

# Metabolizam bjelančevina i otrovnost amonijaka, otpornost na amonijak u tijelu

---

Matić, Marin

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:286694>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-01**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET**  
**BIOLOŠKI ODSJEK**  
**ZAVOD ZA ANIMALNU FIZIOLOGIJU**

**METABOLIZAM BJELANČEVINA I OTROVNOST  
AMONIJAKA, OTPORNOST NA AMONIJAK U  
TIJELU**

---

**PROTEIN METABOLISM AND AMMONIA TOXICITY,  
AMMONIA TOLERANCE**

**SEMINARSKI RAD**

Marin Matić

Preddiplomski studij molekularne biologije

(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: doc. dr. sc. Duje Lisičić

Zagreb, 2016.

# SADRŽAJ

---

1. UVOD .....	3
2. METABOLIZAM AMONIJAKA .....	4
2.1. Izvori amonijaka u tijelu .....	4
2.2. Uklanjanje amonijaka iz tijela (detoksifikacija) .....	6
3. TOKSIČNOST AMONIJAKA .....	8
3.1. Primarna hiperamonemija.....	8
3.1.1. Deficijencija ornitin transkarbamilaze.....	8
3.1.2. Hiperornitinemija – Hiperamonemija – Homocitrulinurija (HHH sindrom) .....	9
3.2. Sekundarna hiperamonemija (organska acidemija).....	10
3.3. Jetrena encefalopatija .....	11
3.3.1. Oticanje astrocita .....	11
3.3.2. Utjecaj na serotonergički i kolinergički sustav .....	12
3.3.3. Utjecaj na glutamatergički sustav .....	12
3.3.4. Utjecaj na energetske status i metabolizam glukoze u mozgu .....	13
4. ŽIVOTINJSKI MODELI HIPERAMONEMIJE.....	14
4.1. Ribe kao modeli za hiperamonemiju .....	14
4.1.1. Nastanak i izlučivanje amonijaka u riba .....	14
4.1.2. Obrana riba od toksičnosti amonijaka – moguće rješenje hiperamonemije .....	16
4.1.2.1. Strategija 1 - Smanjenje proteolize i katabolizma aminokiselina.....	16
4.1.2.2. Strategija 2 - Parcijalni katabolizam aminokiselina i stvaranje alanina.....	17
4.1.2.3. Strategija 3 - Sintaza glutamina.....	18
4.1.2.4. Strategija 4 - Sintaza ureje.....	18
4.1.2.5. Strategija 5 - Isparavanje NH <sub>3</sub> .....	19
4.1.2.6. Strategija 6 - Otpornost na amonijak na razini stanica .....	20
4.1.3. Zebrica kao model hiperamonemije.....	20
4.2. Ostali modeli hiperamonemije.....	21

4.2.1.	Hibernirajući medvjedi .....	21
4.2.2.	Promjena crijevnog mikrobioma za liječenje hiperamonemije.....	22
5.	ZAKLJUČAK .....	24
6.	LITERATURA .....	26
7.	SAŽETAK .....	28
8.	SUMMARY .....	29

# 1. UVOD

---

Amonijak ( $\text{NH}_3$ ) je mala molekula (molekularna masa 17) topljiva u lipidima koja može proći kroz staničnu membranu (Wright, 1995).

U vodenoj otopini amonijak ( $\text{NH}_3$ ) je u ravnoteži s amonijevim ionima ( $\text{NH}_4^+$ ). U ljudskoj plazmi pri  $37^\circ\text{C}$  i fiziološkom pH oko 98% amonijaka je u  $\text{NH}_4^+$  obliku (u daljnjem tekstu izraz amonijak će se koristiti kao suma  $\text{NH}_3$  i  $\text{NH}_4^+$ ). Za razliku od  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NH}_4^+$  je slabo topljiv u lipidima te ne prolazi staničnu membranu.  $\text{NH}_3$  ulazi u stanicu i ionizira se u  $\text{NH}_4^+$ . Čovjek proizvodi 1000 mmol amonijaka dnevno što uključuje amonijak dobiven prehranom i iz tkiva različitih organa. Mali dio se iskoristi za biosintezu bjelančevina, kreatina, poliamina, nukleotida i ostalih esencijalnih spojeva. Većina amonijaka je otpad i mora se izlučiti iz tijela i to kao urea u urinu preko ciklusa ureje te malim dijelom kao  $\text{NH}_4^+$  (Walker, 2014).

Kada je homeostaza amonijaka poremećena dolazi do povećanja koncentracija amonijaka u krvi što se naziva hiperamonemija. Amonijak je u većim koncentracijama toksičan samo za mozak (Walker, 2014). Hiperamonemije mogu biti uzrokovane genetskim pogreškama ili primjerice akutnim ili kroničnim zatajenjem jetre (Singer, 2007).

Ovaj rad će dati pregled metabolizma amonijaka u tijelu. Naglasak će biti stavljen na toksičnost amonijaka za mozak i kako nastaje. Također, opisat će različite životinjske modele. Životinjski model koji će biti detaljnije objašnjen je riba kao model za hiperamonemiju. Za razliku od ljudi koji otpadne produkte metabolizma izlučuju kao ureu pa su ureotelični organizmi, ribe izlučuju amonijak kao otpadni produkt te su samim time amoniotelični organizmi (Wright, 1995). Ribe mogu podnijeti veće količine amonijaka u mozgu u odnosu na sisavce zbog određenih adaptacija u živčanom sustavu (Singer, 2007). O toj razlici između riba i sisavaca te samoj otpornosti riba na amonijak također će biti riječ u ovom seminarskom radu.

U konačnici dotaknut će se i primjera životinjskog modela kao što su hibernirajući medvjedi i modela koji se koristi za liječenje to jest ublažavanje hiperamonemije kao jedne od posljedica u gore navedenim problemima koji je stvaraju. Ova novija metoda temelji se na modeliranju mikrobioma crijeva miša. Naime urea osim u urinu završava i u crijevima gdje bakterije za razliku od sisavaca imaju enzim ureazu koja ju razgrađuje na amonijak. To može biti toksično kod ljudi s hiperamonemijom zbog dodatnog povećanja koncentracija amonijaka u krvi (Shen i sur., 2015).

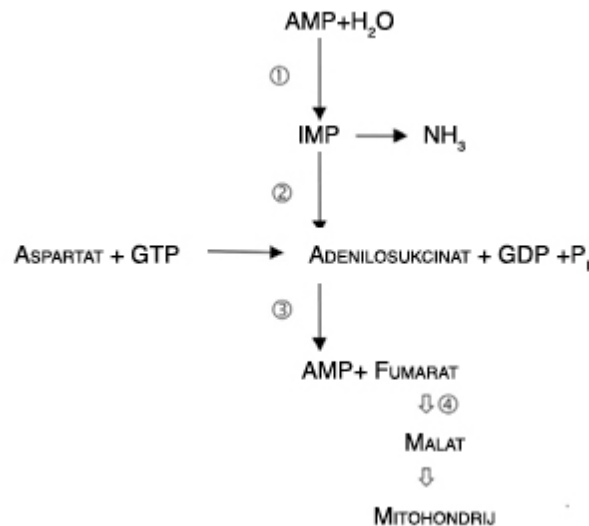
## 2. METABOLIZAM AMONIJAKA

### 2.1. Izvori amonijaka u tijelu

Amonijak u tijelu može nastati iz više izvora u tijelu. Osnovni način nastanka amonijaka je degradacijom bjelančevina što se događa zbog hidrolize bjelančevina unesenih prehranom i onih iz tkiva. Nakon hidrolize slijede reakcije katabolizma aminokiselina iz kojih direktno nastaje amonijak. Katabolizam provode bakterije u debelom crijevu te stanice sluznice tankog crijeva (Walker, 2014).

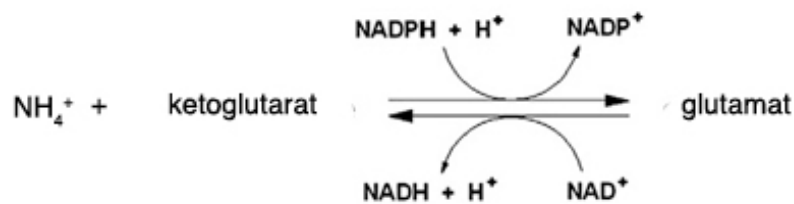
Amonijak nastaje i hidrolizom ureje nastale u jetri. Hidrolizu ureje provode bakterije koje se nalaze u debelom crijevu i imaju enzim ureazu koja nije svojstvena ljudskom tijelu. Oko 25% ureje sintetizirane u jetri se reciklira bakterijskom ureazom što dovodi do stvaranja većih koncentracija amonijaka (Walker, 2014).

U mišićima amonijak nastaje u ciklusu purina (Sl. 1.) degradacijom adenozin monofosfata (AMP) pri čemu nastaje fumarat i amonijak te se resintetizira AMP. Ciklus je posebice aktivan nakon vježbanja. Postoje neke pretpostavke da je osim u mišićima ciklus bitan izvor amonijaka u mozgu jer su pronađeni svi ključni enzimi ciklusa, no te pretpostavke još nisu potvrđene (Walker, 2014).

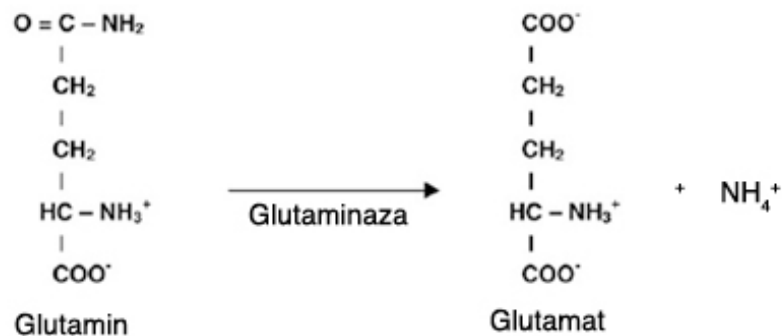


**Slika 1.** Ciklus purina. AMP (adenozin monofosfat); IMP (inozin monofosfat); GTP (gvanozin trifosfat); GDP (gvanozin difosfat); 1. mioadenilat deaminaza; 2. adenilosukcinat sintetaza; 3. adenilosukcinat lijaza; 4. fumaraza (prilagođeno prema Walker, 2014).

U zdravih ljudi omjer amonijaka u mozgu u odnosu na krv je 1,5-3,0. Mozak proizvodi jako malo amonijaka kao produkt samog metabolizma. Većina u mozak dopiše putem krvi te manjim dijelom iz cerebrospinalne tekućine, no kod zdrave osobe ta je količina zanemariva. U metabolizmu mozga izvor amonijaka je u najvećoj mjeri posljedica oksidativne deaminaze glutamata s enzimom glutamat dihidrogenaza (Sl. 2.). Glutaminaza (Sl. 3.) je također izvor amonijaka u mozgu no zbog inhibicije enzima s njime nije bitan izvor (Walker, 2014).



**Slika 2.** Reakcija glutamat dihidrogenaze i nastanak amonijaka (prilagođeno prema Adeva i sur., 2012).



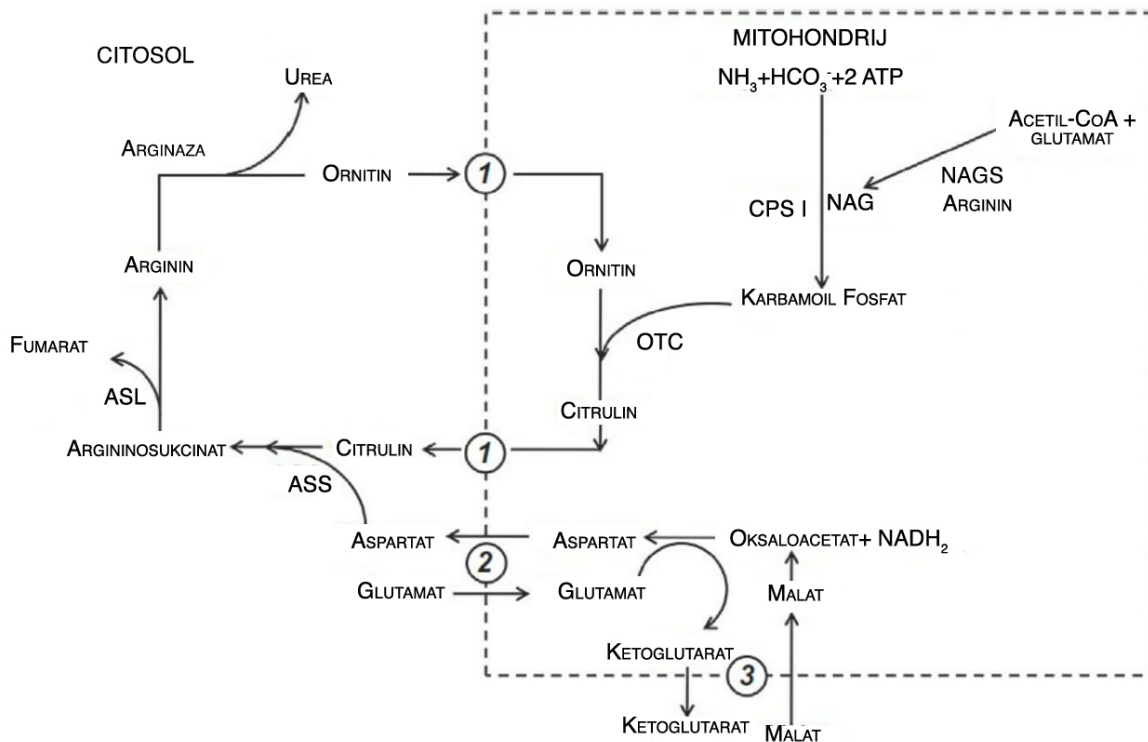
**Slika 3.** Nastanak glutamata iz glutamina posredstvom enzima glutaminaze uz nastanak amonijaka (prilagođeno prema Adeva i sur., 2012).

Bubrezi proizvode amonijaka iz glutamina također posredstvom enzima glutaminaze i glutamat dehidrogenaze. Bubrež stvara amonijak kako bi puferirao  $\text{H}^+$  kao amonijeve soli koje se onda izlučuju u urin. Bubrež dakle istovremeno održava acidobaznu ravnotežu i uklanja amonijak (Walker, 2014). Od ukupne proizvodnje amonijaka 50% se uklanja preko urina dok se druga polovica vraća u krvotok (Adeva i sur., 2012).

## 2.2. Uklanjanje amonijaka iz tijela (detoksifikacija)

U zdravom tijelu višak amonijaka se mora ukloniti jer je on toksičan za njega. Uklanja se iz krvi i dovodi u jetru (200–500  $\mu\text{mol/L}$ ) gdje se konvertira u ureju ili ugrađuje kao amidna skupina u glutamin u drugim tkivima (Walker, 2014).

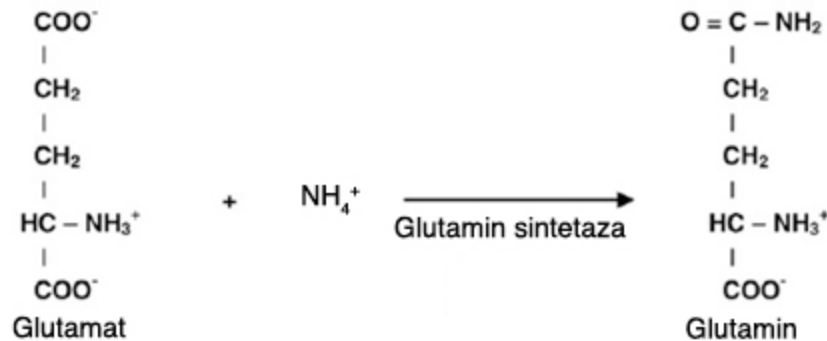
U jetri se amonijak konvertira u ureju u nizu reakcija koje nose zajednički naziv ciklus ureje. Ciklus ureje se sastoji od šest enzima i za supstrate ima amonijak, bikarbonat i aspartat (Sl. 4.). Iz dva atoma dušika iz amonijaka i aspartata dobije se jedna molekula ureje. Amonijak dolazi u jetru kroz portalnu venu iz probavnog sustava. Dio amonijaka se proizvodi u jetri prema reakcijama prikazanima na slici 2. i slici 3. , a dio iz deaminacije aminokiselina unutar jetre (Walker, 2014).



**Slika 4.** Ciklus ureje. NAG ( N-acetilglutamat); NAGS (N-acetilglutamat sintaza); CPSI (karbamoil fosfat sintaza I); OTC (ornitin transkarbamilaza); ASS (argininosukcinat sintaza); ASL (argininosukcinat lijaza); 1. mitohondrijski ornitin transporter (ORNTI); 2. aspartat-glutamat nosač (citrin); 3. alfa ketoglutarat transporter (prilagođeno prema Walker, 2014).

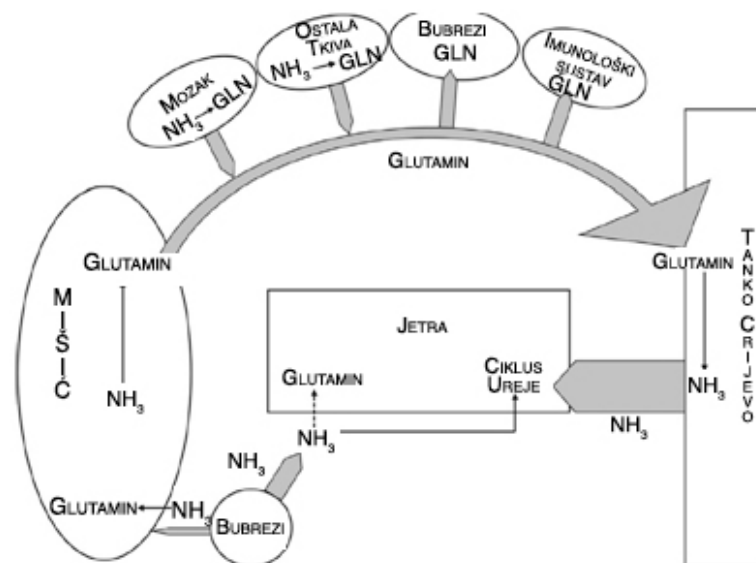


Kao što je već rečeno u ostalim tkivima koja ne mogu detoksificirati amonijak u ureju koristi se drugi mehanizam, a to je ugrađivanje amonijaka kao amidne skupine u glutamin uz pomoć glutamin sintetaze (Sl. 5.) (Walker, 2014).



**Slika 5.** Reakcija glutamin sintetaze i dobivanje glutamina (prilagođeno prema Adeva i sur., 2012).

Glutamin zato čini 50 % svih slobodnih aminokiselina u krv te se dnevno proizvede 70 grama glutamina od kojih 10 grama troše bubrezi i 10 grama se troši u probavnom i imunološkom sustavu. Ostatak kruži u tijelu i zadovoljava potrebe sinteze bjelančevina, sudjeluje u proizvodnji citulina u crijevima te naravno u jetri dovodi do konverzije amonijaka u ureju. Promet glutamina tako omogućava homeostazu amonijaka (Sl. 6.) (Walker, 2014).



**Slika 6.** Promet glutamina u tijelu i njegova uloga u detoksifikaciji amonijaka. GLN (glutamin) (prilagođeno prema Walker, 2014).

### 3. TOKSIČNOST AMONIJAKA

Povećanje koncentracije amonijaka u krvi dovodi do stanja koje se naziva hiperamonemija. Hiperamonemija se može podijeliti na primarnu, što uključuje genetske mutacije u genima za enzime koji sudjeluju u ciklusu ureje te sekundarnu hiperamonemiju koja uključuje genetske mutacije u genima za enzime sekundarnog metabolizma (organske acidemije) ili oštećenja stanica odnosno tkiva bitnih za metabolizam kao primjerice oštećenje jetre (Adeva i sur., 2012). Prepoznavanje kliničkih simptoma je ključno jer hiperamonemija može imati teške posljedice za organizam pa i smrt. Simptomi se razlikuju kod težeg akutnog i blažeg kroničnog oboljenja (Tbl. 1.) (Walker, 2014).

**Tablica 1.** Prikaz kliničkih simptoma koje uzrokuje toksičnost amonijaka u akutnoj i kroničnoj hiperamonemiji (prilagođeno prema Walker, 2014).

<b>Akutna hiperamonemija</b>	<b>Kronična hiperamonemija</b>
Anoreksija	Kronična letargija
Povraćanje	Glavobolja
Borbenost	Agresija
Akutni gubitak vida	Konfuznost
Hipotermija	Samoozljeđivanje
Edem mozga	Problemi u učenju
Koma	Povraćanje
Smrt	Epileptični napadaj

#### 3.1. Primarna hiperamonemija

Mutacije u ciklusu ureje uzrokuju deficijenciju u šest enzima i tri transportera koja sudjeluju u ciklusu (Walker, 2014). Deficijencije koje uzrokuju nalaze se u tablici 2. od kojih će biti opisane deficijencija ornitin transkarbamilaze i sindrom hiperornitinemija - hiperamonemija - homocitrulinurija.

##### 3.1.1. Deficijencija ornitin transkarbamilaze

Najčešći oblik genetske mutacije u ciklusu ureje i jedina koja je spolno vezana (nalazi se na X kromosomu). Otkriveno je preko 340 različitih mutacija. Muški i ženski nositelji mutacije pokazuju različitu jačinu simptoma. Kod dječaka koji imaju veliki nedostatak enzima simptomi se vide već u neonatalnom razdoblju, a kod onih s manjim nedostatkom

simptomi su neopaženi. Kod djevojaka jačina simptoma ovisi o mjestu mutacije, ali i o omjeru hepatocita koji ispoljavaju mutantni alel (ovisi o inaktivaciji X kromosoma). Ako je nepovoljno ispoljavanje gena i niska aktivnost enzima simptomi se javljaju u neonatalnom razdoblju dok kod djevojaka s većom aktivnošću enzima ne mora doći do pojave simptoma osim ako dođe do metaboličkog stresa (Walker, 2014).

### 3.1.2. *Hiperornitinemija – Hiperamonemija – Homocitrulinurija (HHH sindrom)*

HHH sindrom je rezultat mutacije u genu za ORNTI koji prenosi ornitin u mitohondrij u zamjenu za citrulin. U stanicama jetre ta mutacija uzrokuje smanjenu aktivnost ornitin transkarbamilaze i samim time stvara se deficijencija u ciklusu ureje. Zbog ove mutacije dolazi do smanjenja katabolizma ornitina i njegove povećane koncentracije u krvi s normalnih 40 - 120  $\mu\text{mol/L}$  do 200 - 1100  $\mu\text{mol/L}$ . Uz normalnu proteinsku dijetu dolazi do povećanje koncentracije amonijaka i dolazi do akutne encefalopatije i te blažih neuroloških problema (Walker, 2014). Postoje mutacije i drugim genima koji sudjeluju u ciklusu ureje (Tbl. 2. i Tbl. 3.). Različiti indikatori u krvi i u urinu ukazuju o kojoj se mutaciji radi (Tbl. 2. i Tbl. 3.) (Walker, 2014).

**Tablica 2.** Prikaz indikatora koji ukazuju na određenu mutaciju u genima za enzime transporta u ciklusu ureje (prilagođeno prema Walker, 2014).

<b>MUTACIJE U TRANSPORTERIMA CIKLUSA UREJE</b>		
<b>Deficijentni enzim</b>	<b>Indikatori deficijencije u krvi</b>	<b>Indikatori deficijencije u urinu</b>
Mitohondrijski ornitin transporter I (ORNTI)	Povišen ornitin.	Povišen homocitrulin.
Aspartat-glutamat nosač	Povišen citrulin, povišen omjer treonina i serina.	Nespecifično.
Kationski aminokiselinski transporter	Snižen ornitin, lizin, povišen glutamin i alanin.	Povišen arginin, lizin, ornitin.

**Tablica 3.** Prikaz indikatora koji ukazuju na određenu mutaciju u genima za enzime koji sudjeluju u ciklusu ureje (prilagođeno prema Walker, 2014).

<b>MUTACIJE U CIKLUSU UREJE</b>		
<b>Deficijentni enzim</b>	<b>Indikatori deficijencije u krvi</b>	<b>Indikatori deficijencije u urinu</b>
N-Acetilglutamat sintaza	Snižen citrulin.	Nespecifično.
Karbamoil fosfat sintaza I	Snižen citrulin i arginin.	Nespecifično.
Ornitin transkarbamilaza	Snižen citrulin i arginin.	Nespecifično.
Argininosukcinat sintaza	Povišen citrulin i snižen arginin.	Povišen citrulin.
Argininosukcinat lijaza	Povišen citrulin i prisutna argininosukcinska kiselina.	Povišen citrulin i prisutna argininosukcinska kiselina.
Arginaza I	Povišen arginin.	Povišen ornitin, arginin, lizin.

### **3.2. Sekundarna hiperamonemija (organska acidemija)**

Organske acidemije uključuju propionsku, metilmalonsku i izovaleričnu acidemiju koje sve mogu dovesti do hiperamonemije. Aminokiseline valin, izoleucin, metionin te masne kiseline s neparnim lancem ugljika svojim katabolizmom proizvode propionil – CoA koji dalje u različitim reakcijama ulazi u ciklus limunske kiseline. Propionska i izovalerična acidemija nastaju zbog genetskih mutacija u genima za propionil - CoA karboksilazu odnosno izovaleril – CoA dehidrogenazu. Metilmalonska acidemija nastaje zbog različitih genetskih mutacija od kojih je najčešća mutacija u genima za sintezu kobalamina (Adeva i sur., 2012). Razlog same hiperamonemije kod ovih bolesti je u smanjenju potrebnog acetil – CoA potrebnog u ciklusu ureje za sintezu N-acetilglutamata. Uz to sam enzim N-acetilglutamat sintaza je inhibiran nakupljanjem samih estera kao što su propionil – CoA ili izovaleril – CoA (Walker, 2014).

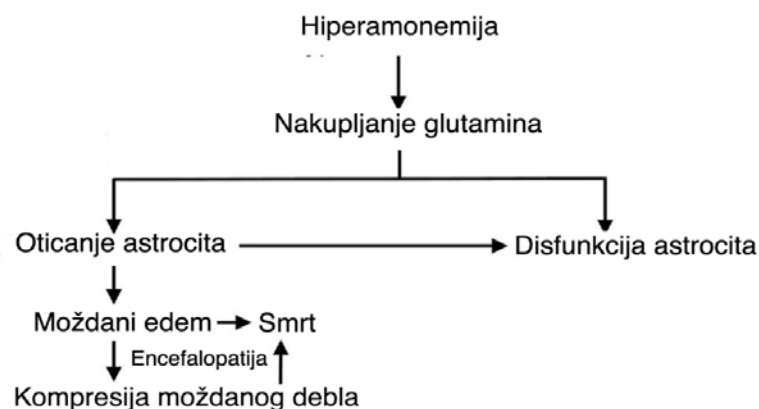
### 3.3. *Jetrena encefalopatija*

Jetrena encefalopatija je bolest mozga koja nastaje kao posljedica kronične bolesti jetre ili zatajenja jetre. Patogeneza bolesti se temelji na nakupljanju amonijaka inače uklonjenog od strane jetre te njegovom djelovanju kao neurotoksin. Jetrena encefalopatija uzrokuje moždani edem koji u konačnici može dovesti do smrti što je i slučaj u 15% pacijenata. Djelovanje amonijaka na mozak je razno i uključuje oticanje astrocita (Parekh i Balart, 2015). Osim toga pokazano je da amonijak ima utjecaj i na serotonergički, glutamatergički i kolinergički sustav te energetske statusa mozga i metabolizam glukoze (Walker, 2014).

#### 3.3.1. *Oticanje astrocita*

Astrociti su glija stanice čije funkcije u mozgu su da omogućuju prijenos tvari između krvi i neurona (krvno-moždana barijera) i sudjeluju u metabolizmu neurotransmitera (Dudek, 2000).

Zbog oštećenja jetre amonijak se nakuplja u krvi i prelazi krvno - moždanu barijeru. Astrociti koriste višak amonijaka za sintezu glutamina pomoću glutamin sintetaze (Sl. 5.). Navedena reakcija inače služi detoksifikaciji amonijaka u mozgu. Nastanak glutamina u suvišku dovodi do njegova prijenosa u mitohondrij gdje glutaminaza (Sl. 3.) vrši njegovu pretvorbu u glutamat i amonijak. Nakupljanje amonijaka dovodi do smanjene funkcije mitohondrija i uzrokuje oksidativni stres i poremećaj funkcije astrocita (Sl. 7.). Osim toga dolazi do promjene omjera glutamina i glutamata što uzrokuje poremećaj osmotske ravnoteže i oticanje astrocita te u konačnici moždani edem (Parekh i Balart, 2015).



**Slika 7.** Utjecaj hiperamonije na astrocite i njezine posljedice (prilagođeno prema Brusilow i sur., 2010).

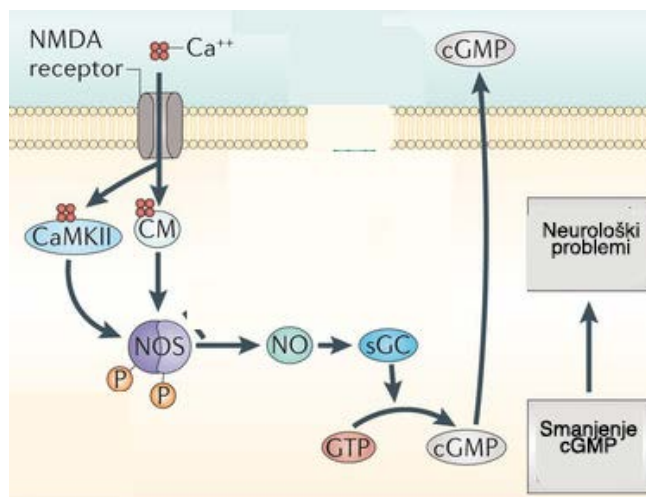
### **3.3.2. Utjecaj na serotonergički i kolinergički sustav**

Amonijak utječe na stvaranje serotonina (5-hidroksitriptamin). Povećavaju se koncentracije triptofana iz kojeg nastaje serotonin i 5-hidroksindol-octena kiselina (5HIAA). Ta promjena u metabolizmu serotonina je zaslužna za loš apetit i povraćanje kod hiperamonemije (Walker, 2014).

Promjene u kolinergičkom sustavu uključuju povećanu aktivnost acetilkolinesteraze (AChE) bez promjene u aktivnosti kolin acetiltransferaze. Također smanjena je koncentracija acetilkolina, no te promjene su vjerojatno uzrokovane samim zatajenjem jetre, a ne hiperamonemijom. U nekim slučajevima je pronađeno da je došlo do smanjenja aktivnosti acetilkolinesteraze i kolin acetiltransferaze te samih kolinergičkih neurona, ali te se promjene pripisuju problemima jetre (Walker, 2014).

### **3.3.3. Utjecaj na glutamatergički sustav**

Amonijak utječe na glutamatergički sustav na način da povećava aktivnost NMDA (N-metil-D-aspartat) receptora (Sl. 8.). NMDA receptori su ionski kanali koji se aktiviraju glutamatom i omogućuju prolaz kationa u živčane stanice. Akutna hiperamonemija vjerojatno nastaje zbog pretjerane aktivacije NMDA receptora. Aktivacija receptora dovodi do povećanja koncentracije unutarstaničnog  $\text{Ca}^{2+}$  u postsinaptičkom neuronu.  $\text{Ca}^{2+}$  se veže za kalmodulin i aktivira dušikov monoksid sintazu što dovodi do povećanog stvaranja dušikova monoksida. Dušikov monoksid (NO) aktivira gvanilat ciklazu što dovodi do povećanog stvaranja cikličkog gvanozin monofosfata (cGMP). Povećana koncentracija cGMP je povezana s neurološkim problemima (edem, koma i smrt) (Sl. 8.). Također, ustvrđeno je da povećanjem aktivnosti NMDA receptora i samim time cGMP za posljedicu ima povećanu koncentraciju glutamata (Singer, 2007).



Slika 8. Aktivacija NMDA (N-metil-D-aspartat) receptora tijekom povećane koncentracije amonijaka. CM (kalmodulin); CamKII (kalmodulin ovisna protein kinaza II); NOS ( dušikov monoksid sintaza); NO (dušikov monoksid); sGC (gvanilat ciklaza); GTP (gvanozin trifosfat); cGMP (ciklički gvanozin monofosfat) (prilagođeno prema Felipo, 2013).

### 3.3.4. Utjecaj na energetska status i metabolizam glukoze u mozgu

Zbog aktivacije NMDA receptora dolazi do smanjenja ATP u mozgu. Aktivacija ionskog kanala receptora dovodi do ulaska Na<sup>+</sup> i Ca<sup>2+</sup> u neuron. Da se očuva homeostaza Na<sup>+</sup> ioni se izbacuju iz stanice uz pomoć Na<sup>+</sup> / K<sup>+</sup> - ATPaze. Djelovanje ATPaze je povećano zbog smanjenja fosforilacije od strane protein kinaze C kojoj je smanjena aktivnost zbog aktivacije NMDA receptora. Uz to povećana koncentracija Ca<sup>2+</sup> ulazi u mitohondrij i uzrokuje smanjenje sinteze ATP-a (Singer, 2007).

Amonijak uzrokuje povećanje unosa glukoze u mozak. Razlog je tome povećana ekspresija GLUT1 transportera glukoze u astrocitima. Visoke koncentracije također inhibiraju piruvat dehidrogenazu i potiču glikolizu aktivacijom fosfofruktokinaze (Walker, 2014).

## 4. ŽIVOTINJSKI MODELI HIPERAMONEMIJE

### 4.1. Ribe kao modeli za hiperamonemiju

Ribe su uz iznimke amoniotelični organizmi što znači da direktno izlučuju amonijak iz tijela. Amonijak se izlučuje preko škrga uz pomoć transportera. Amonijak je kao i za sisavce, neurotoksičan za ribe. Primijećeno je da ribe mogu podnijeti već količine amonijaka u krvi i mozgu nego sisavci (Tbl. 4.) (Ip i Chew, 2010).

**Tablica 4.** Prikaz normalnih vrijednosti amonijaka u krvi ( $\mu\text{M}$ ) i mozgu ( $\mu\text{mol} / \text{g}$ ) nekoliko sisavaca i riba (prilagođeno prema Singer, 2007).

NORMALNE VRIJEDNOSTI	KRV	MOZAK
Čovjek	43,7 – 113	/
Štakor	50 - 250	0,222 – 0,794
Pas	19,4 - 119	/
Svinja	25 - 75	/
Prečnouste ( <i>Raja erinacea</i> )	370	/
Močvarna jegulja ( <i>Monopterus albus</i> )	300	1,0
Kalifornijska pastrva ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	400 - 1050	/
<i>Opsanus beta</i> <sup>1</sup>	250	1,5
<i>Boleophthalmus boddarti</i> <sup>2</sup>	/	2,0

<sup>1</sup>riba iz porodice Batrachoididae; <sup>2</sup>riba iz porodice Gobiidae

#### 4.1.1. Nastanak i izlučivanje amonijaka u riba

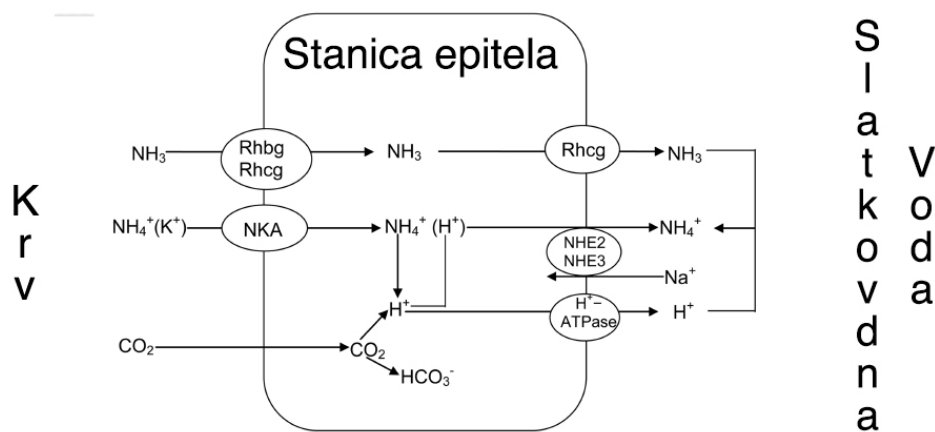
Većina amonijaka u riba nastaje iz  $\alpha$  – amino skupine kataboliziranih aminokiselina. U somova je primijećeno da katabolizam alanina i glutamina može biti zaslužan za 50% odnosno 85% ukupno izlučenog amonijaka. Dok je deaminacija glutamata u mitohondrijima jetre zaslužna za 160% izlučivanja amonijaka. Amonijak se proizvodi u citosolu hepatocita sa specifičnim deaminazama (histidinaza, asparaginaza, itd.) ili transdeaminacijom koja uključuje aminotransferaze u citosolu i glutamat dehidrogenazu u matriksu mitohondrija. Transdeaminacija je primarni mehanizam uz pomoć kojeg nastaje amonijak u riba (Ip i Chew, 2010).

Amonijak mora nekako izaći iz matriksa mitohondrija, no ne može u obliku  $\text{NH}_4^+$  jer



membrane su nepropusne za njega dok su slabo propusne za  $\text{NH}_3$ . U sisavaca je pronađeno da koriste akvaporine (selektivno prenose vodu) za prijenos amonijaka, ali oni nisu nađeni u riba. Pronađeno je da neke ribe koriste i glikoproteine iz rezus (Rh) obitelji. Rhcg je rezus glikoprotein koji može služiti kao  $\text{NH}_3$  kanal.  $\text{NH}_4^+$  može zamijeniti  $\text{H}^+$  u  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiportu ili se može prenositi kroz  $\text{K}^+$  kanale jer je u kompeticiji s  $\text{K}^+$ . Bitno je naglasiti da su mitohondrijska permeabilnost i njezine promjene usred hiperamonemije jedan od faktora u razvoju jetrene encefalopatije. Najnovija istraživanja govore kako se  $\text{NH}_3$  ne može prenositi kao takav iz mitohondrija jer uzrokuje inhibiciju oksidativne fosforilacije koja se događa na unutarnjoj membrani mitohondrija. Amonijak se prenosi kao  $\text{NH}_4^+$  u riba iz matriksa mitohondrija u stanicu i to na gore navedene načine ili uz postojanje transportera  $\text{NH}_4^+$ . Konačno u većini riba amonijak se iz tijela izlučuje kao  $\text{NH}_3$  (Ip i Chew, 2010).

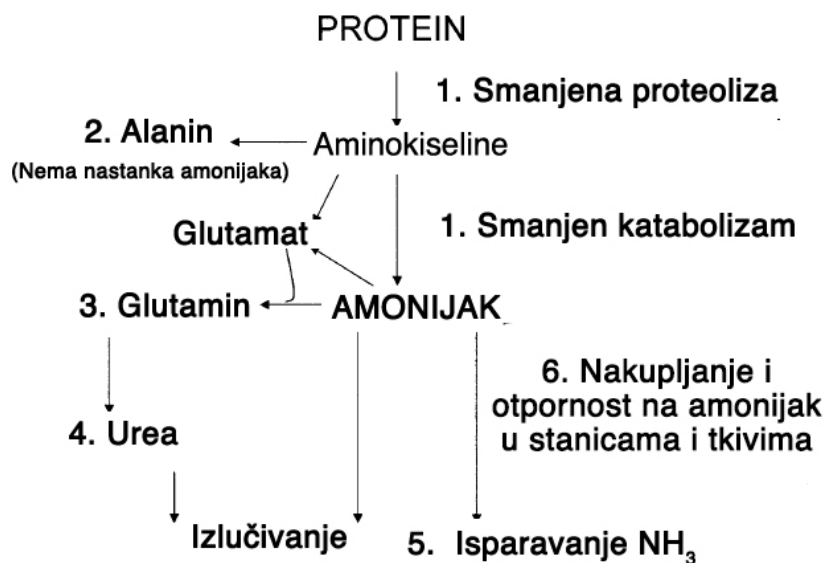
Škrge su glavno mjesto izlučivanja amonijaka iz tijela kod riba. Pogodne su jer imaju veliku površinu, male difuzijske udaljenosti, dobru ventilaciju i dobru prokrvljenost. Amonijak se izlučuje kroz škržni epitel kao  $\text{NH}_3$  zbog povoljnog difuzijskog gradijenta krv – voda. Posljednja istraživanja govore da se za prijenos amonijaka kroz škrge koriste i transporteri koji se nalaze u epitelu škruga. Ti transporteri su gore navedeni Rh glikoproteini. To je pokazano na način da su utišani geni za Rh te se amonijak za 50% manje izlučivao. Rhcg je povezan s unosom  $\text{Na}^+$  i izbacivanjem  $\text{H}^+$  (Sl. 9.) (Ip i Chew, 2010).



**Slika 9.** Uloga Rh glikoproteina (Rhbg, Rhcg) i zajedničko djelovanje s  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPazom (NKA),  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiportom 2 (NHE2),  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiportom 3 (NHE3) i proton-ATPazom ( $\text{H}^+$ -ATPaza) u izlučivanju amonijaka kroz škrge kod slatkovodnih riba (prilagođeno prema Ip i Chew, 2010).

#### 4.1.2. Obrana riba od toksičnosti amonijaka – moguće rješenje hiperamonemije

Obranu riba od toksičnosti amonijaka možemo raščlaniti na šest strategija (Sl. 10.). Ovih šest strategija su uočene kod amonioteličnih tropskih riba koje mogu udisati zrak na kopnu. Udisanje zraka je prilagodba na niske koncentracije kisika u staništu. Neke od tih riba izlaze na kratko iz vode do kopna ili se zakopavaju u vlažno blato. Takve ribe imaju problem kod izlučivanja amonijaka te su razvile mehanizme obrane (Ip i sur., 2004).



**Slika 10.** Shematski prikaz 6 strategija koje ribe upotrebljavaju za obranu od toksičnosti amonijaka (prilagođeno prema Ip i sur., 2004).

##### 4.1.2.1. Strategija 1 - Smanjenje proteolize i katabolizma aminokiselina

Kako bi usporile nakupljanje amonijaka zbog smanjenih mogućnosti izlučivanja, ribe mogu smanjiti proizvodnju amonijaka tako što smanjuju katabolizam aminokiselina. Koncentracija slobodnih aminokiselina se održava ravnotežom između njihove razgradnje i stvaranja (sinteza aminokiselina ili degradacija bjelančevina). Mijenjanje stope sinteze aminokiselina ili degradacije bjelančevina omogućava se da ne dođe do toksičnosti amonijaka. Primjer za to je vrsta *Periophthalmodon schlosseri* (Sl. 11.) koja izložena kopnenim uvjetima pokazuje povećanu proteolizu i povećanje ukupne količine slobodnih aminokiselina. Ova strategija je efektivna, ali ne dopušta korištenje aminokiselina kao energetskog izvora. Potrebna su daljnja istraživanja načina održavanja takve ravnoteže (Ip i sur., 2004).



**Slika 11.** *Periophthalmodon schlosseri* ([https://en.wikipedia.org/wiki/Giant\\_mudskipper](https://en.wikipedia.org/wiki/Giant_mudskipper)).

#### **4.1.2.2. Strategija 2 - Parcijalni katabolizam aminokiselina i stvaranje alanina**

U ovoj strategiji glutamat prolazi reakciju transaminacije s piruvatom uz pomoć enzima alanin aminotransferaze. Rezultat reakcije je ketoglutarat bez otpuštanja amonijaka (u alaninu). Ako postoji stalni dotok piruvata transaminacijom bi mogli stvarati alanin koji bi sudjelovao u oksidaciji ugljičnih lanaca nekih aminokiselina. Ta strategija uz smanjenje katabolizma aminokiselina dovodi do najvećeg učinka u smanjenju nakupljanja amonijaka u riba. Strogo gledajući to nije način detoksifikacije amonijaka jer on nije otpušten i ponovno preveden u alanin. Da bi reakcija funkcionirala ketoglutarat mora ući u ciklus limunske kiseline da održava dotok piruvata. Ketoglutarat je supstrat i za glutamat dehidrogenazu (Sl. 2.) i stvara se amonijak. Mora postojati nekakva modifikacija glutamat dehidrogenaze da ne uzima ketoglutarat za supstrat. Primjer ribe koja koristi strategiju 2 je *Channa asiatica* (Sl. 12.) koja obligatno udiše zrak jer često tijekom sušne sezone ostaje nasukana u blatu (Ip i sur., 2004).



**Slika 12.** *Channa asiatica* ([https://en.wikipedia.org/wiki/Small\\_snakehead](https://en.wikipedia.org/wiki/Small_snakehead)).

#### 4.1.2.3. *Strategija 3 - Sinteza glutamina*

Toksičnost amonijaka kao i u sisavaca moguće je izbjeći prevodeći amonijak u glutamin preko glutamin sintetaze (Sl. 5.) . Za reakciju je potrebno 2 mola ATP- a da bi se dobio 1 mol glutamina iz 2 mola amonijaka (Ip i sur., 2004). Višak glutamina u sisavaca dovodi do oticanja astrocita i moždanog edema. Za razliku od toga velike količine glutamin sintetaze u mozgu riba govore o njihovoj većoj otpornosti na amonijak. Kod riba je mozak organ u kojem se najviše povećava koncentracija glutamina, a ribe to povećanje toleriraju za razliku od sisavaca. Mehanizmi izbjegavanja toksičnih efekata glutamina u riba nisu poznati. Pretpostavke su da je u pitanju drugačija regulacija prijenosa glutamina preko unutrašnje membrane mitohondrija i drugačija regulacija glutaminaze (Sl. 3.) u matriksu mitohondrija moždanih stanica. Primjer koji koristi strategiju 3 mogao bih se koristiti u modeliranju bolesti kao što je jetrena encefalopatija. *Bostrichyths sinensis* (Sl. 13.) je vrsta ribe koja živi u bočatim vodama blizu obale tako da je izložena oseki koja je ostavlja na zraku. (Ip i Chew, 2010).



**Slika 13.** *Bostrichyths sinensis* (<http://www.fishbase.org/summary/14480>).

#### 4.1.2.4. *Strategija 4 - Sinteza ureje*

Amoniotelične ribe koje proizvode ureju nisu zbog toga ureotelični organizmi. Oni su ureogenični što znači da imaju enzime ciklusa ureje i održavaju malu količinu ureje, ali to im nije primarni mehanizam detoksifikacije amonijaka. Za svaki amonijak koji se prevede u ureju potrebno je 2,5 mola ATP-a. Osim toga moguće je proizvesti ureju katabolizmom arginina ili mokraćne kiseline. Urea bih kod riba koje su amoniotelične nastajala zbog potrebe u regulaciji retencije vode. *Protopterus aethiopicus* (Sl. 14.) je riba za koju se smatra da djelomično koristi strategiju 4 za detoksifikaciju amonijaka (Ip i sur., 2004).



Slika 14. *Protopterus aethiopicus* ([https://en.wikipedia.org/wiki/Marbled\\_lungfish](https://en.wikipedia.org/wiki/Marbled_lungfish)).

#### 4.1.2.5. Strategija 5 - Isparavanje $NH_3$

Kod nekih vrsta kao *Misgurnus anguillicaudatus* (Sl. 15.) moguće je isparavanje  $NH_3$  da bi se odstranio višak amonijaka. Da bi to bilo moguće potrebno je nakupljanje amonijaka u tijelu ribe. Amonijak se nakuplja postepeno kroz tri dana do većih količina što znači da riba mora smanjiti izlučivanje amonijaka drugim strategijama do te mjere da koncentracija amonijaka bude visoka, ali ne i toksična. Tijekom tog procesa krv ribe postaje bazična i okolina ispod ribe ima povišen pH. Koža ribe je vjerojatno mjesto isparavanja  $NH_3$ , no ako je riba okružena blatom crijeva postaju jedino mjesto isparavanja  $NH_3$ . Isparavanje ovisi i o temperaturi pa je pri  $30^\circ C$  povećano izlučivanje amonijaka putem isparavanja (Ip i sur., 2004).



Slika 15. *Misgurnus anguillicaudatus* ([https://en.wikipedia.org/wiki/Pond\\_loach](https://en.wikipedia.org/wiki/Pond_loach)).

#### **4.1.2.6. Strategija 6 - Otpornost na amonijak na razini stanica**

Primijećena je otpornost riba na amonijak koja se još ne može pripisati nijednom poznatom mehanizmu. Pokazano je da postoje razlike u otpornosti riba i sisavaca u toksičnosti amonijaka na mozak, no nije poznato na koji način ribe toleriraju višu koncentraciju amonijaka. Kod sisavaca amonijak povećava aktivnost NMDA receptora što se kod riba ne događa tako da nema neuroloških simptoma. Pretpostavke su da primjerice vrsta *Misgurnus anguillicaudatus* (Sl. 15.) ima veći prostor u lubanji da spriječi rast intrakranijalnog tlaka ili posjeduje manje osjetljive NMDA receptore na glutamat. Potrebna su dodatna istraživanja u komparativnoj fiziologiji između riba i sisavaca kako bih se određene vrste riba mogle koristiti kao prirodni model za jetrenu encefalopatiju i kao posljedicu hiperamonemiju (Ip i sur., 2004).

#### **4.1.3. Zebrica kao model hiperamonemije**

Da bi se istražilo djelovanje lijekova i njihova mogućnost liječenja hiperamonemije potreban je organizam slične osjetljivosti na amonijak kao i čovjek. *Danio rerio* odnosno riba zebrica je dobar model za to jer proizvodi oko 200 potomaka u kratkom vremenskom rasponu jer su embriji i larve zebrice prozirne i lako propusne za razne tvari. Također, struktura mozga i sustava neurotransmitera je slična onima u sisavaca pa shodno tome i čovjeku. Hiperamonemija se može izazvati amonijevim acetatom u zebrica (Sl. 16.). U zebrici višak amonijak ima isti utjecaj na NMDA receptore kao na čovjeka (vidi poglavlje 3.3.3.). Dodatkom tvari MSO (metionin sulfoksimin) koja je antagonist NMDA je pokazana manja toksičnost viška amonijaka za zebrice. Testirani su i neki drugi lijekovi kao ketamin te je pokazano da štite mozak od amonijaka. Zebrica je dobar model zbog velike količine potomaka što daje mogućnost testiranja puno tvari te sličnosti njezina mozga i mozga sisavaca (Feldman i sur., 2014).



**Slika 16.** Moždana smrt u larvama tri dana starih zebrica zbog djelovanja 5 mM  $\text{NH}_4\text{Ac}$  ( A i C) i 5 mM  $\text{NaAc}$  ( B i D) (Feldman i sur., 2014).

## 4.2. Ostali modeli hiperamonemije

### 4.2.1. Hibernirajući medvjedi

Medvjedi (Sl. 17.) pripadaju porodici Ursidae i preko zime hiberniraju kako se zaštitili od perioda nedostatka hrane. Tijekom tog perioda se ne miču, ne uriniraju, ne vrše defekaciju, ne piju vodu i ne jedu. Njihovo preživljavanje osiguravaju masti koje se metaboliziraju u vodu. Zbog tih svojstava oni su idealan model za hiperamonemiju jer su prirodno našli način kako da je spriječe (Stenvinkel i sur., 2012).

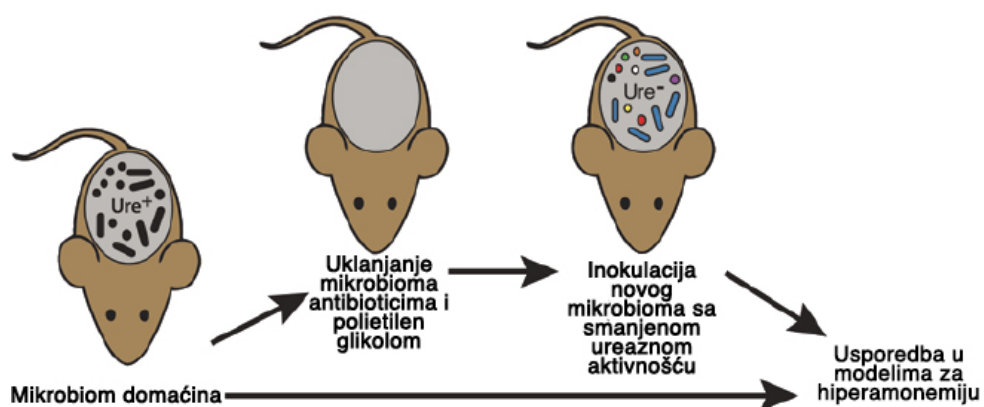
Koncentracija ureje se tijekom hibernacije ne povećava, nego ostaje ista ili se smanjuje. Zbog smanjenog stvaranja ureje i brzog recikliranja viška u sintezi bjelančevina ne dolazi do povećanja amonijaka. Smanjenje proizvodnje ureje je zbog toga što medvjedi u hibernaciji metaboliziraju masti, a ne bjelančevine. Urea nastala djelovanjem bazalnog metabolizma je najvjerojatnije hidrolizirana pod djelovanjem ureaza bakterija u crijevima uz otpuštanje amonijaka. Amonijak koriste same bakterije, ali i koristi se u reakciji s glicerolom i nastajanju aminokiselina. Novija istraživanja pokazuju da je u recikliranje ureje uključen sirtuin (nikotinamid adenin dinukleotid – ovisna protein deacetilaza). Pokazano je da SIRT5 regulira ciklus tako da deacetilira karbamoil fosfat sintetazu 1 koja je limitirajući korak ciklusa i samim time regulira detoksifikaciju amonijaka. Daljnja istraživanja su potrebna da ukažu na ulogu sirtuina u hibernaciji (Stenvinkel i sur., 2012).



**Slika 17.** *Ursus americanus* (crni medvjed) u divljini (Stenvinkel i sur., 2012).

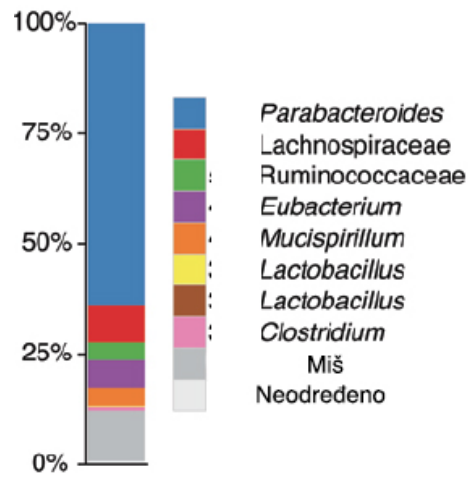
#### 4.2.2. Promjena crijevnog mikrobioma za liječenje hiperamonemije

Sve više istraživanja govori o mogućnostima promjene crijevnog mikrobioma kako bi se liječile razne bolesti. U crijevima bakterijska ureaza iz ureje domaćina stvara amonijak i doprinosi stvaranju hiperamonemije i samim time neurotoksičnosti. Da bi se to spriječilo promijenjen je sastav mikrobioma crijeva miša. Prvotno se s antibioticima i polietilen glikolom ukloni mikrobiom domaćina (Sl. 18). Zatim se inokulira takozvana Schaedler flora (Sl. 19.) koja se sastoji od 8 bakterija sa smanjenom ureaznom aktivnošću. Miš koji je korišten je bio model za ozljede i otkazivanje jetre te u njemu dolazi do pojave hiperamonemije. Nakon inokulacije bakterija dolazi do smanjenja smrtnosti i pojava neuroloških simptoma kod takvih miševa (Shen i sur., 2014).



**Slika 18.** Shematski prikaz dobivanja miševa s promijenjenim mikrobiomom smanjene ureazne aktivnosti (prilagođeno prema Shen i sur., 2014).





**Slika 19.** Metagenomska analiza stolice nakon inokulacije s bakterijama iz 8 rodova i njihov udio u crijevima (prilagođeno prema Shen i sur., 2014).

## 5. ZAKLJUČAK

---

Izvor amonijaka u ljudskom tijelu je iz prehrane zbog degradacije bjelančevina te katabolizma aminokiselina. Uz to kao što je navedeno amonijak nastaje i ureaznom aktivnošću crijevnog mikrobioma. U ovom radu je pokazano da su ciklus ureje i glutamin sintetaza glavni mehanizmi detoksifikacije amonijaka u ljudskom tijelu. Unatoč tome amonijak je toksičan i to primarno za mozak pa ga nazivamo neurotoksinom.

Povećanje koncentracije amonijaka uzrokuju genetske mutacije u ciklusu ureje, ali i oštećenje i zatajenje jetre što dovodi do jetrene encefalopatije. Jetrena encefalopatija zbog amonijaka dovodi do moždanog edema te može u konačnici dovesti do smrti. Ključno djelovanje amonijaka na mozak je što dovodi do oticanja astrocita koje uzrokuje višak glutamina nastao iz amonijaka. Uz to amonijak djeluje na NMDA receptor tako da mu povećava aktivnosti i uzrokuje neurološke probleme zbog povećane koncentracije cGMP. Dobar model za navedene bolesti bi mogle biti ribe i to amoniotelične ribe. One amonijak izlučuju kroz škrge i za to koriste Rh glikoproteine koji su transporteri. Za ribe je amonijak neurotoksičan, ali one podnose puno veće koncentracije od sisavaca.

Ribe za obranu od visokih koncentracija koriste šest strategija. One su uočene kod tropskih riba koje dišu zrak te bi one u budućnosti mogle postati prirodni modeli za hiperamonemiju. Najzanimljivije strategije za usporedbu su strategije 3 i 6. Strategija 3 pokazuje da ribe podnose velike koncentracije glutamina u mozgu za razliku od sisavaca, a mogući razlog je drugačija regulacija prijenosa glutamina preko unutrašnje membrane mitohondrija i drugačija regulacija glutaminaze u matriksu mitohondrija. Dobar model u ovom slučaju bi bila vrsta *Bostrichyths sinensis*. Strategija 6 govori o otpornosti na amonijak na razini stanica to jest njezinim adaptacijama. Primjerice kod sisavaca amonijak povećava aktivnost NMDA receptora što se kod riba ne događa. U ovom slučaju dobar model bi bila vrsta *Misgurnus anguillicaudatus* za koju se smatra da ima veći prostor u lubanji da spriječi rast intrakranijalnog tlaka ili posjeduje manje osjetljive NMDA receptore na glutamat. Za razliku od prirodnih modela zebrića se zbog svojih svojstava i sličnosti djelovanja amonijaka kao kod ljudi koristi za testiranje i pronalaženje novih lijekova za hiperamonemiju.

Uz ribe spomenuo bih i medvjede koji kao sisavci su srodniji ljudima nego ribe. Medvjedi koji hiberniraju bez obzira što ne uriniraju nemaju problema s amonijakom u većim koncentracijama. Koncentracija ureje se tijekom hibernacije ne povećava, nego ostaje ista ili se smanjuje. Urea se reciklira u nove bjelančevine, a ostatak rješavaju bakterijske ureaze.

Novija istraživanja pokazuju recikliranje ureje regulira sirtuin (SIRT5). Potrebna su daljnja istraživanja da pokažu važnost sirtuina u hibernaciji. Ako je sirtuin ključan to bi moglo dovesti do liječenja cijelog niza bolesti kojima bi pogodovali uvjeti hibernacije, a ne samo hiperamonemije.

Najveći problem ovih modela je vjerojatno naći način laboratorijskog uzgoja i održavanja s obzirom da neke od ovih vrsta kao ribe imaju kompleksne uvjete života ili medvjedi koji su veliki i mogu biti opasni za ljude pa tako i za istraživača. Ako se uspješno budu koristili ovi modeli dovest će do otkrića prirodnih načina u borbi protiv hiperamonemije bez korištenja sintetskih lijekova koji iako su efikasni često imaju nuspojave.

Uz najnovije tehnologije i mogućnosti kao što je promjena mikrobioma za liječenje hiperamonemije. Postoji niz pravaca kojima je moguće ići kako bi se riješio problem amonijaka. Naposljetku potrebna su daljnja istraživanja osnovnih mehanizma kako bih se moglo doći do optimalne terapije kod pacijenata koji boluju primjerice od jetre encefalopatije.

## 6. LITERATURA

---

- Adeva, Maria M., Gema Souto, Natalia Blanco, i Cristóbal Donapetry. "Ammonium Metabolism in Humans." *Metabolism* 61, br. 11 (2012): 1495-511.
- Brusilow, Saul W., Raymond C. Koehler, Richard J. Traystman, i Arthur J. L. Cooper. "Astrocyte Glutamine Synthetase: Importance in Hyperammonemic Syndromes and Potential Target for Therapy." *Neurotherapeutics* 7, br. 4 (2010): 452-70.
- Dudek, Ronald W. "Nervous Tissue." U: *High-yield Histology*, 51-62. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
- Feldman, B., M. Tuchman, i L. Caldovic. "A Zebrafish Model of Hyperammonemia." *Molecular Genetics and Metabolism* 113, no. 1-2 (2014): 142-47.
- Felipo, Vicente. "Hepatic Encephalopathy: Effects of Liver Failure on Brain Function." *Nature Reviews Neuroscience Nat Rev Neurosci* 14, br. 12 (2013): 851-58.
- Ip, Yuen K., i Shit F. Chew. "Ammonia Production, Excretion, Toxicity, and Defense in Fish: A Review." *Frontiers in Physiology Front. Physio.* 1 (2010): 1-20.
- Ip, Yuen K., Shit F. Chew, and D. J. Randall. "Five Tropical Air-Breathing Fishes, Six Different Strategies to Defend against Ammonia Toxicity on Land." *Physiological and Biochemical Zoology* 77, br. 5 (2004): 768-82.
- Parekh, Parth J., i Luis A. Balart. "Ammonia and Its Role in the Pathogenesis of Hepatic Encephalopathy." *Clinics in Liver Disease* 19, br. 3 (2015): 529-37.

- Shen, Ting-Chin David, Lindsey Albenberg, Kyle Bittinger, Christel Chehoud, Ying-Yu Chen, Colleen A. Judge, Lillian Chau, Josephine Ni, Michael Sheng, Andrew Lin, Benjamin J. Wilkins, Elizabeth L. Buza, James D. Lewis, Yevgeny Daikhin, Ilana Nissim, Marc Yudkoff, Frederic D. Bushman, i Gary D. Wu. "Engineering the Gut Microbiota to Treat Hyperammonemia." *Journal of Clinical Investigation J. Clin. Invest.* 125, br. 7 (2015): 2841-850.
- Singer, Michael A. "Ammonia Toxicity." U: *Comparative Physiology, Natural Animal Models, and Clinical Medicine: Insights into Clinical Medicine from Animal Adaptations*, 149-83. London: Imperial College Press, 2007.
- Stenvinkel, Peter, Alkesh H. Jani, i Richard J. Johnson. "Hibernating Bears (Ursidae): Metabolic Magicians of Definite Interest for the Nephrologist." *Kidney International* 83, br. 2 (2012): 207-12.
- Walker, Valerie. "Ammonia Metabolism and Hyperammonemic Disorders." *Advances in Clinical Chemistry* 67 (2014): 73-150.
- Wright, Patricia A. "Nitrogen excretion: three end products, many physiological roles." *The Journal of Experimental Biology* 198 (1995): 273-81.
- "Giant Mudskipper." Wikipedia. Pristupljeno 4. srpnja, 2016. [https:// en. wikipedia. org/ wiki / Giant\\_mudskpper](https://en.wikipedia.org/wiki/Giant_mudskpper).
- "Small Snakehead." Wikipedia. Pristupljeno 4. srpnja, 2016. [https://en. wikipedia. org/ wiki / Small\\_snakehead](https://en.wikipedia.org/wiki/Small_snakehead).
- "Bostrychus Sinensis Summary Page." FishBase. Pristupljeno 4. srpnja, 2016. [http:// www.fishbase. org /summary / 14480](http://www.fishbase.org/summary/14480).
- "Marbled Lungfish." Wikipedia. Pristupljeno 4. srpnja, 2016. [https:// en.wikipedia. org/ wiki / Marbled\\_lungfish](https://en.wikipedia.org/wiki/Marbled_lungfish).
- "Pond Loach." Wikipedia. Pristupljeno 4. srpnja, 2016. [https:// en. wikipedia. org/ wiki / Pond\\_loach](https://en.wikipedia.org/wiki/Pond_loach).

## 7. SAŽETAK

---

U ovom radu dan je pregled metabolizma amonijaka, njegova izlučivanja te detoksifikacije u ljudskom tijelu. Opisane su bolesti koje uzrokuje povećanje koncentracije amonijaka. Bolesti se nazivaju hiperamonemije. Primjer takve bolesti koju uzrokuje zatajenje jetre je jetrena encefalopatija kod koje visoke koncentracije amonijaka mogu dovesti moždanog edema zbog oticanja astrocita.

Napravljen je pregled životinjskih modela koji bi se mogli koristiti u istraživanju hiperamonemija. Najbolje opisani model su ribe. Ribe imaju šest strategija za detoksifikaciju amonijaka od koji su strategija tri i šest ključne jer se mogu usporediti s mehanizmima djelovanja amonijaka kod sisavaca, a tiču se sinteze glutamina i adaptacija na razini stanica. Osim riba moguć model su i medvjedi u hibernaciji. Oni recikliraju ureju bez da proizvode amonijak preko sinteze novih bjelančevina. U regulaciju je vjerojatno uključen sirtuin. Nova metoda liječenja hiperamonemije je promjena mikrobioma u crijevima domaćina s mikrobiomom koji ima smanjeno djelovanje bakterijskih ureaza. Bakterijske ureaze mogu razgraditi ureju u crijevima i tako povećati koncentraciju amonijaka.

Potrebna su daljnja istraživanja navedenih prirodnih životinjskih modela kako bi se omogućili bolji tretmani i smanjila smrtnost zbog neuroloških problema koje stvara hiperamonemija.

## **8. SUMMARY**

---

This paper gives an overview of the metabolism of ammonia, its excretion and detoxification in the human body. Diseases that cause an increase in ammonia concentration are called hyperammonemias. An example of such a disease caused by liver failure is hepatic encephalopathy in which high concentrations of ammonia can cause brain edema due to swelling of astrocytes.

A review of animal models that could be used in research of hyperammonemias is given. Best described animal model is the fish model. Fish have six strategies for detoxification of ammonia of which strategies three and six are crucial because they can be compared with the mechanisms of action of ammonia in mammals, related to the synthesis of glutamine and adaptation at the cellular level. In addition to fish other possible animal model are bears in hibernation. They recycle urea without production of ammonia through synthesis of new proteins. Sirtuin is likely involved in the regulation. A new method of treating hyperammonemia is to change host gut microbiome to microbiome which has reduced action of bacterial urease. Bacterial urease can degrade urea in the intestine and thus increase the concentration of ammonia.

Further research of mentioned natural animal models is necessary to enable better treatments and reduce mortality due to neurological problems that hyperammonaemias create.