psim moczu [67]. Rozwój technik analitycznych spowodował, iż dopiero w latach 50 ub.w. zaczęto dokładnie oceniać główną drogę przemian tryptofanu, ze szczególnym uwzględnieniem udziału koenzymów biorących udział w procesach energetycznych komórki [7]. Przez wiele lat szlak kinureninowy był postrzegany jako źródło związków wysokoenergetycznych, a nie substancji o określonych właściwościach biologicznych [67].

Badania nad tym szlakiem zahamowało zainteresowanie się większości badaczy serotoniną oraz znaczeniem jej w fizjologii i patologii tkanki mózgowej. Sytuacja taka utrzymywała się do końca lat 80 XX wieku, kiedy to odkryto,





Ryc. 1. Schemat szlaku kinureninowego; 1 – 2,3 dioksygenaza tryptofanowa; 2 – 2,3 dioksygenaza indolowa; 3 – formamidaza; 4 – aminotransferaza kinureninowa; 5 – hydroksylaza kinureninowa; 6 – kinureninaza; 7 – hydroksylaza kwasu 3-hydroksyantranilowego; 8 – 3,4 dioksygenaza kwasu 3-hydroksyantranilowego; 9 – monooksygenaza tryptofanu; 10 – hydroksylaza tryptofanu; 11 – monoaminooksydaza; 12 – dehydrogenaza aldehydowa

że podanie niektórych kinurenin do mózgu szczurów powodowało drgawki i zmiany w ich zachowaniu [32,33,35]. Te pierwsze doświadczenia otworzyły drogę do badań nad znaczeniem kinurenin w procesach pamięci, neurotransmisji, a także powstaniu i rozwoju niektórych chorób tkanki nerwowej, chorób nerek oraz nowotworów [44,62,68].

Metabolizm tryptofanu szlakiem kinureninowym prowadzi do powstania wielu aktywnych metabolitów, które wykazują względem siebie działanie antagonistyczne. Na początku aminokwas jest metabolizowany do formylokinureniny, która jest natychmiast przekształcana do kinureniny (ryc. 1). W reakcji tej biorą udział dwa enzymy: 2,3 dihydrooksygenaza tryptofanowa [TDO] i 2,3 dihydrooksygenaza indolanowa [IDO]. Są to najbardziej znane i dotychczas opisane enzymy szlaku kinureninowego.

TDO – zwana również pirolazą katalizuje pierwszy etap szlaku kinureninowego. Enzym ten należy do grupy oksygenaz ponieważ powoduje rozszczepienie pierścienia indolowego z jednoczesnym przyłączeniem atomu tlenu w pozycji 2 i 3. Enzym jest hemoproteiną o masie cząsteczkowej 320 kDa. W centrum katalitycznym enzymu, znajduje się jon żelazowy, który po połączeniu z tlenem molekularnym ulega utlenianiu powodując aktywację enzymu [70]. W związku z tym do przeprowadzenia reakcji konieczna jest obecność kwasu askorbinowego jako reduktora oraz met-hemoglobiny. U ssaków okres półtrwania enzymu wynosi około 2 h [70]. TDO występuje wyłącznie w wątrobie we frakcji cytosolowej i odgrywa ważną rolę w katabolizmie tryptofanu w warunkach fizjologicznych [70].

IDO – katalizuje tę samą reakcję biochemiczną co TDO działając w warunkach fizjologicznych równolegle, natomiast w stanach patologicznych, tj. np. stresu oksydacyj-

nego – aktywność IDO gwałtownie rośnie, a TDO – maleje [70]. Oprócz tryptofanu substratem IDO mogą być: serotonina, melatonina, tryptamina, L-5-hydroksytryptofan [70]. Enzym ten wymaga obecności wolnorodnikowych postaci tlenu jako donoru i dlatego też może działać tylko w układach generujących aktywne formy tlenu. Takim układem jest ksantyna wraz z oksydazą ksantynową. IDO także jest hemoproteiną o masie cząsteczkowej 40 kDa. Obecność tego enzymu wykazano we frakcji cytosolowej nerek, płuc, śledziony, jelita, mózgu, łożyska, najądrzy, gruczołów wydzielania wewnętrznego, monocytach, ale nie w wątrobie [42,73].

Aktywność IDO jest zależna od dostępności tryptofanu, hormonów i cytokin [55]. Interferon γ oraz α i β , a także inne cytokiny prozapalne indukują aktywność IDO [71]. Interleukina 4 oraz czynnik wzrostu TGF- β są inhibitorami tego enzymu [82]. Interferon γ nie ma wpływu bądź hamuje aktywność TDO [56]. Natomiast glikokortykosteroidy i glukagon indukują syntezę tego enzymu, a insulina go hamuje [42].

Metabolizm kinureniny (KYN) może się odbywać 3 drogami i prowadzić do powstania: kwasu kinureninowego (KYNA), 3-hydroksykinureniny (3-HKA) oraz kwasu antranilowego (AA). Zarówno 3-HKA jak też AA mogą się przekształcać w kwas 3-hydroksyantranilowy (3-HANA), który poprzez nietrwały produkt przejściowy przechodzi w kwas chinolinowy (QIN) [42]. QIN jest metabolizowany do dwunukleotydu kwasu nikotynowego. Wszystkie te związki noszą wspólną nazwę – kinurenin [78]. Proces syntezy poszczególnych kinurenin jest katalizowany przez enzymy, których właściwości szerzej opisali Tankiewicz i wsp. [70].

5. WŁAŚCIWOŚCI KINURENIN

5.1. Formylokinurenina

Jest pierwszym nietrwałym związkiem na drodze szlaku kinureninowego. Niewiele wiadomo o właściwościach tego związku ponieważ bardzo szybko i właściwie ilościowo przekształca się do KYN, ponieważ enzym biorący udział w powstawaniu formylokinureniny występuje obficie w większości narządów ssaków.

5.2. Kinurenina (KYN)

Jest aminokwasem obecnym w różnych narządach oraz we krwi [65,81]. 40% tego metabolitu jest syntetyzowana przez komórki gleju w o.u.n., a pozostałe 60% stwierdza się w osoczu ponieważ jest tu gromadzona z tkanek obwodowych, gdzie powstaje [19]. Kinurenina może łatwo przenikać barierę krew-mózg oraz wnikać do innych narządów przy czym stężenie tego kwasu jest 7–8 razy większe w mózgu niż śledzionie, nerkach czy w wątrobie [9,65]. W badaniach własnych wykazano także obecność KYN w ślinie [10]. W latach 80 ub.w. wykazano drgawkotwórcze działanie KYN [33,34,53]. Związek ten potęgował również drgawki i śmiertelność wywołaną podaniem strychniny. Mechanizm działania tego związku na o.u.n. nie jest znany. KYN podana obwodowo obniża ciśnienie krwi u uśpionych szczurów [31] oraz działa depresyjnie na mięsień sercowy i mięśnie gładkie [42]. Jaka jest

jej rola w patofizjologii jamy ustnej na obecnym etapie trudno jest określić. W tkankach ssaków KYN jest metabolizowana, jak już wspomniano do 3 związków KYNA, 3-HKA oraz AA.

5.3. Kwas kinureninowy (KYNA)

Powstaje dzięki nieodwracalnej transaminacji KYN [36]. W mózgu ludzkim za wytwarzanie KYNA są odpowiedzialne 2 różne aminotransferazy – KAT 1 i KAT 2 (aminotransferazy kinureninowe) [3]. Występują one zarówno u ludzi jak i u zwierząt [44]. Chociaż mają różną aktywność [22,30] synteza KYNA w mózgu jest regulowana przez różne czynniki i tak: zmniejszenie stężenia glukozy prowadzi do obniżenia syntezy KYNA przez znaczne obniżenie potencjału energetycznego komórki oraz osłabienie dokomórkowego transportu prekursora KYN [44]. Natomiast takie związki jak pirogronian osłabiają lub znośszą zmniejszone stężenie KYNA wywołane hipoglikemią, a także zwiększają wytwarzanie KYNA dzięki ułatwieniu nieodwracalnej transaminacji KYN [26].

KYNA oprócz występowania w mózgu jest związkiem stwierdzanym w większości narządów. Największe stężenie występuje w wątrobie, najniższe w mózgu [42]. Obserwuje się również różnice gatunkowe zawartości KYNA w tkance mózgowej. Najwięcej tego związku zawiera mózg królika, świnki morskiej, szczura, a najmniej myszy [21,76]. W badaniach własnych wykazano obecność KYNA także w ślinie [10]. KYNA jest jedynym znanym dotychczas endogennym antagonistą receptorów aminokwasów pobudzających w mózgu ssaków. Jest kompetycyjnym antagonistą strychninoniezależnej glicynowej części receptora NMDA [8,51]. Związek ten zmniejsza neurotoksyczność spowodowaną kwasem kainowym i chinolinowym dorosłych szczurów [17], a w prążkowie młodych osobników przeciwdziała toksyczności NMDA [44]. Antagonizuje aktywność drgawkową i neurodegeneracyjną wywołaną kwasem chinolinowym oraz innymi aminokwasami pobudzającymi [37]. Podany obwodowo zmniejsza strefę zawału wywołaną ogniskowym niedokrwieniem z powodu zamknięcia tętnicy środkowej mózgu [20] oraz zmniejsza obrzęk u niedotlenionych noworodków szczurzych [37,64]. KYNA powoduje zależną od dawki hipotonię i prawdopodobnie za pośrednictwem tego procesu wywiera działanie neuroprotektoryjne w stanach niedokrwienia, działa także hipotensyjnie [58] oraz ochrania przed wrzodami żołądka i dwunastnicy [77].

Mimo iż w literaturze brak jest danych na temat obecności KYNA w ślinie, to uwzględniając jego właściwości z dużym prawdopodobieństwem można powiedzieć, iż KYNA spełniać może istotną rolę w powstawaniu i rozwoju chorób jamy ustnej.

5.4. 3-hydroksykinurenina (3-HKA)

Przypisuje się jej bardzo duże właściwości neurotoksyczne. Jest syntetyzowana z udziałem hydroksylazy kinureninowej obecnej w komórkach wątroby, śledziony, nerkach oraz mózgu [15]. Enzym ma duże powinowactwo do KYN, co świadczy, iż w warunkach fizjologicznych tą drogą przebiega znaczna część metabolizmu [42]. 3-HKA może powstawać na obwodzie skąd po przekroczeniu ba-

riery krew–mózg z łatwością dostaje się do mózgu. Może też być syntetyzowana w astrocytach lub mikrogleju i gromadzona w neuronach tkanki mózgowej [73]. W badaniach własnych stwierdzono jej obecność w ślinie [10]. 3-HKA jest związkiem silnie neurotoksycznym, podany do komórki mózgu wywołuje drgawki [33], a do prążkowania uszkodzenie neuronów [45,47,48]. Neurotoksyczność związku jest związana z generowaniem aktywnych form tlenu, a zwłaszcza HO_2 [13]. Wpływ na właściwości związku mają enzymy komórkowe, które mogą również generować wolne formy tlenu. Są to enzymy biorące udział w metabolizmie kwasu arachidonowego, w procesach energetycznych itp. Dlatego też inhibitory cyklooksygenazy i lipooksygenazy np. aspiryna potęgują toksyczność 3-HKA, natomiast inhibitory dehydrogenazy ksantynowej (allopurinol i oksypurinol) wykazują działanie ochronne w stosunku do komórek narażonych na działanie 3-HKA [48]. Śmierć komórek wykazuje cechy apoptozy, takie jak kondensacja i fragmentacja chromatyny jądrowej. Wzrost zawartości 3-HKA w mózgu obserwowano w chorobach neurodegeneracyjnych, tj. chorobie Huntingtona, encefalopatii wątrobowej oraz demencji u pacjentów zakażonych wirusem HIV [50,59]. 3-HKA jest również czynnikiem odpowiedzialnym za powstanie zaćmy starczej [1].

5.5. Kwas antranilowy (AA)

AA może być syntetyzowany zarówno na obwodzie, jak również w o.u.n.. Synteza odbywa się z KYN z udziałem kinureninazy, która będąc enzymem cytosolowym występuje w komórkach wątroby, nerek i śledzionie. Niewielka ilość tego enzymu występuje w mózgu [28]. Jego aktywność odpowiada 0,2% kinureninazy wątrobowej u szczurów, natomiast u ludzi jest większa i stanowi 1% [74]. Enzym wykazuje powinowactwo do 3-HKA, które jest 10-krotnie większe niż do KYN. AA za pośrednictwem biernej dyfuzji przekracza barierę krew–mózg. Obecność AA wykryto w ślinie [10]. Jego znaczenie w fizjologii czy patologii narządów nie jest znane.

5.6. Kwas ksanturenowy (XA)

Powstaje z udziałem aminotransferazy kinureninowej z 3-HKA. Zawartość XA w organizmie rośnie w stanach niedoboru witaminy B6. Wydalanie KYN oraz 3-HKA z organizmu odbywa się głównie poprzez kwas XA z moczem [72]. Jego zwiększone stężenie i wydalanie stwierdzono u pacjentów z rakiem pęcherza moczowego. Wykazano przy tym, iż ma on właściwości karcynogenne [27].

5.7. Kwas 3-hydroksyantranilowy (3-HANA)

Prekursorami tego kwasu są AA i 3-HKA. Pod wpływem hydroksylazy kwas 3-hydroksyantranilowy [AA] ulega przekształceniu do 3-HANA. Związek ten może być syntetyzowany także z 3-HKA z udziałem kinureninazy na obwodzie, ale nie w mózgu. Hydroksylacja AA w mózgu jest głównym źródłem 3-HANA [4], ponieważ nie przekracza on bariery krew–mózg i nie może przenikać z obwodu [18]. W związku z tym zawartość 3-HANA w mózgu jest bardzo mała, mniejsza niż w osoczu i moczu. Najwyższe stężenie 3-HANA występuje w nerkach, wątrobie, śledzionie oraz sercu [4]. W literaturze istnieje niewiele danych dotyczących znaczenia tego metabolitu w fizjologii i patologii narządów.



5.8. Kwas chinolinowy (QIN)

Pierścień benzenowy 3-HANA ulega rozerwowaniu z udziałem 3,4-diooksygenazy kwasu 3-hydroksyantranilowego (3,4-HO) w wyniku czego powstaje semialdehyd α -amino- β -karboksymukonowy. Jest to związek bardzo niestabilny unikający spontanicznej cyrkulacji z utworzeniem kwasu chinolinowego (QIN). Pozostała część semialdehydu jest metabolizowana przez dekarboksylazę do kwasu aminomukonowego lub pikolinowego [42]. W stanie zdrowia zawartość QIN w mózgu i płynie mózgowo-rdzeniowym jest znacznie mniejsza niż we krwi [24]. W warunkach fizjologicznych prawie 60% QIN jest syntetyzowane miejscowo, a reszta dociera do tego narządu z krwią [6,23]. QIN za pośrednictwem dyfuzji biernej słabo przenika przez barierę krew–mózg [18]. Przepuszczalność ta rośnie w schorzeniach tkanki nerwowej w niedotlenieniu mózgu, schorzeniach o podłożu autoimmunologicznym oraz stanach zapalnych [57,66]. Wykazano iż podanie QIN do niektórych struktur o.u.n. powoduje wystąpienie zmian neurodegeneracyjnych, a w prądkowiu zmiany te są identyczne z tymi jakie obserwuje się w chorobie Huntingtona [63]. Uszkodzenie komórek tym kwasem zależy od podanej dawki i może wystąpić po kilku godzinach lub kilku tygodniach [67].

6. ZNACZENIE SZLAKU KINURENINOWEGO

Znaczenie metabolizmu kwasu kinureninowego rośnie w stanach chorobowych, w których dochodzi do zakażenia o etiologii bakteryjnej, a więc w sytuacjach, w których zwiększa się aktywność układu immunologicznego na co zwracają wyniki wielu badań [44]. W takiej sytuacji aktywność IDO w przeciwieństwie do TDO gwałtownie rośnie [70]. Wykazano, że stymulatorami tego enzymu są interferon α , β , γ , LPS i interleukiny prozapalne (IL-1, IL-6, IL-8) [70,71]. W badaniach nad wpływem IL-1 na aktywność IDO wykazano, iż indukuje ona ekspresję mRNA IDO w makrofagach nie zwiększając aktywności enzymatycznej.

IL-1 podobnie jak małe stężenie interferonu czy LPS pobudzają jedynie transkrypcję genów, podczas gdy wyższe stężenia interferonu prowadzą do kumulacji IDO [25]. Świadczy to o tym, że we wszystkich stanach zapalnych dochodzi do nasilonego metabolizmu L-tryptofanu przez IDO.

Wprawdzie nie ma danych dotyczących zachowania się metabolitów tryptofanu w stanach zapalnych, jednak biorąc pod uwagę przedstawione fakty należy przypuszczać, iż nasilony metabolizm tego aminokwasu zachodzi w stanach zapalnych dziąseł i chorobach przyzębia. Interesujące są badania nad rolą omawianego szlaku w procesach wzrostowych. Wykazano, iż przeciwnowotworowe działanie IL-12 jest związane z indukcją ekspresji przez interferon γ dwóch typów genów (IDO i NOS), których produkty hamują rozwój komórek nowotworowych. Regresja choroby jest związana z masowym napływem limfocytów T i makrofagów oraz ekspresją RNA IDO i mRNA NOS. Prowadzi

to do nasilenia przemian szlaku kinureninowego, zubożenia środowiska w tryptofan i zahamowania proliferacji komórek nowotworowych [84]. Podobnie korzystny efekt obserwowano w leczeniu choroby nowotworowej u ludzi [12]. Z kolei liczne obserwacje wskazują, że XA jest karcynogenem, a jego duże stężenie w surowicy i moczu pacjentów z rakiem pęcherza moczowego może świadczyć, iż ten nowotwór jest spowodowany nasiloną syntezą i uwolnieniem XA w układzie moczowym [27]. Biorąc pod uwagę powyższe dane nie można wykluczyć udziału XA w rozwoju nowotworów jamy ustnej. W badaniach nad wpływem metabolitów tryptofanu na gospodarkę węglowodanową wykazano, że hipoglikemia zmniejsza stężenie L-KYN w komórkach prowadząc do obniżenia stężenia KYNA, a kwas pirogronowy, który nasila syntezę KYNA, tę hipoglikemię odwraca [26]. Wykazano również, że zaburzeniom gospodarki węglowodanowej towarzyszy wzrost stężenia QA w osoczu [67]. 3-HKA jest najsilniejszym poznany inhibitorem glukoneogenezy. Natomiast w komórkach wątroby szczurów z cukrzycą wykazano 15-krotny wzrost aktywności karboksylazy kwasu pikolinowego, który nie ulega zmianie po podaniu insuliny. Przedstawione powyżej dane wskazują, że metabolity L-tryptofanu mogą modyfikować metabolizm węglowodanów w ustroju i odwrotnie – zmiany zawartości glukozy we krwi mogą modyfikować metabolizm tryptofanu szlakiem kinureninowym również w jamie ustnej u osób z cukrzycą typu 2, na co wskazują wyniki badań własnych [10].

7. MOŻLIWOŚCI MODULOWANIA SZLAKU KINURENINOWEGO

Jak każdy układ enzymatyczny szlak kinureninowy jest modulowany czynnikami endogennymi. Powstające produkty, tj. L-KYN, 3-HKYN, 3-HKA hamują aktywność TDO, podczas gdy L-tryptofan wywiera wpływ stabilizujący [41,60,79]. Szlak kinureniny może być także modulowany przez substancje egzogenne. Glikokortykosteroidy, glukagon, morfina, teofilina, pochodne kwasu salicylowego pobudzają aktywność TDO [3,80]. W przeciwieństwie do TDO glikokortykosteroidy nie wpływają na aktywność IDO [71]. Stwierdzono również, że podanie diazanu, który jest inhibitorem formamidazy lub pestycydów fosforoorganicznych hamuje syntezę L-KYN oraz N-fenilo-L-kinureniny [52]. Doświadczalnie wykazano, iż nadmiar w środowisku jonów wapniowych aktywuje, a niedobór tych jonów hamuje aktywność mitochondrialnej KAT [40].

Przedstawiane wyżej przykłady wskazują na możliwość ingerencji w metabolizm L-tryptofanu szlakiem kinureninowym. Obecnie jest jeszcze za wcześnie aby określić jakie w przyszłości zastosowanie inhibitorów czy stymulatorów tego kwasu może mieć znaczenie w diagnostyce i terapii chorób jamy ustnej i przewodu pokarmowego.

Na obecnym etapie badań trudno jest także jednoznacznie określić rolę poszczególnych związków szlaku kinureninowego w patologii jamy ustnej. Niewątpliwie rola taka istnieje wazniejszy na diametralne różnice w zawartości tych związków u pacjentów i ludzi zdrowych. Wymaga to dalszych, bardziej szczegółowych badań.

PIŚMIENICTWO

- [1] Aguilera A., Selgas R., Codoceo R., Bajo A.: Uremic anorexia: a consequence of persistently high brain serotonin levels? The tryptophan/serotonin disorder hypothesis. *Perit. Dial. In.*, 2000; 20: 810–816
- [2] al'Absi M., Wittmers L.E. Jr.: Enhanced adrenocortical responses to stress in hypertension-prone men and women. *Ann. Behav. Med.*, 2003; 25: 25–33
- [3] Baran H., Okuno E., Kido R., Schwarcz R.: Purification and characterisation of kynurenine aminotransferase I from human brain. *J. Neurochem.*, 1994; 62: 730–738
- [4] Baran H., Schwarcz R.: Presence of 3-hydroxyanthranilic acid in rat tissues and evidence for its production from anthranilic acid in the brain. *J. Neurochem.*, 1990; 55: 738–744
- [5] Baumann O., Dames P., Kühnel D., Walz B.: Distribution of serotonergic and dopaminergic nerve fibers in the salivary gland complex of the cockroach *Periplaneta americana*. *BMC Physiol.*, 2002; 2: 9
- [6] Beagles K.E., Morrison P.F., Heyes M.P.: Quinolinic acid *in vivo* synthesis rates, extracellular concentrations, and intercompartmental distributions in normal and immune-activated brain as determined by multiple-isotope microdialysis. *J. Neurochem.*, 1998; 10: 281–291
- [7] Bender D.A.: Biochemistry of tryptophan in health and disease. *Mol. Aspects. Med.*, 1982; 6: 101–197
- [8] Birch P.J., Grossman C.J., Hayes A.G.: Kynurenic acid antagonizes responses to NMDA via an action at strychnine-insensitive glycine receptor. *Eur. J. Pharmacol.*, 1988; 154: 85–87
- [9] Buchli R., Alberati-Gani D., Malherbe P., Kohler C., Broger C., Cesura A.M.: Cloning and functional expression of a soluble form of kynurenine/ α -aminoacidopate aminotransferase from rat kidney. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 29330–29335
- [10] Buczek P.: Ocena zawartości wybranych metabolitów tryptofanu w sline chorych z nadciśnieniem tętniczym i cukrzycą typu 2. Biblioteka AMB, 2004
- [11] Buczek W.: Rola serotoniny w regulacji układu krążenia. *Pol. Tyg. Lek.*, 1985; 40: 469–472
- [12] Carlin J.M., Borden E.C., Sondel P.M., Byrne G.I.: Biologic response modifier-induced indoleamine 2,3-dioxygenase activity in human peripheral blood mononuclear cell cultures. *J. Immunol.*, 1987; 139: 2414–2418
- [13] Coyle J.T., Puttfarcken P.: Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science*, 1993; 262: 689–695
- [14] Douglas C.W.: Bacterial-protein interactions in the oral cavity. *Adv. Dent. Res.*, 1994; 8: 254–262
- [15] Erickson J.B., Flanagan E.M., Russo S., Reinhard J.F.Jr.: A radiometric assay for kynurenine 3-hydroxylase based on the release of $^3\text{H}_2\text{O}$ during hydroxylation of L-[3,5- ^3H]-kynurenine. *Anal. Biochem.*, 1992; 205: 257–262
- [16] Fierabracci V., Novelli M., Ciccarone A.M., Masiello P., Benzi L., Navalesi R., Bergamini E.: Effects of tryptophan load on amino acid metabolism in type 1 diabetic patients. *Diabetes Metab.*, 1996; 22: 51–56
- [17] Foster A.C., Zinkand W.C., Schwarcz R.: Quinolinic acid phosphoribosyltransferase in rat brain. *J. Neurochem.*, 1985; 44: 446–454
- [18] Fukui S., Schwarcz R., Rapoport S.L., Takada Y., Smith Q.R.: Blood-brain barrier transport of kynurenines: implications for brain synthesis and metabolism. *J. Neurochem.*, 1991; 56: 2007–2017
- [19] Gal E.M., Sherman A.D.: L-kynurenine: its synthesis and possible regulatory function in brain. *Neurochem. Res.*, 1980; 5: 223–239
- [20] Germano I.M., Pitts L.H., Meldrum B.S., Bartnikowski H.M., Simon R.P.: Kynurenate inhibition of cell excitation decreases stroke size and deficits. *Ann. Neurol.*, 1987; 22: 730–734
- [21] Gramsbergen J.B., Hodgkins P.S., Rassoulpour A., Turski W.A., Guidett P., Schwarcz R.: Brain-specific modulation of kynurenic acid synthesis in the rat. *J. Neurochem.*, 1997; 69: 290–298
- [22] Guidetti P., Okuno E., Schwarcz R.: Characterization of rat brain kynurenine aminotransferases I and II. *J. Neurosci. Res.*, 1997; 50: 457–465
- [23] Heyes M.P., Achim C.L., Wiley A., Major E.O., Saito K., Markey S.P.: Human microglia convert L-tryptophan into the neurotoxin quinolinic acid. *Biochem. J.*, 1996; 320: 595–597
- [24] Heyes M.P., Morrison P.F.: Quantification of local de novo synthesis versus blood contribution to quinolinic acid concentrations in brain and systemic tissues. *J. Neurochem.*, 1997; 68: 280–288
- [25] Hissong B.D., Carlin J.M.: Potentiation of interferon-induced indoleamine 2,3-dioxygenase mRNA in human mononuclear phagocytes by lipopolysaccharide and interleukin-1. *J. Interferon. Cytokine Res.*, 1997; 17: 387–393
- [26] Hodgkins P.S., Wu H-Q., Zielke H.R., Schwarcz R.: 2-Oxoacids regulate kynurenic acid production in the rat brain: studies *in vitro* and *in vivo*. *J. Neurochem.*, 1999; 72: 643–651
- [27] Imai J., Yoshida I., Murayama K., Sakai Y., Shimizu H., Sumi T., Iguchi T., Kawai M., Yamaguchi S.: Determination of the 8-methyl ether of xanthurenic acid in human serum by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr. B Biomem. Appl.*, 1996; 679: 204–207
- [28] Kawai J., Okuno E., Kido R.: Organ distribution of rat kynureninase and changes of its activity during development. *Enzyme*, 1988; 39: 181–189
- [29] Kiss T., Hiripi L., Papp N., Elekes K.: Dopamine and serotonin receptors mediating contractions of the snail, *Helix pomatia*, salivary duct. *Neuroscience*, 2003; 116: 775–790
- [30] Knyihar-Csillik E., Okuno E., Vecsei L.: Effects of *in vivo* sodium azide administration on the immunohistochemical localization of kynurenine aminotransferase in the rat brain. *Neuroscience*, 1999; 94: 269–277
- [31] Lapin I.P.: Depressor effect of kynurenine and its metabolites in rats. *Life Sci.*, 1976; 19: 1479–1483
- [32] Lapin I.P.: Effect of kynurenine and quinolinic acid on the action of convulsants in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1980; 13: 17–30
- [33] Lapin I.P.: Kynurenines and seizures. *Epilepsia*, 1981; 22: 257–265
- [34] Lapin I.P.: Stimulant and convulsive effects of kynurenines injected into brain ventricles in mice. *J. Neural. Transm.*, 1978; 42: 37–43
- [35] Lapin I.P., Prakhie I.B., Kiseleva I.P.: Antagonism of seizures induced by the administration of endogenous convulsant quinolinic acid into rat brain ventricles. *J. Neural. Transm.*, 1986; 65: 177–185
- [36] Lapin I.P., Prakhie I.B., Kiseleva I.P.: Excitatory effects of kynurenine and its metabolites, amino acids and convulsants administered into brain ventricles: differences between rats and mice. *J. Neural. Transm.*, 1982; 54: 229–238
- [37] Lou G.L., Pinsky C., Sitar D.S.: Kynurenic acid distribution into brain and peripheral tissues of mice. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1994; 72: 161–167
- [38] Makinen K.K., Virtanen K.K., Makinen P.L., Kotiranta J.: Free amino acids in human palatine gland secretions. *Arch. Oral Biol.*, 1988; 33: 847–849
- [39] Marukawa H., Shimomura T., Takahashi K.: Salivary substance P, 5-hydroxytryptamine, and gamma-aminobutyric acid levels in migraine and tension-type headache. *Headache*, 1996; 36: 100–104
- [40] Mason M.: Effects of calcium ions and quinolinic acid on rat kidney mitochondrial kynurenine aminotransferase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1974; 60: 64–69
- [41] Mizuguchi T., Mitaka T., Kojima T., Hirata K., Nakamura T., Mochizuki Y.: Recovery of mRNA expression of tryptophan 2,3-dioxygenase and serine dehydratase in long-term cultures of primary rat hepatocytes. *J. Biochem.*, 1996; 120: 511–517
- [42] Moroni F.: Tryptophan metabolism and brain function: focus on kynurenine and other indole metabolites. *Eur. J. Pharmacol.*, 1999; 375: 87–100
- [43] Mustchler E., Geisslinger G., Kroemer H.K., Schäfer-Korting M. *Farmakologia i Toksykologia*. Wyd. I polskie, red. A. Danysz, Urban & Partner, Wrocław, 2004
- [44] Myśliwiec P., Pawlak D.: Szlak kinureninowy w zdrowiu i w chorobie. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2000; 54: 239–252
- [45] Nakagami Y., Saito H., Katsuki H.: 3-hydroxykynurenine toxicity on the rat striatum *in vivo*. *Jpn J. Pharmacol.*, 1996; 71: 183–186
- [46] Novak M.G., Ribeiro J.M., Hildebrand J.G.: 5-hydroxytryptamine in the salivary glands of adult female *Aedes aegypti* and its role in regulation of salivation. *J. Exp. Biol.*, 1995; 198: 167–174
- [47] Okuda S., Nishiyama N., Saito H., Katsuki H.: Hydrogen peroxide-mediated neuronal cell induced by endogenous neurotoxin, 3-hydroxykynurenine. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1996; 93: 12553–12558
- [48] Okuda S., Nishiyama N., Saito H., Katsuki H.: 3-Hydroxykynurenine, an endogenous oxidative stress generator, causes neuronal cell death with apoptotic features and region selectivity. *J. Neurochem.*, 1998; 70: 299–307



- [49] Paquette D.M., Sing R., Banks P.R., Waldron K.C.: Capillary electrophoresis with laser-induced native fluorescence detection for profiling body fluids. *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.*, 1998; 714: 47–57
- [50] Pearson S.J., Reynolds G.P.: Increased brain concentrations of a neurotoxin, 3-hydroxykynurenine, in Huntington's disease. *Neurosci Lett.*, 1992; 144: 199–201
- [51] Pellegrini-Giampietro D.E., Cherici G., Alesiani M., Carla V., Moroni F.: Excitatory amino acid release from rat hippocampal slices as a consequence of free-radical formation. *J. Neurochem.*, 1988; 51: 1960–1963
- [52] Pownim T., Seifert J.: Structural requirements for altering the L-tryptophan metabolism in mice by organophosphorous and methylcarbamate insecticides. *Eur. J. Pharmacol.*, 1993; 248: 237–241
- [53] Pinelli A., Govoni S., Ossi C., Battaini F., Caimi B.R., Trivulzio S.: Kynurenine may directly interact with GABA receptors in rat brain. *Pharmacology*, 1985; 30: 255–258
- [54] Riley C.M., Tomlinson E., Jefferies T. M., Redfern P.H.: Surfactant ion-pair high-performance liquid chromatography of tryptophan and some of its metabolites in biological fluid. *J. Chromatogr.*, 1979; 162: 153–161
- [55] Saito K., Heyes M.P.: Kynurenine pathway enzymes in brain. Properties of enzymes and regulation of quinolinic acid synthesis. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1996; 398: 485–492
- [56] Saito K., Markey S.P., Heyes M.P.: Effects of immune activation on quinolinic acid and neuroactive kynurenines in the mouse. *Neuroscience*, 1992; 51: 25–39
- [57] Saito K., Nowak T.S., Markey S.P., Heyes M.P.: Mechanism of delayed increases in kynurenine pathway metabolism in damaged brain regions following transient cerebral ischemia. *J. Neurochem.*, 1993; 60: 180–192
- [58] Salvati P., Ukmar G., Dho L., Rosa B., Cini M., Marconi M., Molinari A., Post C.: Brain concentration of kynurenic acid after a systemic neuroprotective dose in the gerbil model of global ischemia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiat.*, 1999; 23: 741–752
- [59] Sardar A.M., Bell J.E., Reynolds G.P.: Increased concentration of neurotoxin 3-hydroxykynurenine in the frontal cortex of HIV-1 positive patients. *J. Neurochem.*, 1995; 64: 932–935
- [60] Schimke R.T., Sweeney E.W., Berlin C.M.: The roles of synthesis and degradation in the control rat liver tryptophan pyrrolase. *J. Biol. Chem.*, 1965; 240: 322–331
- [61] Schruers K., van Diest R., Nicolson N., Griez E.: L-5-hydroxytryptophan induced increase in salivary cortisol in panic disorder patients and healthy volunteers. *Psychopharmacology*, 2002; 161: 365–369
- [62] Schwarcz R.: The kynurenine pathway of tryptophan degradation as a drug target. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2004; 4: 12–17
- [63] Schwarcz R., Foster A.C., French E.D., Whetsell W.O.J., Kohler C.: Excitotoxic models for neurodegenerative disorders. *Life Sci.*, 1984; 35: 19–31
- [64] Simon R.P., Young R.S., Stout S., Cheng J.: Inhibition of excitatory neurotransmission with kynurenate reduces brain oedema in neonatal anoxia. *Neurosci Lett.*, 1986; 71: 361–364
- [65] Speciale C., Schwarcz R.: Uptake of kynurenine into rat brain slices. *J. Neurochem.*, 1990; 54: 156–163
- [66] Stone T.W.: Endogenous neurotoxins from tryptophan. *Toxicol.*, 2001; 39: 61–73
- [67] Stone T.W.: Neuropharmacology of quinolinic and kynurenic acids. *Pharmacol. Rev.*, 1993; 45: 309–379
- [68] Stone T.W., Darlington L.G.: Endogenous kynurenines as targets for drug discovery and development. *Nature Rev. Drug Discovery*, 2002; 1: 609–620
- [69] Stones A., Groome D., Perry D., Hucklebridge F., Evans P.: The effect of stress on salivary cortisol in panic disorder patients. *J. Affect. Disord.*, 1999; 52: 197–201
- [70] Tankiewicz A., Pawlak D., Buczko W.: Enzymy szlaku kinureninowego. *Post Hig Med Dośw.*, 2001; 55: 715–731
- [71] Taylor M.W., Feng G.S.: Relationship between interferon- γ , indoleamine 2,3-dioxygenase, and tryptophan catabolism. *FASEB J.*, 1991; 5: 2516–2522
- [72] Takeuchi F., Tsubouchi R., Izuta S., Shibata Y.: Kynurenine metabolism and xanthurenic acid formation in vitamin B6-deficient rat after tryptophan injection. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 1989; 35: 111–122
- [73] Thomas S.R., Mohr D., Stocker R.: Nitric oxide inhibits indoleamine 2,3-dioxygenase activity in interferon- γ primed mononuclear phagocytes. *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 14457–14464
- [74] Toma S., Nakamura M., Tone S., Okuno E., Kido R., Breton J., Avanzi N., Cozzi L., Speciale C., Mostardini M., Gatti S., Benatti L.: Cloning and recombinant expression of rat and human kynureninase. *FEBS Lett.*, 1997; 408: 5–10
- [75] Turner J.T., Sullivan D.M., Rovira I., Camden J.M.: A regulatory role in mammalian salivary glands for 5-hydroxytryptamine receptors coupled to increased cyclic AMP production. *J. Dent. Res.*, 1996; 75: 935–941
- [76] Turski W.A., Gramsbergen J.B., Traitleir H., Schwarcz R.: Rat brain slices produce and liberate kynurenic acid upon exposure to L-kynurenine. *J. Neurochem.*, 1989; 52: 1629–1636
- [77] Turski W.A., Schwarcz R.: On the disposition of intrahippocampally injected kynurenic acid in the rat. *Exp. Brain Res.*, 1988; 71: 563–567
- [78] van de Kamp J.L., Smolen A.: Response of kynurenine pathway enzymes to pregnancy and dietary level of vitamin B6. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1995; 51: 753–758
- [79] Wagner C.: Regulation of tryptophan-nicotinic acid-DPN pathway in rat. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1964; 17: 668–673
- [80] Wu H.Q., Ungerstedt U., Schwarcz R.: L- α -amino adipic acid as a regulator of kynurenic acid production in the hippocampus: a microdialysis study in freely moving rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 1995; 281: 55–61
- [81] Yokoi I., Nishijima Y., Uchida A., Kabuto H., Yamamoto N., Ogawa N.: Effects of kynurenine metabolites on the electrocorticographic activity in the rat. *J. Neural. Transm.*, 1998; 105: 147–160
- [82] York D.A.: Metabolic regulation of food intake. *Nutr. Rev.*, 1990; 48: 64–70
- [83] Yoshida M., Mishiro Y.: Indole production in human whole saliva. *Shigaku.*, 1989; 77: 472–486
- [84] Yu W., Yamamoto N., Takenaka H., Mu J., Tai X.G., Zou J.P., Ogawa M., Tsutsui T., Wijesuriya R., Yoshida R., Herrman S., Fujiwara H., Hamaoka T.: Molecular mechanisms underlying INF- γ mediated tumor growth inhibition induced during tumor immunotherapy with rIL-12. *Int. Immunol.*, 1996; 8: 855–865