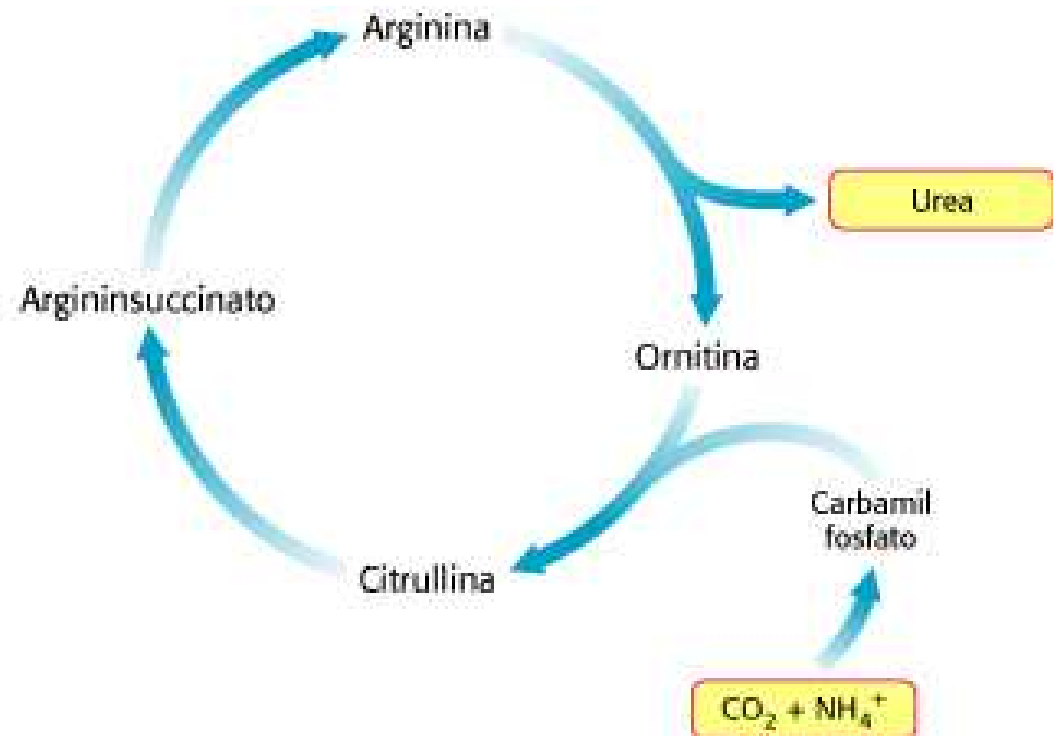
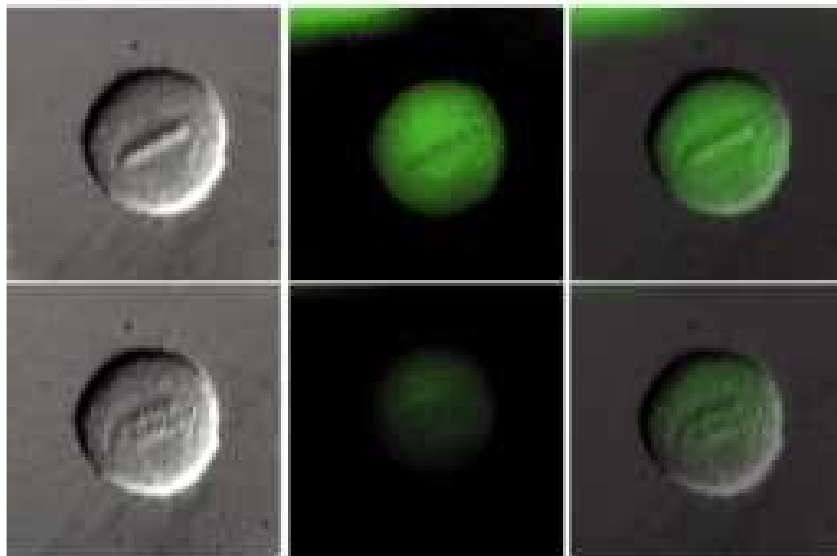


METABOLISMO DEGLI AMMINOACIDI



Metabolismo degli amminoacidi:

- 1. Degradazione delle proteine*
- 2. Incorporazione dell'azoto nell'urea*
- 3. Sintesi dei singoli amminoacidi*

Le cellule sintetizzano continuamente le proteine partendo dagli amminoacidi e le degradano ottenendo amminoacidi

3 funzioni:

- 1) Conservare il materiale nutriente nella forma di proteine
- 2) Eliminare le proteine anomale
- 3) Permettere la regolazione del metabolismo cellulare

DIGESTIONE DELLE PROTEINE

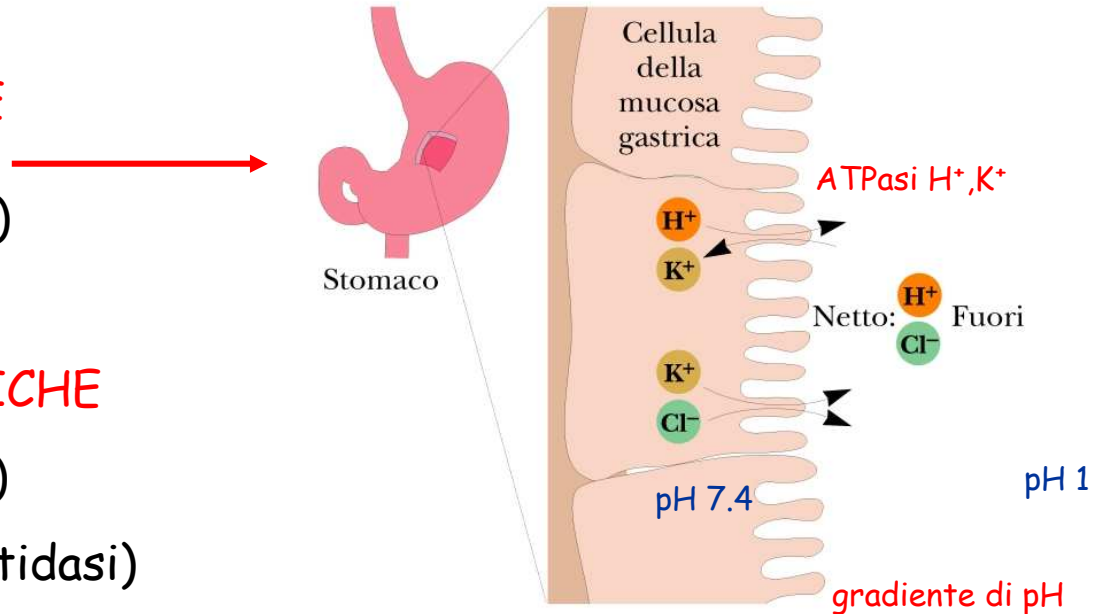
PROTEASI GASTRICHE

- pepsina (endopeptidasi)

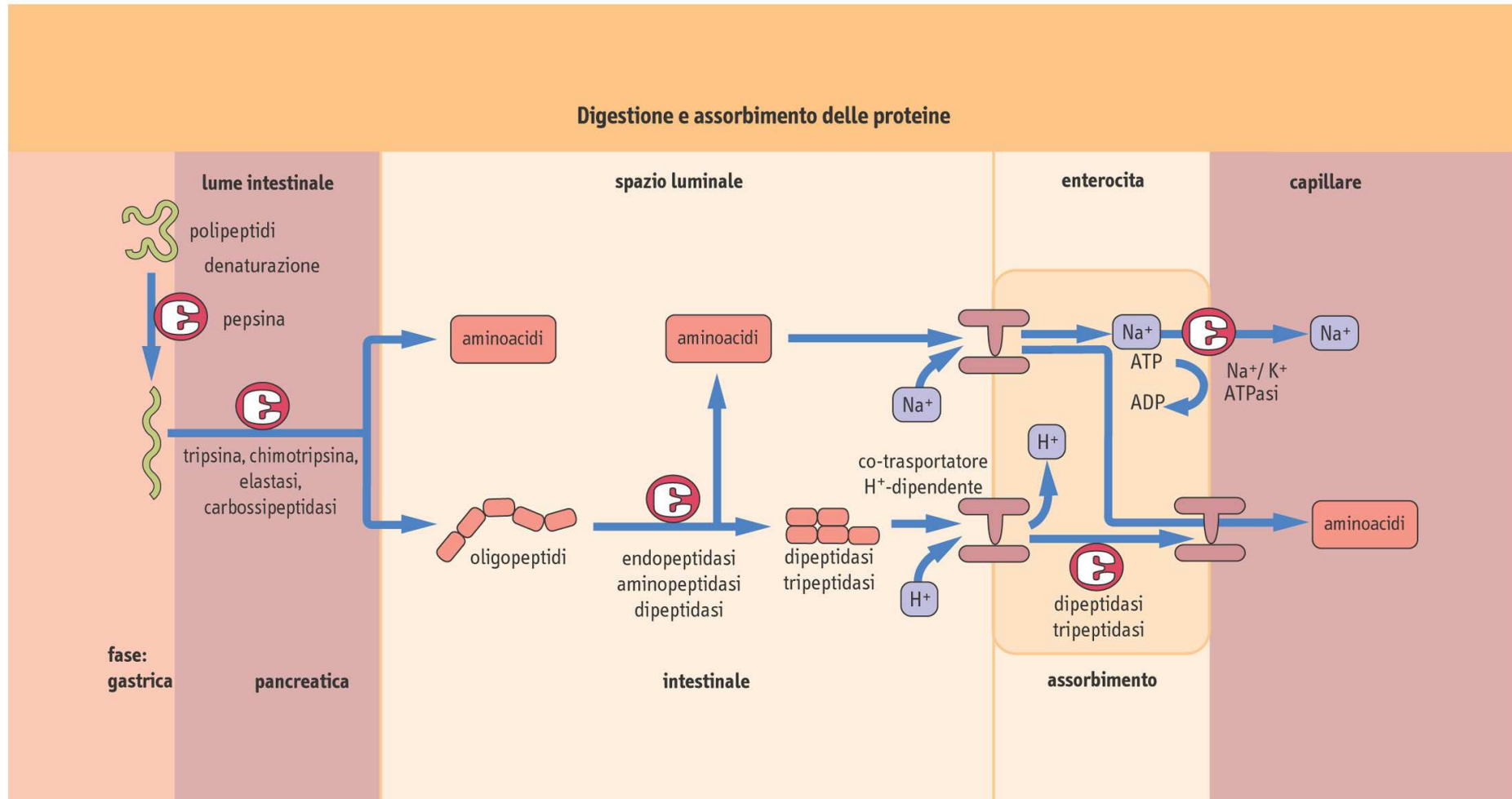
PROTEASI PANCREATICHE

- tripsina (endopeptidasi)
- chimotripsina (endopeptidasi)
- elastasi (endopeptidasi)
- carbossipeptidasi A e B (eso-peptidasi)

PEPTIDASI INTESTINALI



Digestione e assorbimento delle proteine



Alcune proteine non possono essere correttamente digerite da individui che presentano alcune patologie.

MORBO CELIACO

MORBO DI HARTNUP

Degradazione intracellulare delle proteine

- a. Degradazione lisosomiale
- b. Ubiquitina
- c. Proteasoma

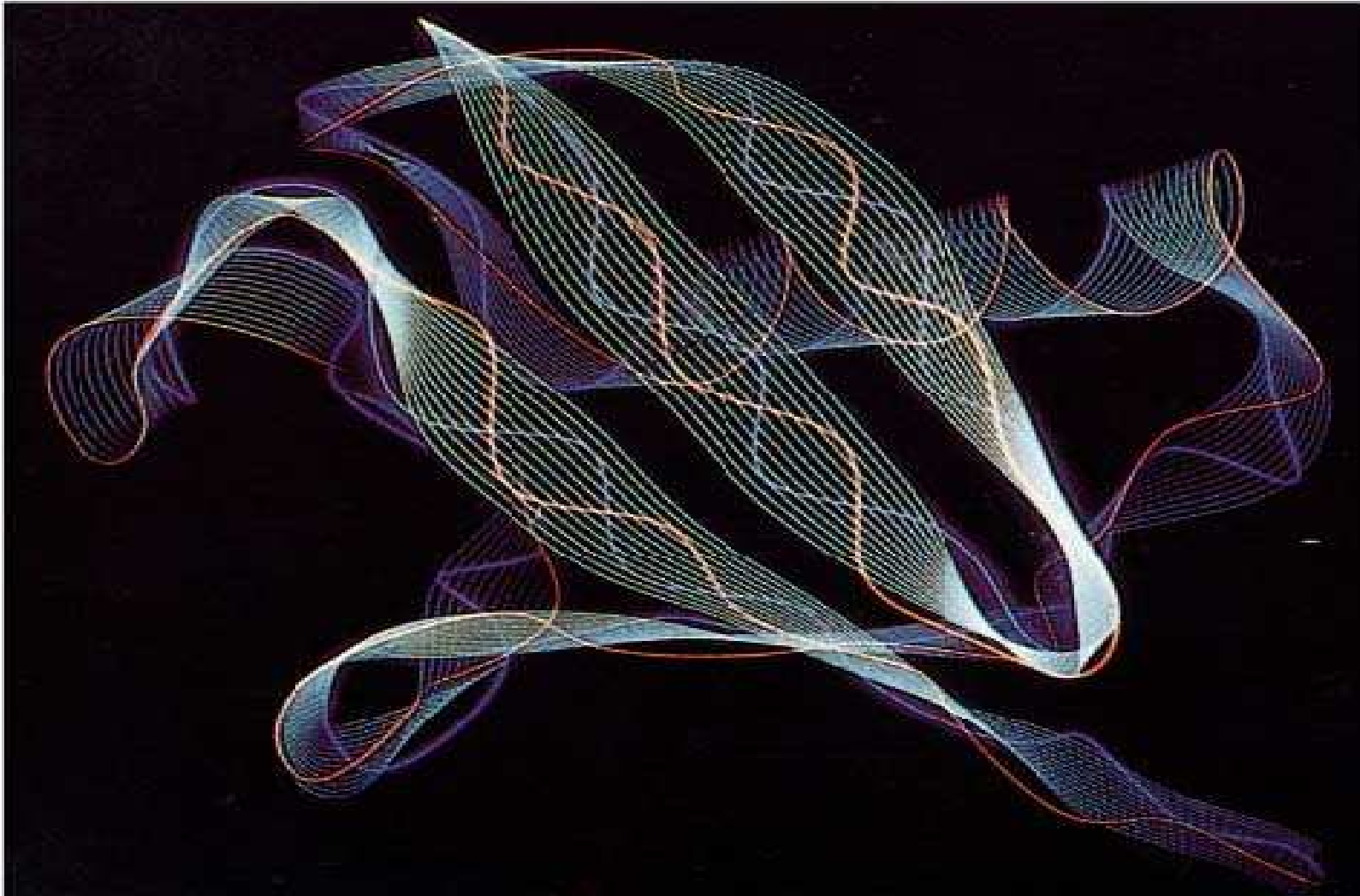
A. Degradazione lisosomiale

- i lisosomi mantengono un pH interno di circa 5.0
- gli enzimi che contengono sono attivi ad un pH acido

Processi normali e patologici associati ad un'aumentata attività lisosomiale

- regressione dell'utero dopo il parto
- atrofia muscolare causata dal disuso o da ferite traumatiche
- artrite reumatoide

B. Ubiquitina



Struttura ai raggi X dell'ubiquitina

IL TURNOVER DELLE PROTEINE E' STRETTAMENTE REGOLATO

- Come fa una cellula a identificare le proteine che devono essere degradate?
- **L' UBIQUITINA**, una piccola proteina di peso molecolare 8,5 Kd, presente in tutte le cellule eucariotiche, è il segnale che identifica le proteine destinate alla distruzione

L' UBIQUITINA è l'equivalente cellulare della "MACCHIA NERA " nel libro " L' ISOLA DEL TESORO di Robert Louis Stevenson: è un segnale di " CONDANNA A MORTE ".

Il legame dell'ubiquitina alla proteina bersaglio è attuato da un enzima chiamato E3

Alcune condizioni patologiche illustrano molto chiaramente l'importanza della regolazione del ricambio delle proteine:

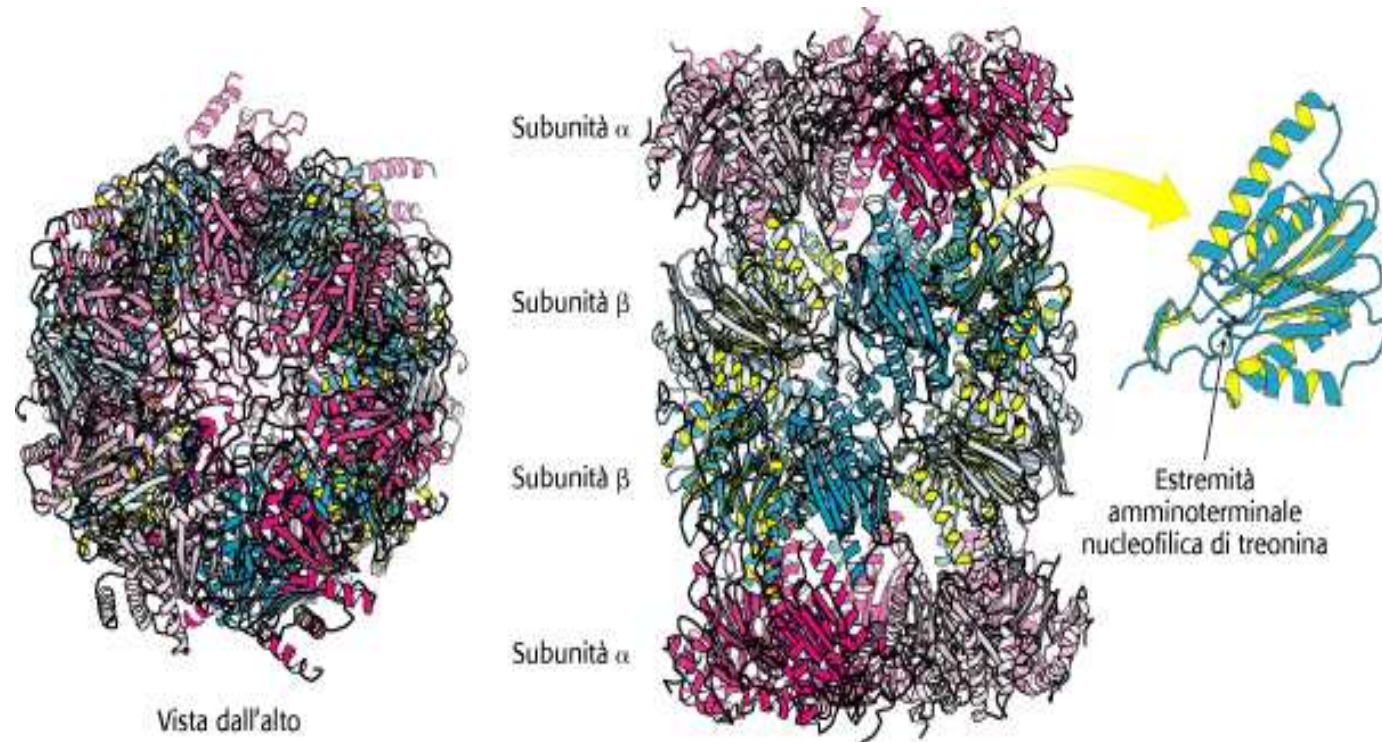
1. Il virus del papilloma umano (HPV) produce una proteina che attiva uno specifico enzima E3.
2. L'enzima lega l'ubiquitina alla proteina oncosoppressore p53 e ad altre proteine che controllano i meccanismi di riparazione del DNA, che sono di conseguenza distrutte
3. L'attivazione di questo enzima E3 si osserva nel 90% dei carcinomi della cervice

Se l'ubiquitina è il segnale di morte chi esegue la sentenza ?

L'esecutore è un grande complesso detto **proteasoma** o **proteasoma 26 S** che digerisce la proteina combinata con l'ubiquitina

Questo complesso proteolitico **ATP-dipendente**, composto da numerose subunità, non degrada l'ubiquitina (che viene riciclata) mentre i prodotti peptidici sono ulteriormente degradati

PROTEASOMA



Il proteasoma 26 S è costituito da due componenti:

- 1) Il complesso 20 S costituito da due copie di 14 subunità con una massa di 700 Kd, che contiene l' **attività catalitica**.
- 2) Il complesso 19 S o **complesso regolatore**

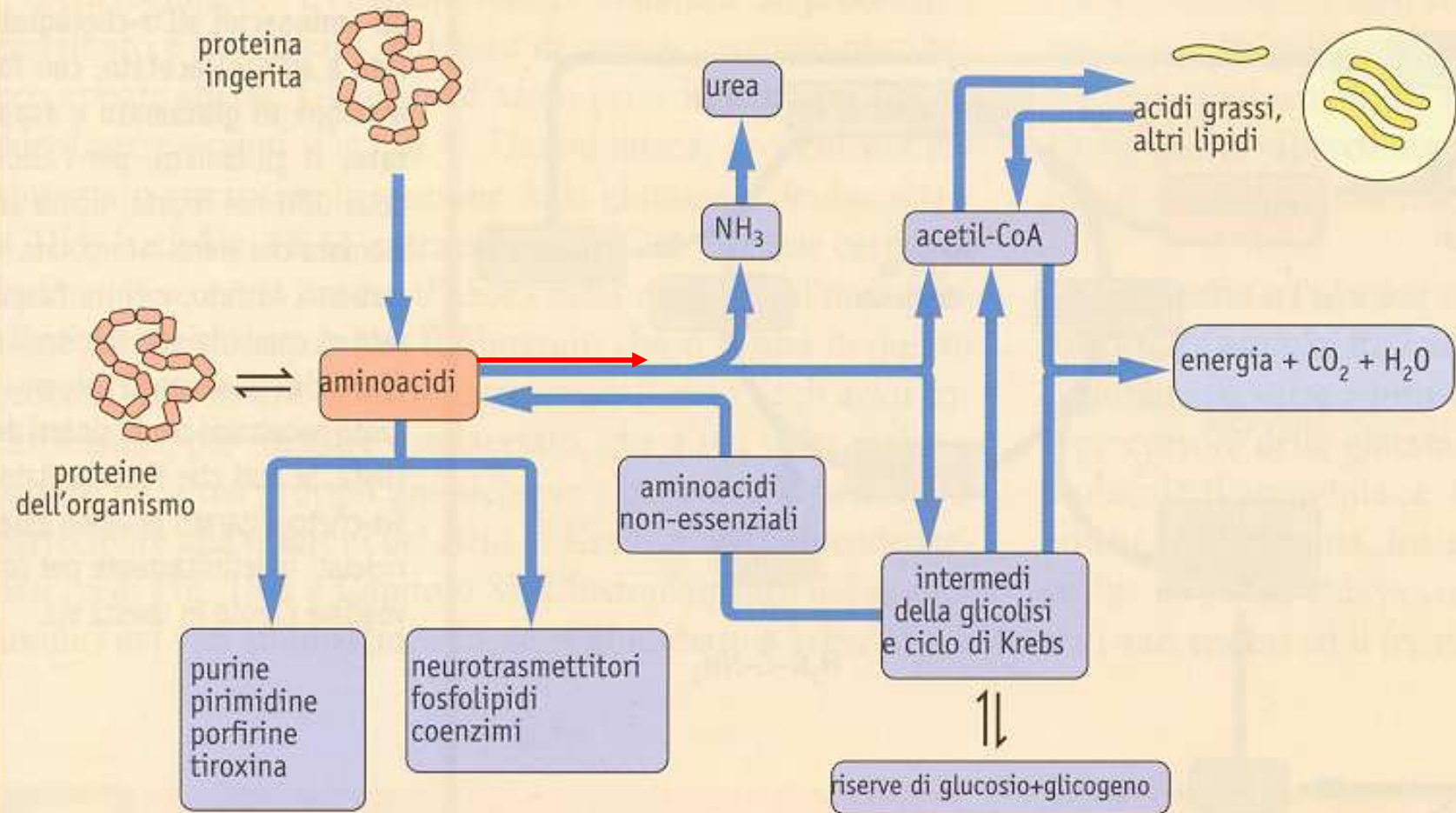
Questa classe di ATPasi, che si trovano in tutti gli esseri viventi, è associata ad un gran numero di funzioni cellulari, comprese la regolazione del ciclo cellulare e la biogenesi degli organelli

Il processo di ubiquitinizzazione e il proteasoma collaborano nella degradazione delle proteine non più necessarie

Qual è il destino degli amminoacidi liberi ?

La prima tappa della degradazione degli amminoacidi è la
rimozione del residuo azotato

Rapporti metabolici negli aminoacidi

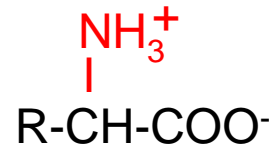


Deamminazione degli amminoacidi

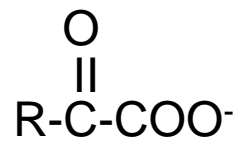
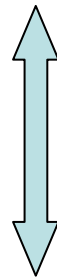
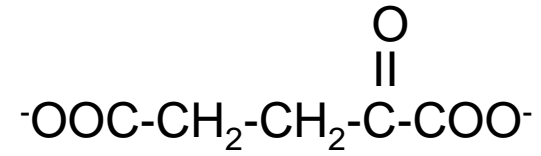
Transamminazione

amminoacido

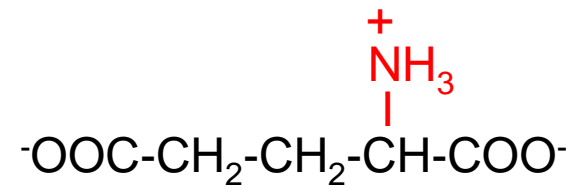
α -chetoglutarato



+



+



α -chetoacido

glutammato

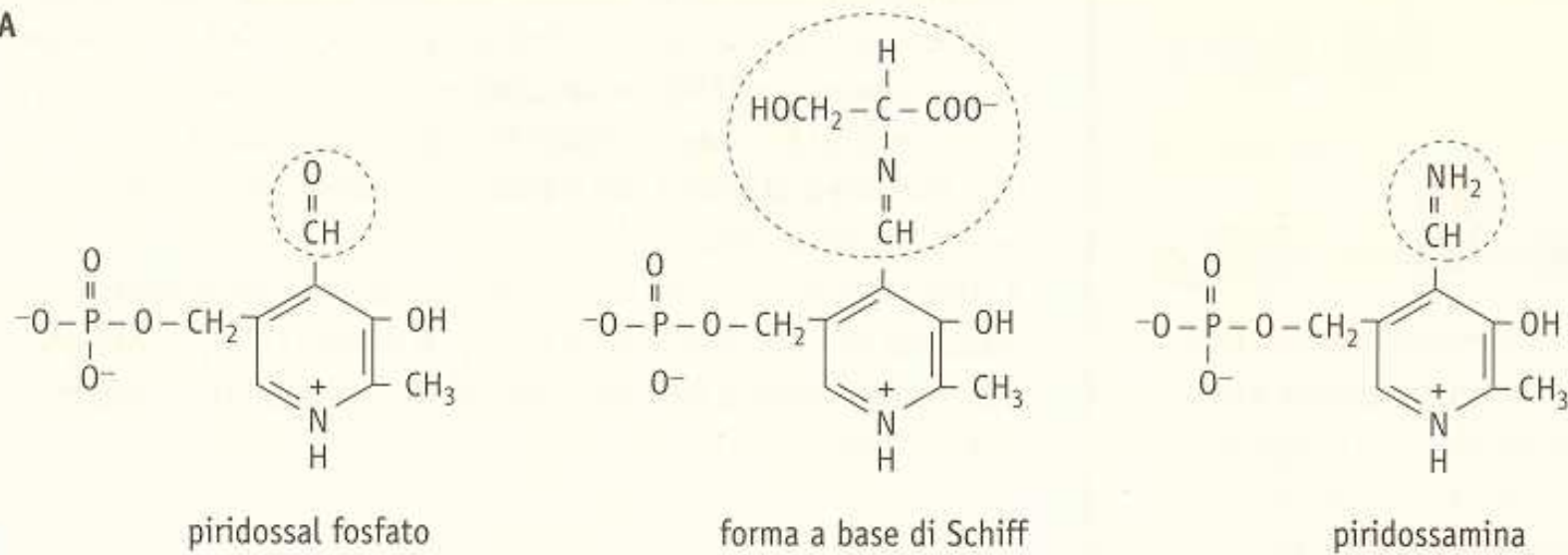
Tutti gli amminoacidi, ad eccezione di prolina, lisina e treonina, subiscono la transaminazione.

α -chetoacidi: α -chetoglutarato, piruvato e ossalacetato

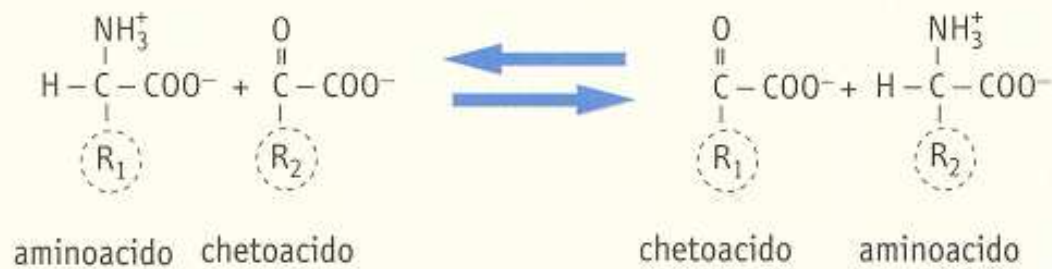
Le transaminasi utilizzano il PLP come cofattore che viene convertito in piridossamina

Il ruolo catalitico del piridossal fosfato

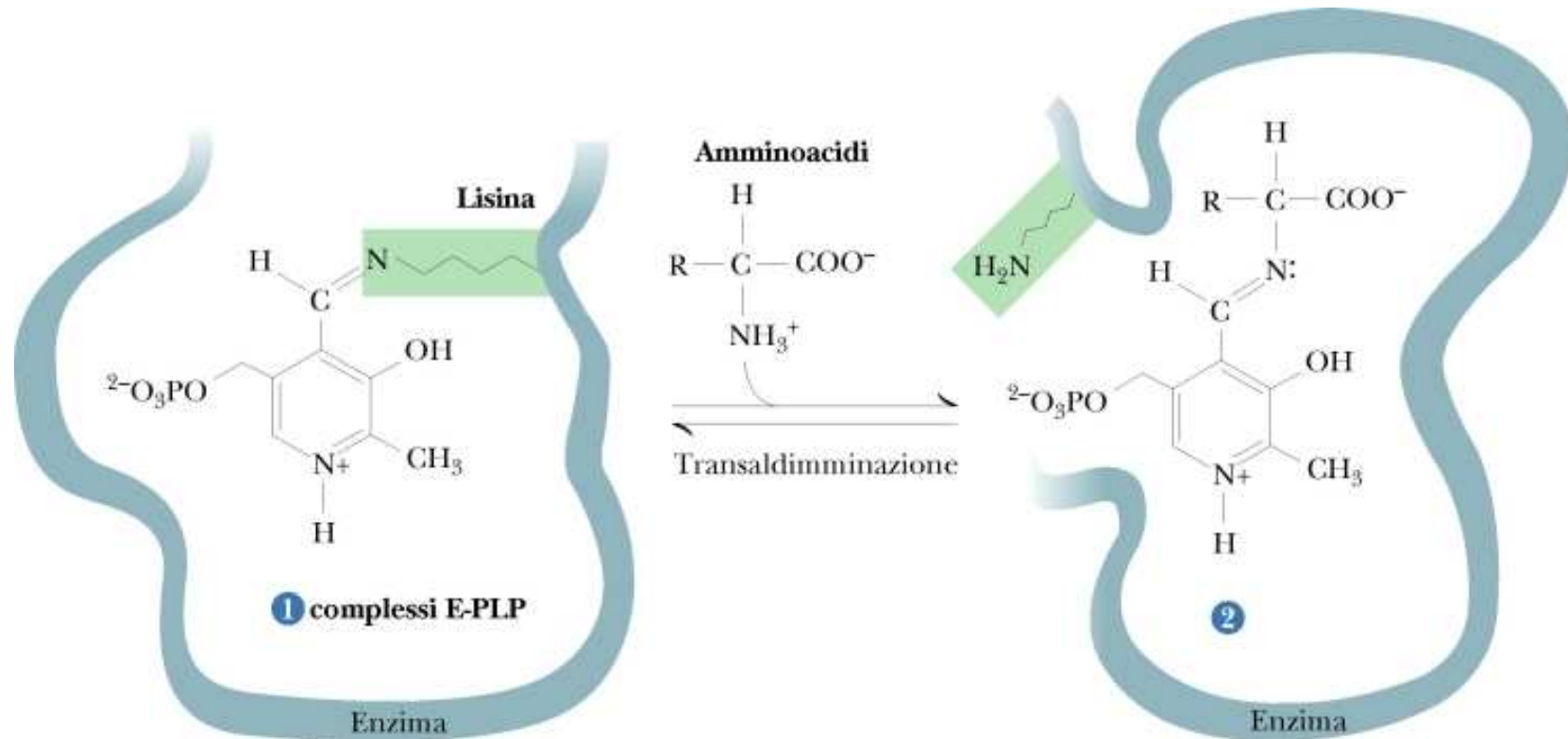
A



B



TRANSALDIMMINAZIONE



In tutti gli enzimi dipendenti dal PLP il cofattore è legato, in assenza di substrato, al gruppo ϵ -amminico di una lisina al sito attivo tramite una base di Schiff.

Il riarrangiamento che porta alla formazione della base di Schiff con il substrato entrante è una reazione di **transaldimminazione**

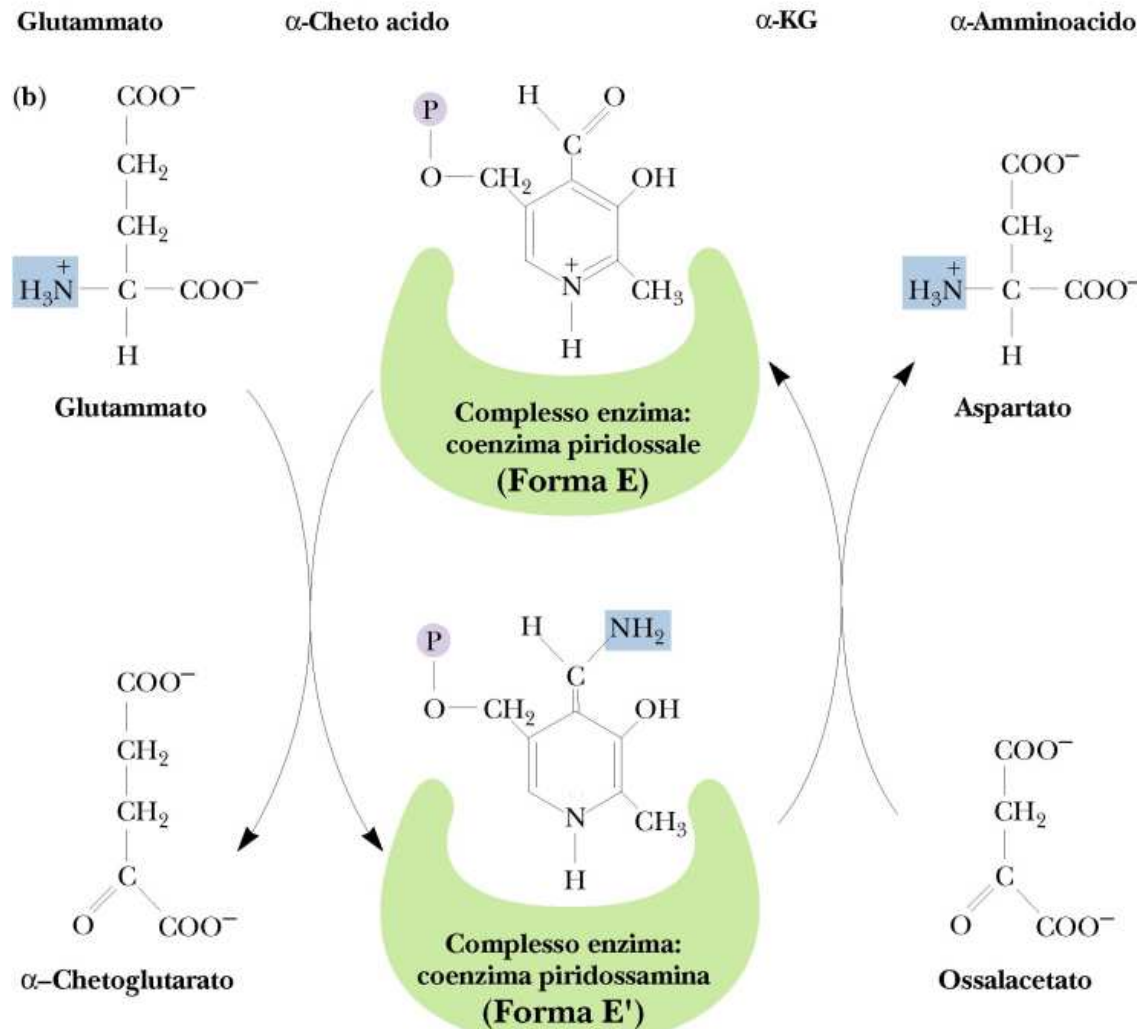
LA REAZIONE DELLE TRANSAMINASI SEGUE UN MECCANISMO A PING-PONG

- 1) il gruppo α -amminico dell'amminoacido va a sostituirsi al gruppo ϵ -amminico dell'enzima. La *base di Schiff* che si forma tra l'amminoacido e il PLP resta fortemente *legata all'enzima tramite interazioni multiple non covalenti*.
- 2) la stessa base perde un protone dall'atomo di carbonio α dell'amminoacido e successivamente viene idrolizzata in α -chetoacido e PLP legato solo all' NH_3 .
- 3) un α -chetoacido (*secondo substrato*) reagisce con il complesso E-PLP- NH_3 , formando un'altra base di Schiff
- 4) si produce un amminoacido (secondo prodotto) e si rigenera il complesso E-PLP





a) generica reazione di transaminazione



b) transaminazione glutammato-ossalacetato (GOT)

Meccanismo cinetico a ping-pong

Transamminasi in medicina

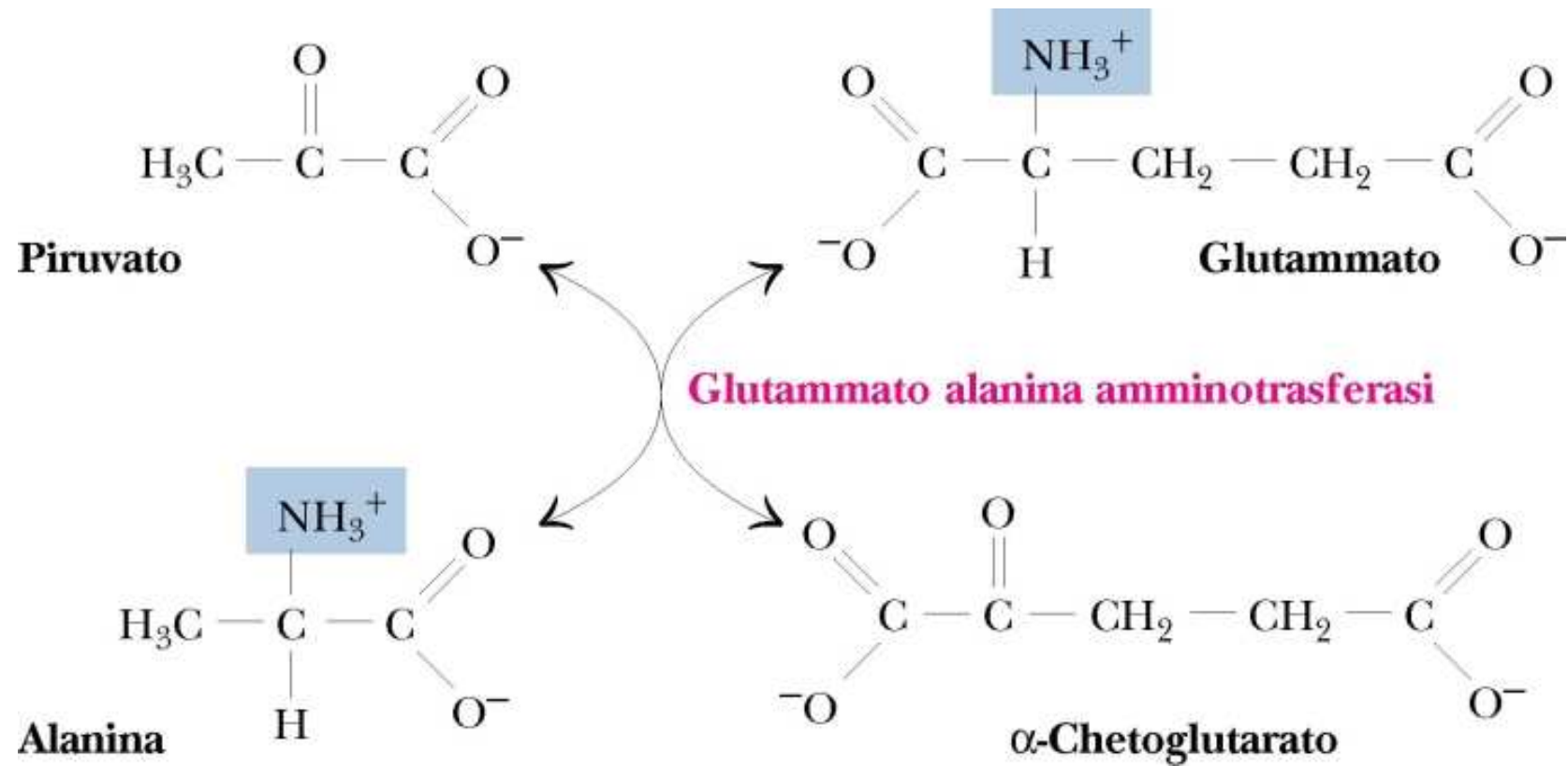
TRANSAMINASI

Aspartato amminotransferasi (AST o GOT)

α -chetogluturato + aspartato \longleftrightarrow glutammato + ossalacetato

Alanina amminotransferasi (ALT o GPT)

α -chetogluturato + alanina \longleftrightarrow glutammato + piruvato



AST o GOT:

- alta concentrazione nel miocardio, nel fegato e nel cervello
- aumenta nel siero in seguito a necrosi cellulare (infarto del miocardio) dopo 8-12h (liv. max dopo 24-48h; val. norm. dopo 4-7 giorni)

La determinazione serve a 4 scopi:

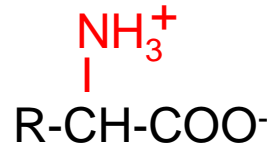
1. distinguere l'infarto del miocardio da una crisi di angina pectoris
2. diagnosticare un infarto nei casi di elettrocardiogramma dubbio
3. stabilire l'estensione dell'infarto del miocardio
4. seguire il decorso della malattia

- aumento elevato di AST (100 volte sup. ai valori normali):
epatite acuta
avvelenamenti

ALT o GPT:

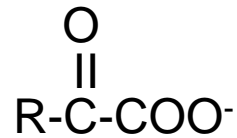
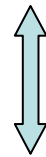
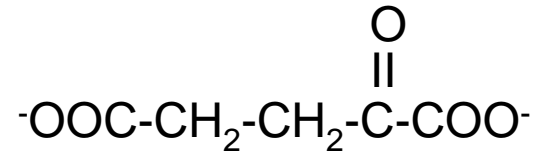
- localizzata nel fegato, rene, miocardio, muscoli scheletrici, pancreas, milza
- nell'epatite virale il suo aumento è sovrapponibile a quello della AST

amminoacido

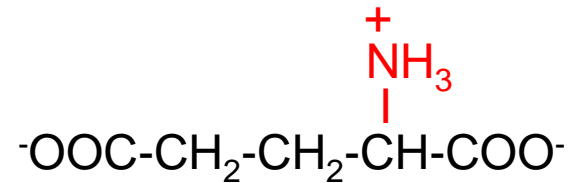


+

α -chetoglutarato



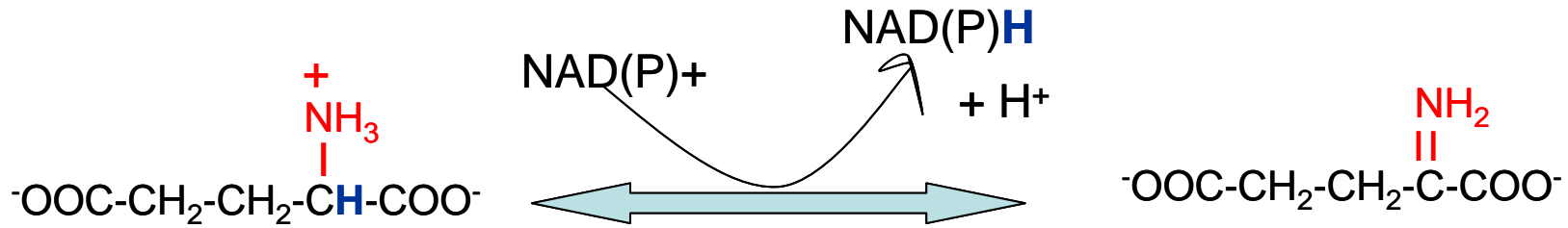
+



α -chetoacido

glutammato

Con la reazione di transaminazione il gruppo amminico è stato solo trasferito. Il suo definitivo distacco avviene con la reazione di deaminazione.



glutammato

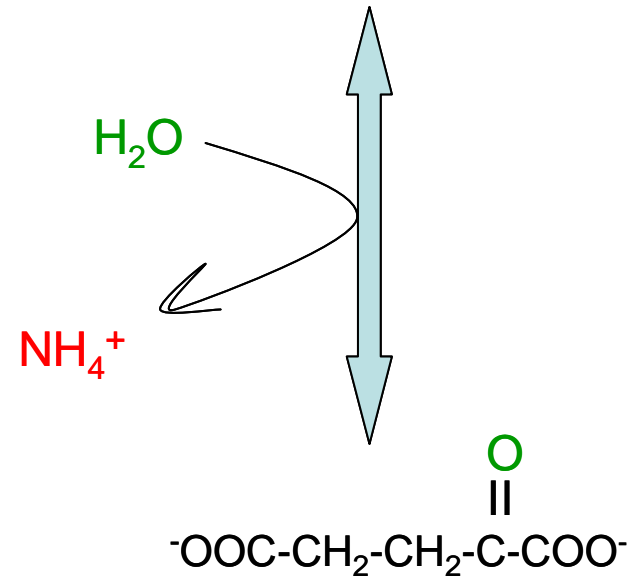
α - imminoglutarato

Deaminazione ossidativa catalizzata dall'enzima glutammato deidrogenasi

- 1) Questa reazione avviene all'interno dei mitocondri
- 2) Quasi tutta l'ammoniaca che si forma nell'organismo viene prodotta in questa reazione
- 3) L'enzima è regolato allostericamente:

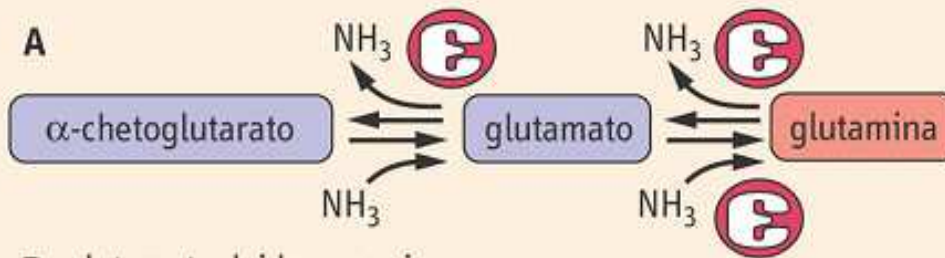
(+) ADP GDP

(-) ATP GTP



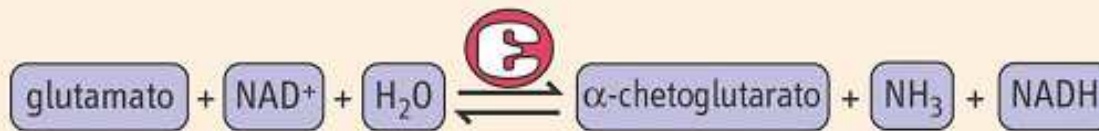
α -chetoglutarato
(che entra nel ciclo di Krebs)

Correlazioni tra glutamato, glutamina e α -chetoglutarato



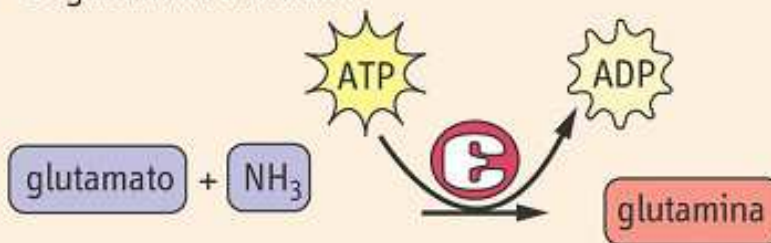
3 forme dello stesso scheletro carbonioso

B glutamato deidrogenasi



reazione importante:
1. per la sintesi dell'urea
2. per l' α -chetoglutarato libero che si forma.

C glutamina sintetasi



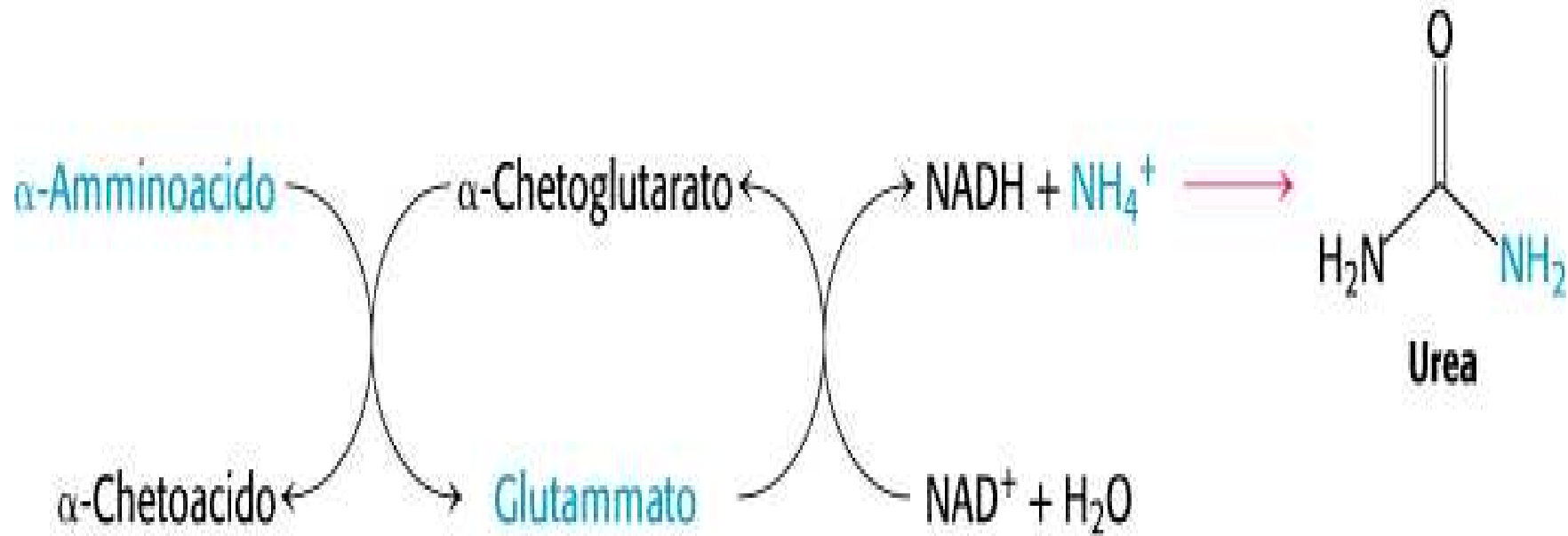
La glutamina rappresenta un sistema tampone che contrasta l'innalzamento della concentrazione di ammoniaca libera

D glutaminasi



reazione molto importante nel rene per il controllo del pH: l'ammoniaca diffonde attraverso le cellule del tubulo distale renale e nel lume intrappola gli ioni H^+ formando 33 ione NH_4 che è escreto con le urine.

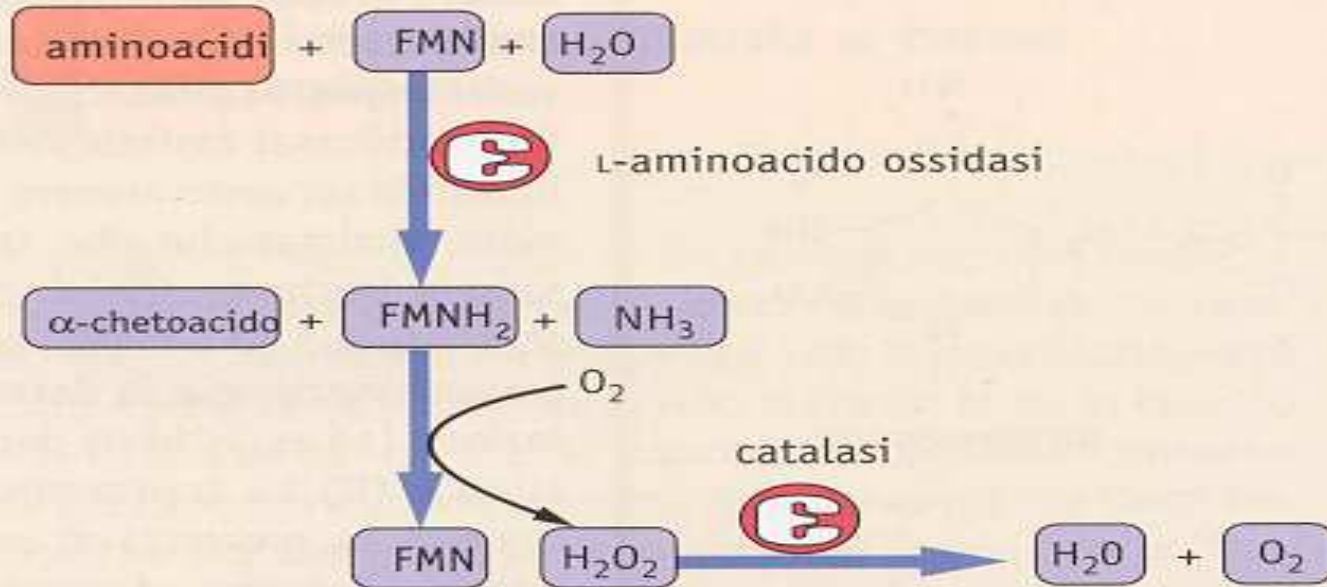
TRANSDEAMINAZIONE



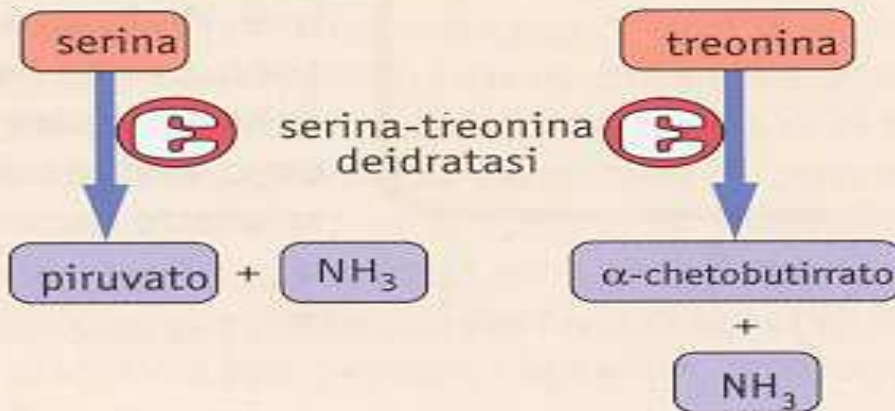
L'accoppiamento della transaminazione con la deaminazione del glutammato costituisce il processo della transdeaminazione

La deaminazione degli aminoacidi

A deaminazione ossidativa



B deaminazione non-ossidativa



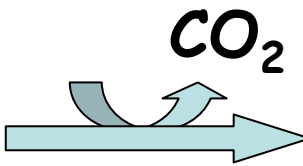
DECARBOSSILAZIONE

- Terza via del catabolismo degli amminoacidi che porta alla formazione delle corrispondenti ammine

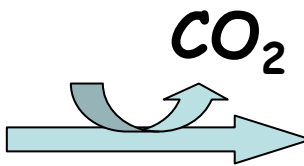
Le decarbossilasi sono enzimi piridossalfosfato-dipendenti

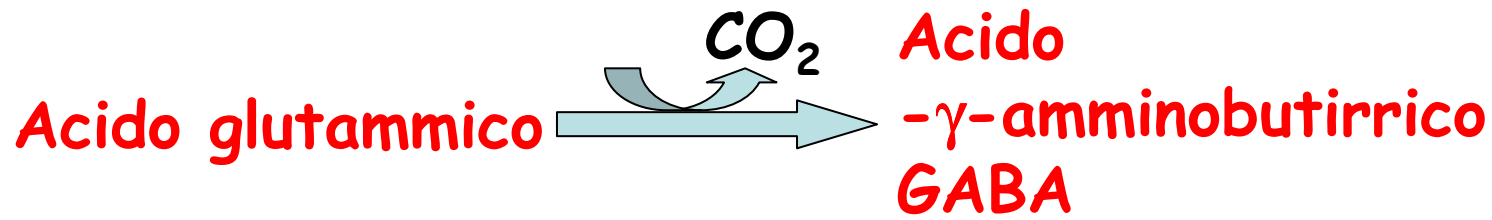
AMMINE BIOGENE

istidina  istamina *vasodilatatore, stimolante dell'attività gastrica*

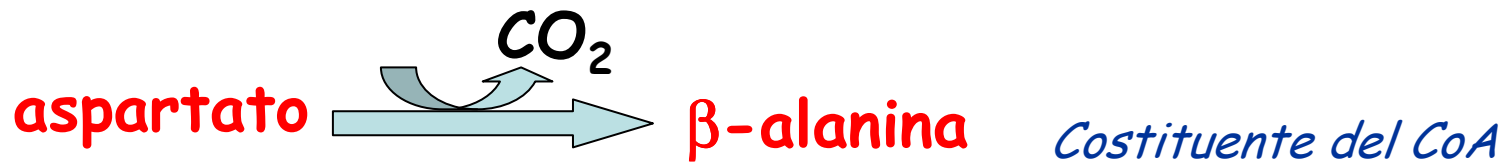
5-idrossitriptofano  serotonina *Potente vasocostrittore, neurotrasmettitore*

tirosina  tiramina *Agente ipertensivo*

3,4-diidrossifenilalanina  dopamina *Intermedio della sintesi dell'adrenalina*

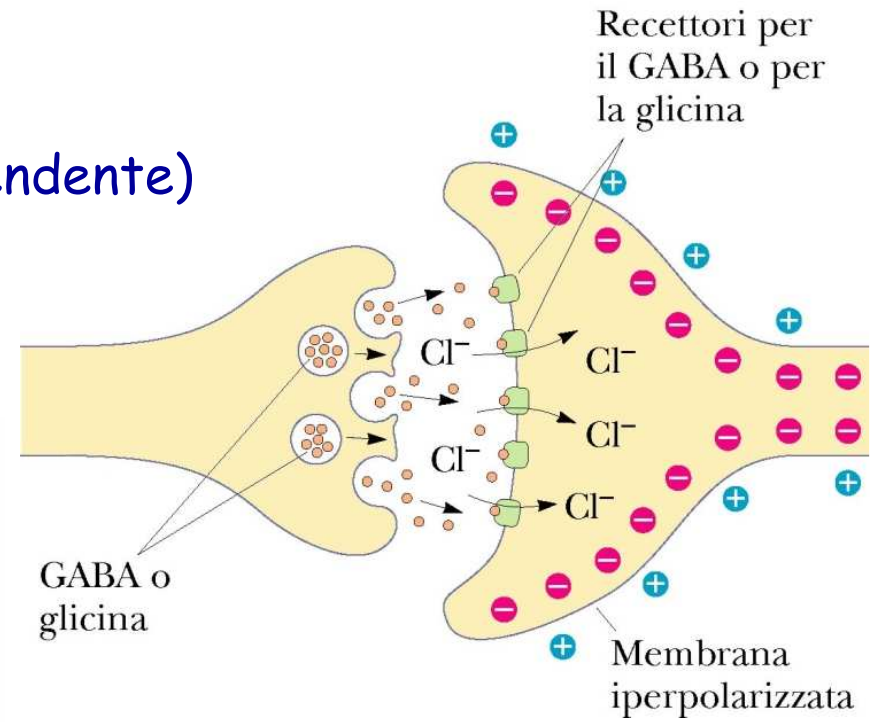
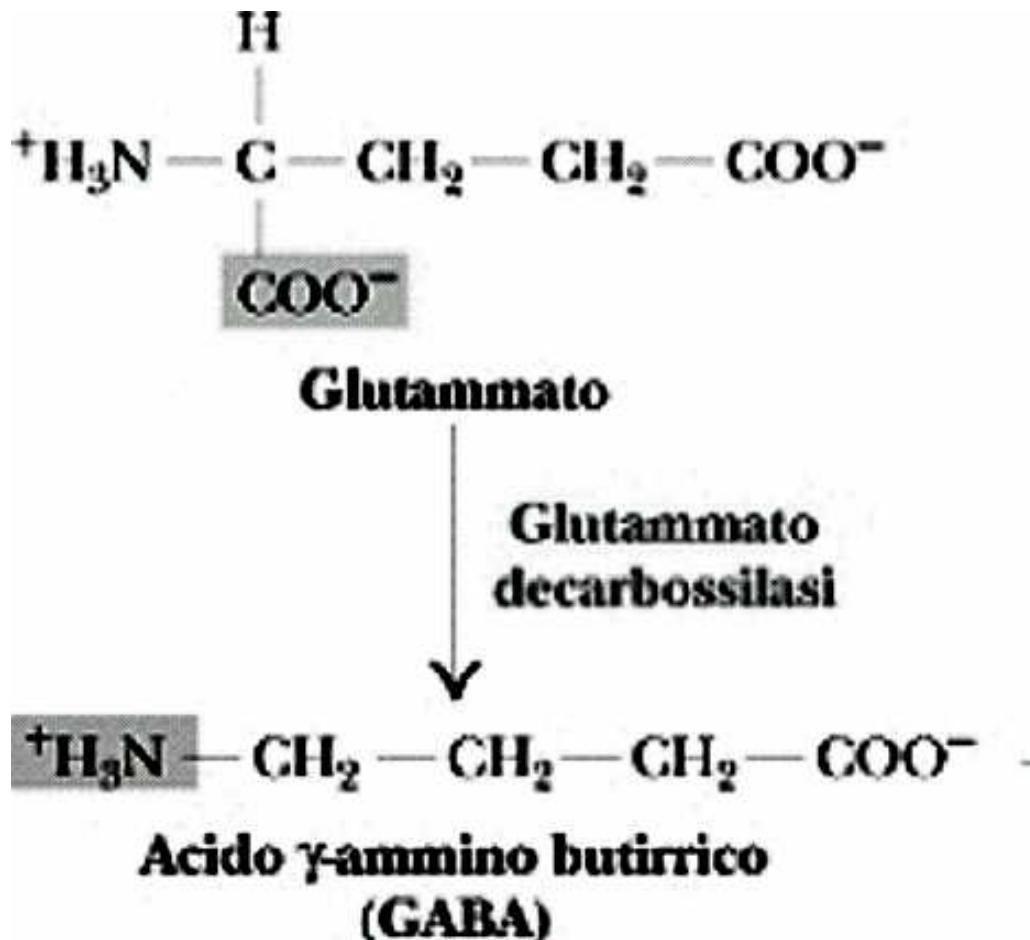


Composto che svolge importanti funzioni a livello cerebrale

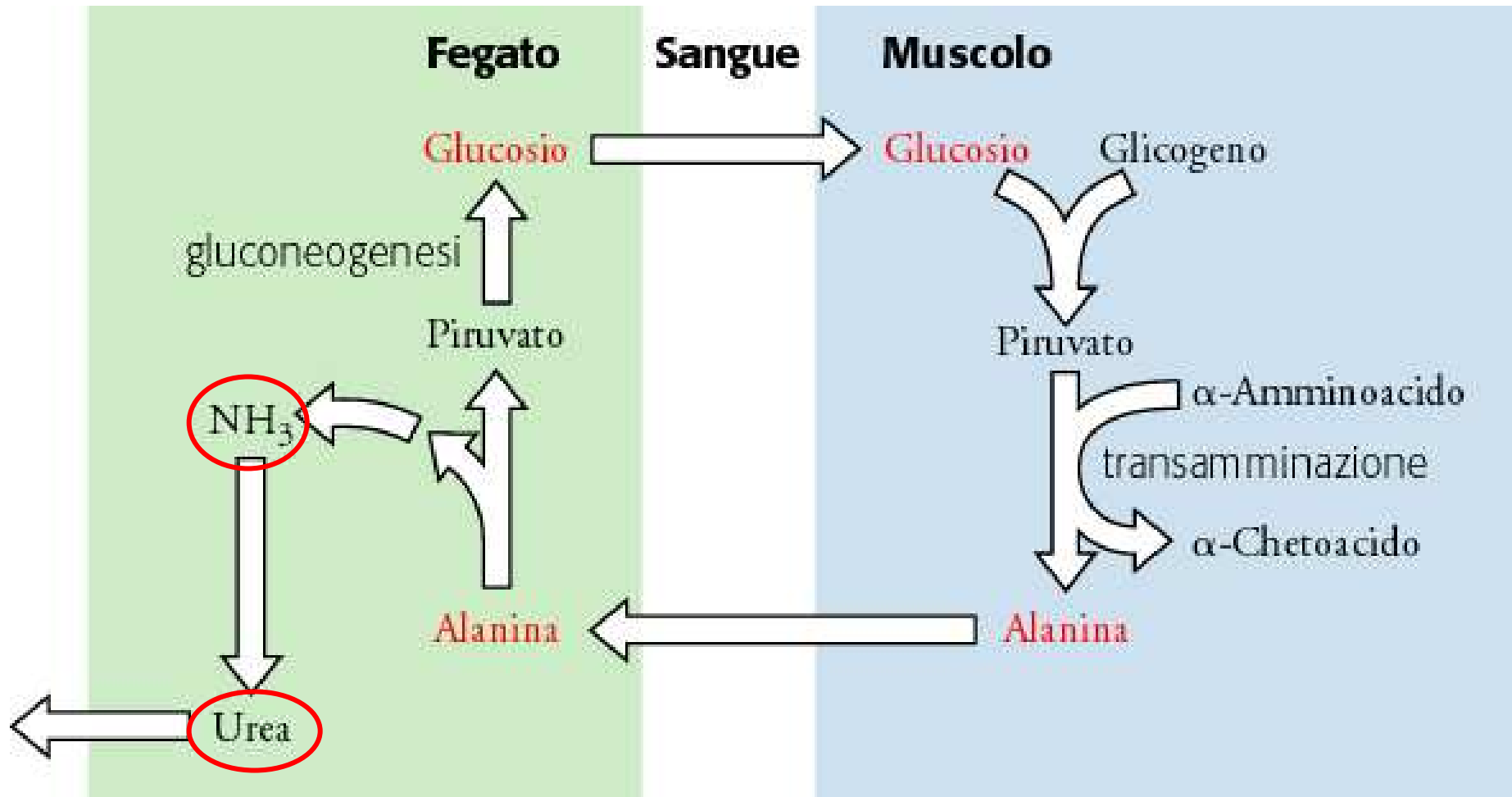


La decarbossilazione della **lisina** e della **ornitina** porta alla formazione delle diammine **cadaverina** e **putrescina**

Decarbossilazione (piridossalfosfato dipendente)
dell'acido glutammico:



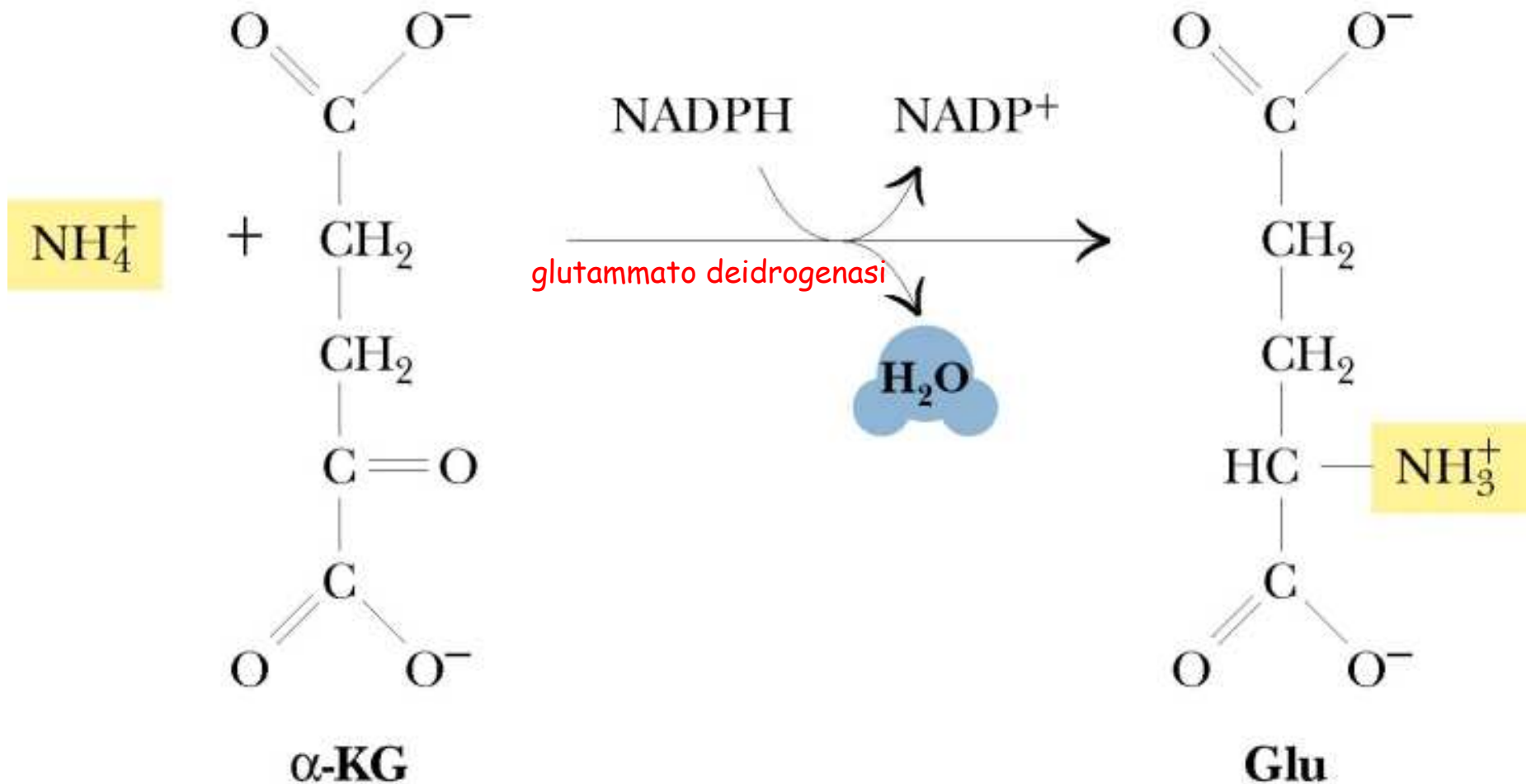
I TESSUTI PERIFERICI TRASPORTANO AZOTO AL FEGATO AL FEGATO



Esistono tre processi di incorporazione dell' NH_3 :

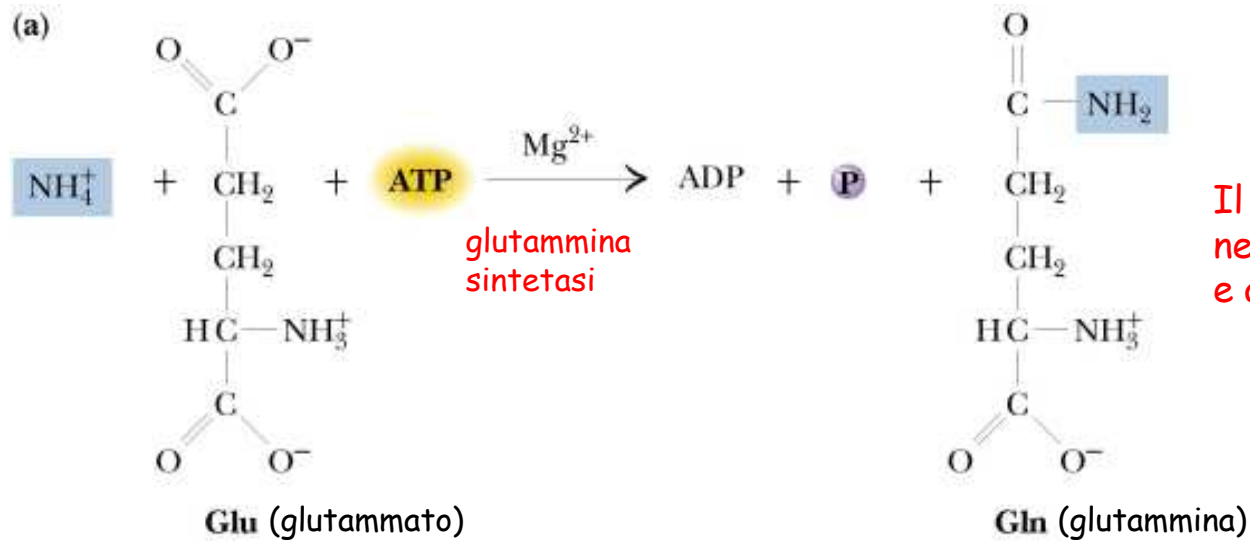
1. Sintesi del glutammato
2. Sintesi della glutammina
3. Sintesi del carbamilfosfato

1. Sintesi del glutammato (amminazione riduttiva dell' α -chetogutarato)

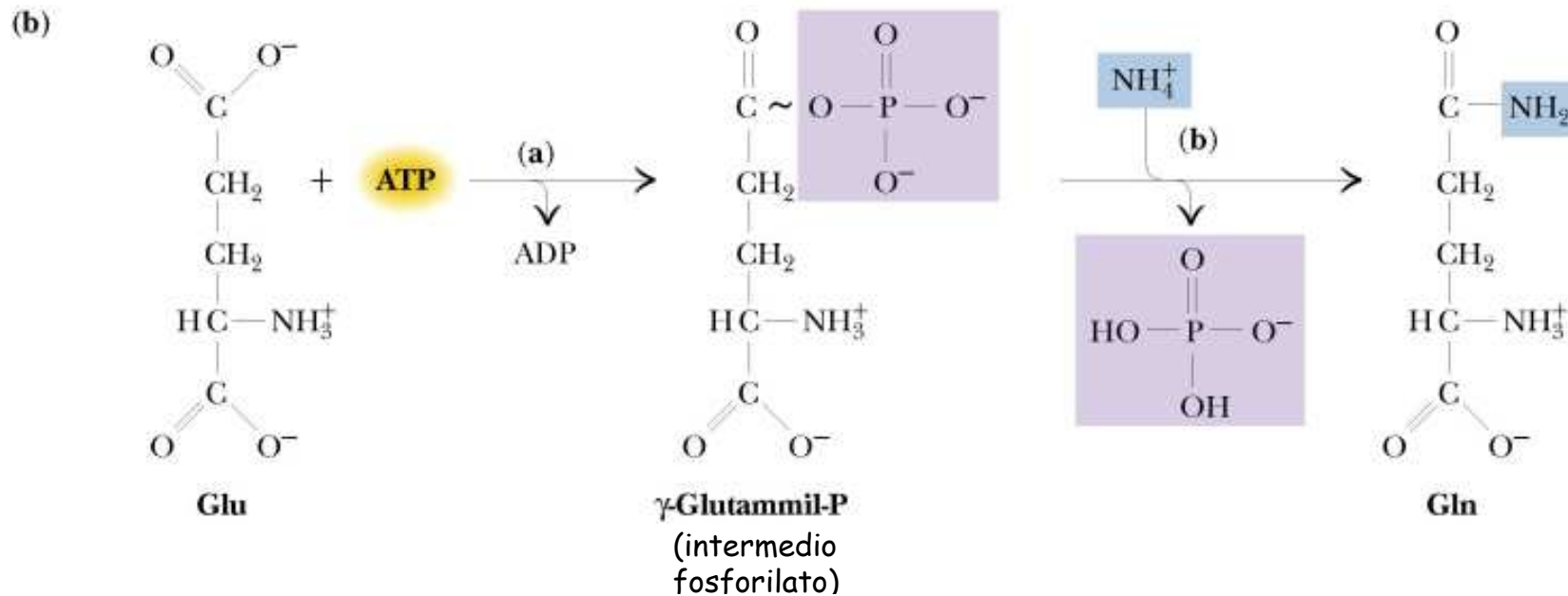


Questa reazione è un importante PUNTO DI INCONTRO tra il METABOLISMO DELL'AZOTO E IL METABOLISMO ENERGETICO, essendo l' α -chetogutarato un intermedio del ciclo dell'acido citrico.

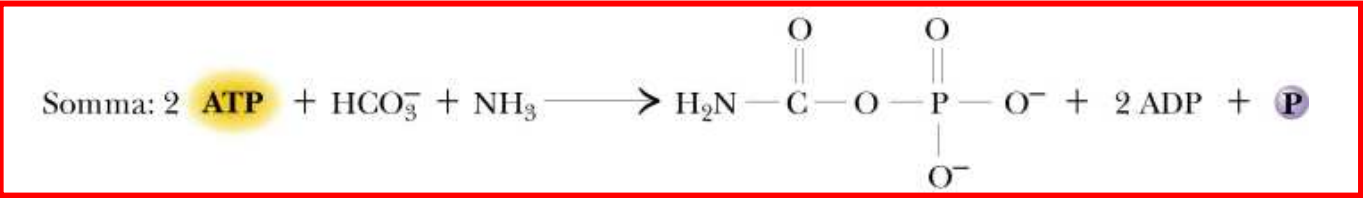
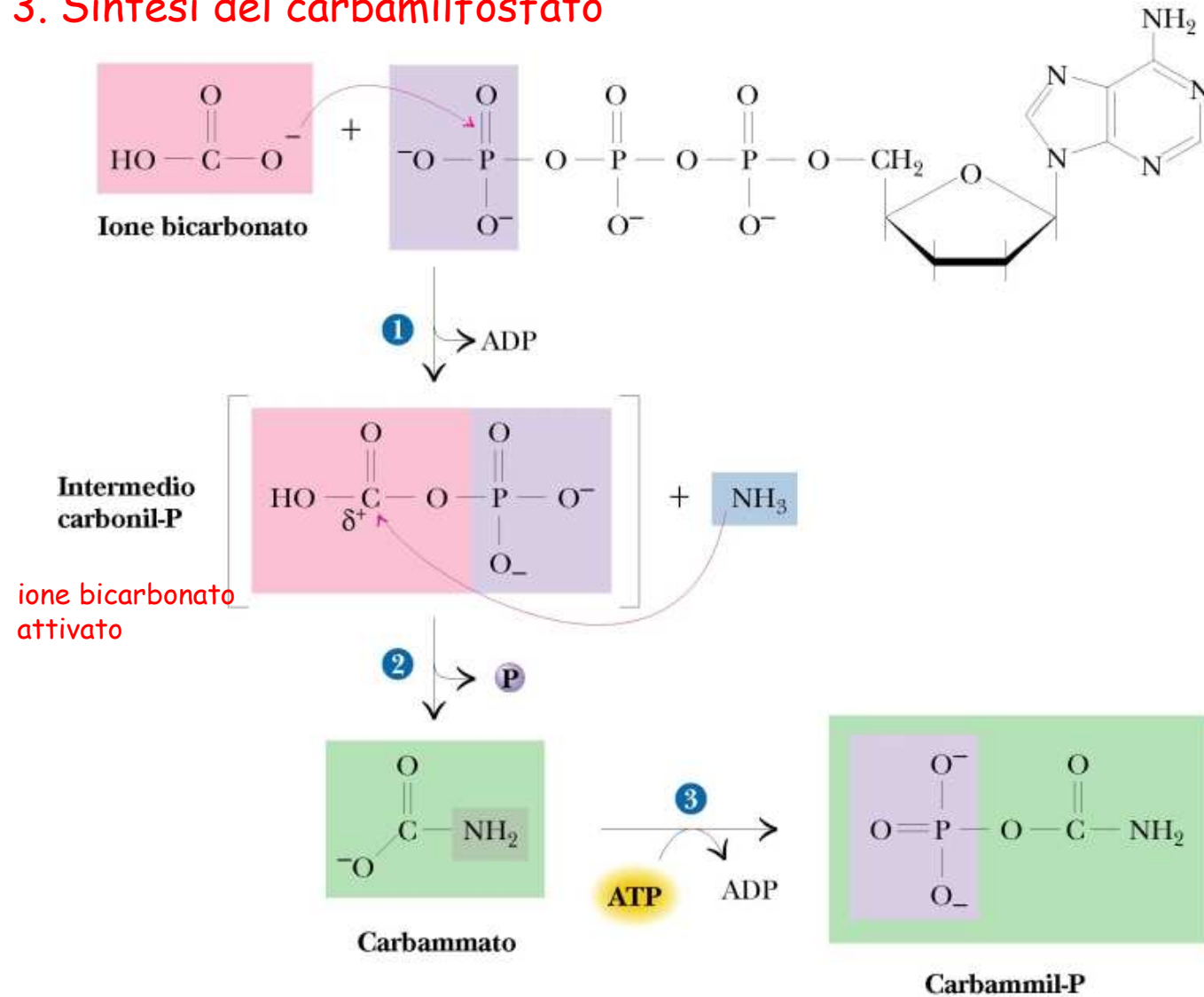
2. Sintesi della glutammina



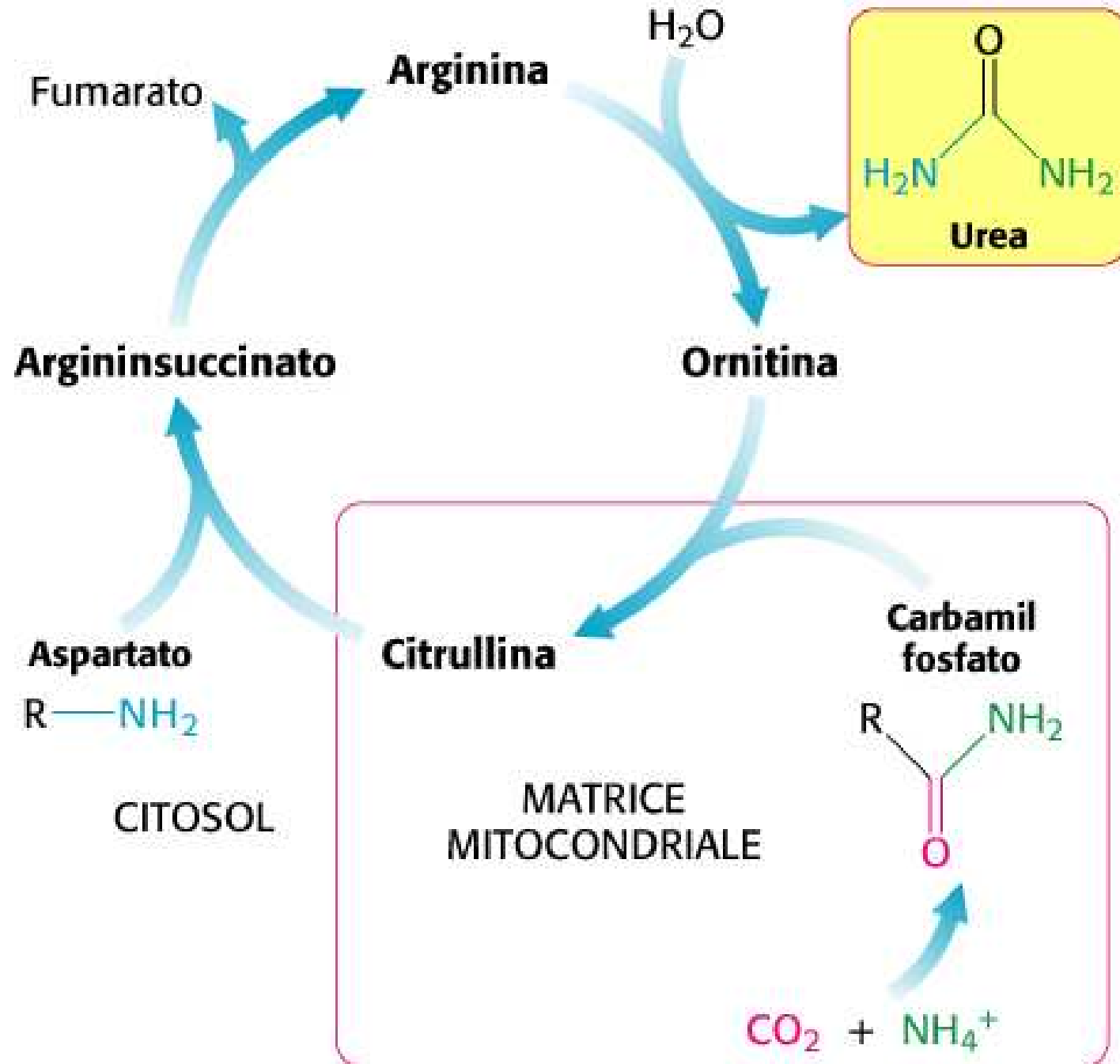
Il più importante donatore di N
nella biosintesi di purine, pirimidine
e amminoacidi

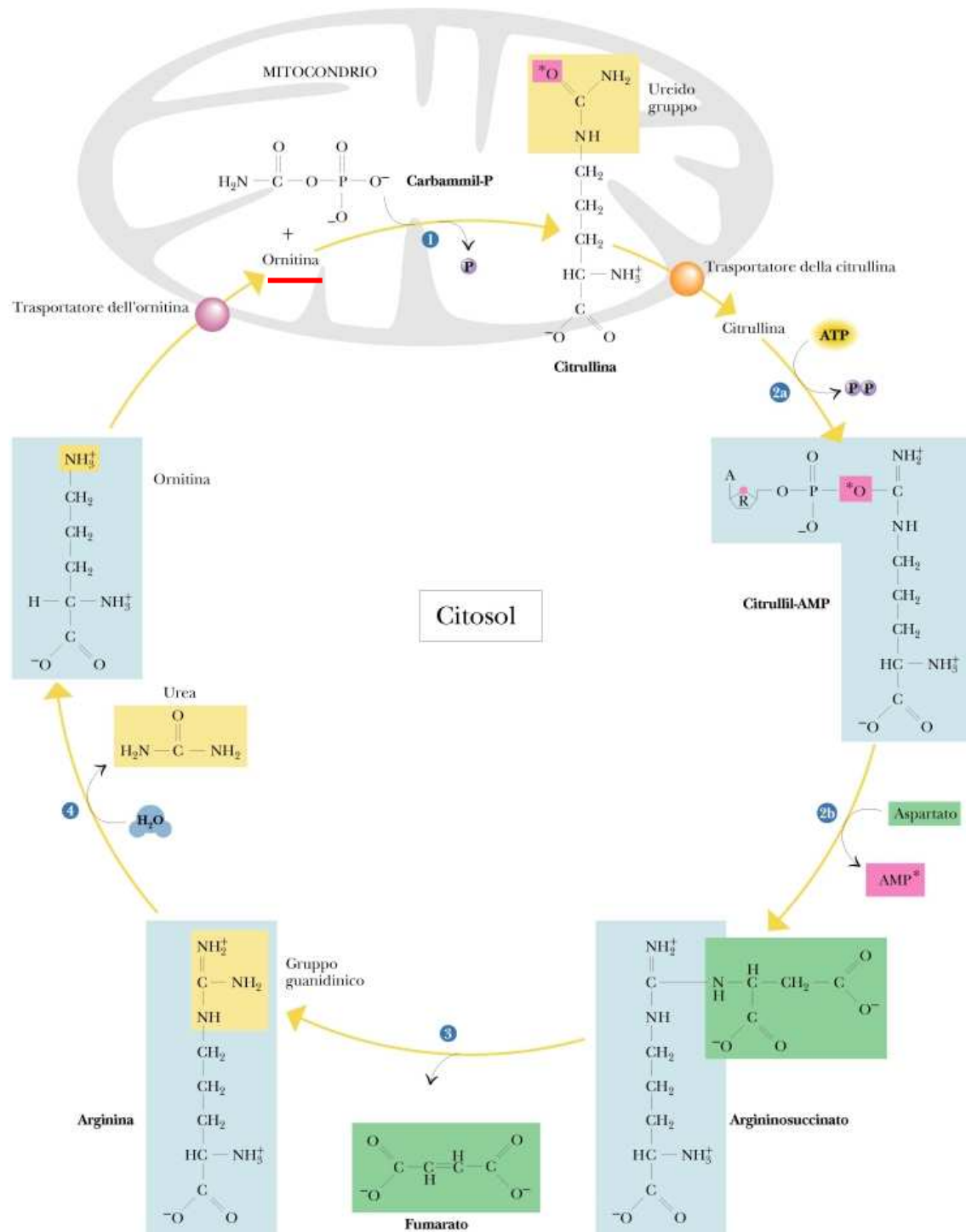


3. Sintesi del carbamilfosfato



Destino metabolico dell'ammoniaca



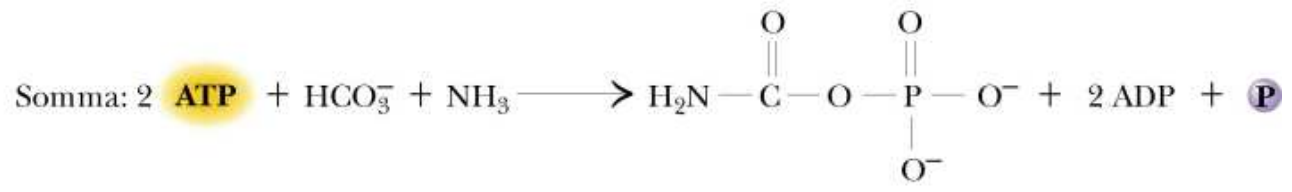
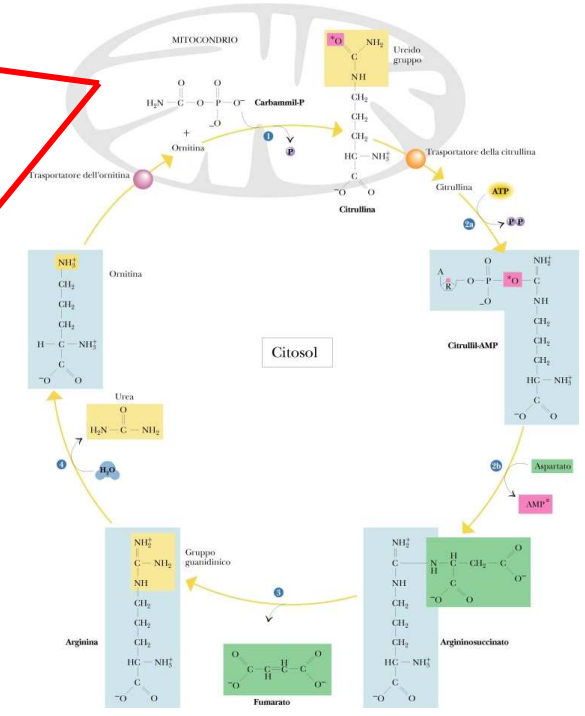
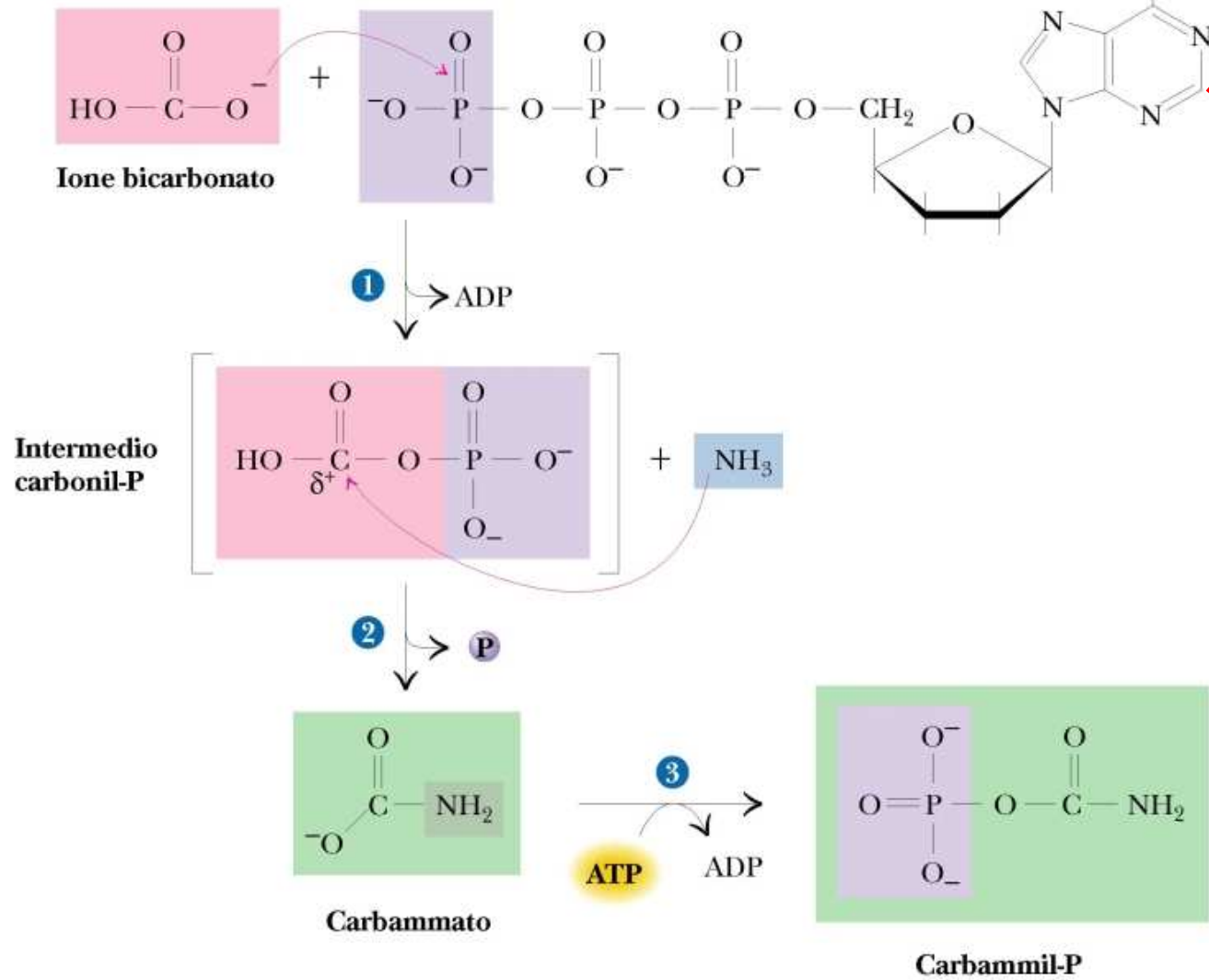


Il ciclo dell'urea

2 reazioni nel MT +
3 reazioni nel citosol

delle cellule epatiche

Sintesi del carbamilfosfato



Sintesi del carbamilfosfato

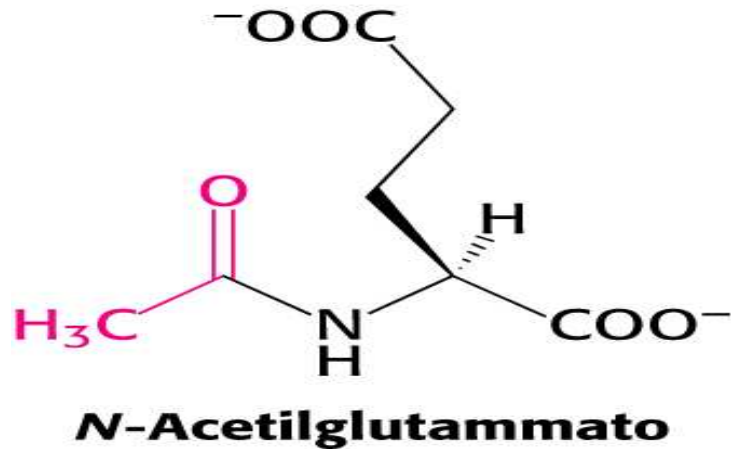


Carbamil fosfato sintetasi I (CPS I)

- enzima mitocondriale
- utilizza ammoniaca come donatote di azoto
- richiede N-acetil glutammato

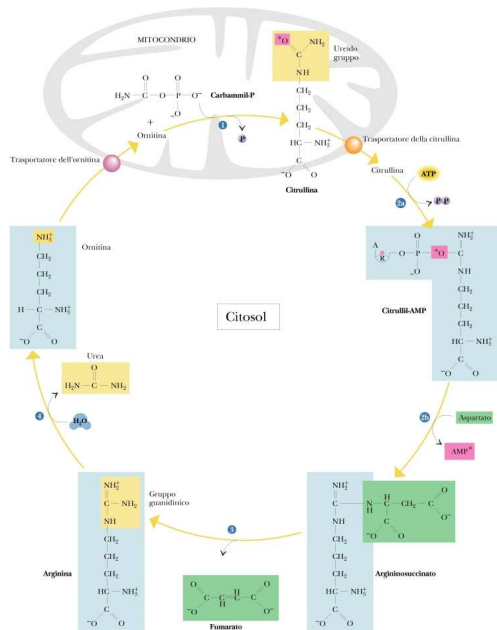
CPS II

- sintesi pirimidine
- enzima citosolico
- utilizza glutammina
- non necessita di N-acetil glutammato

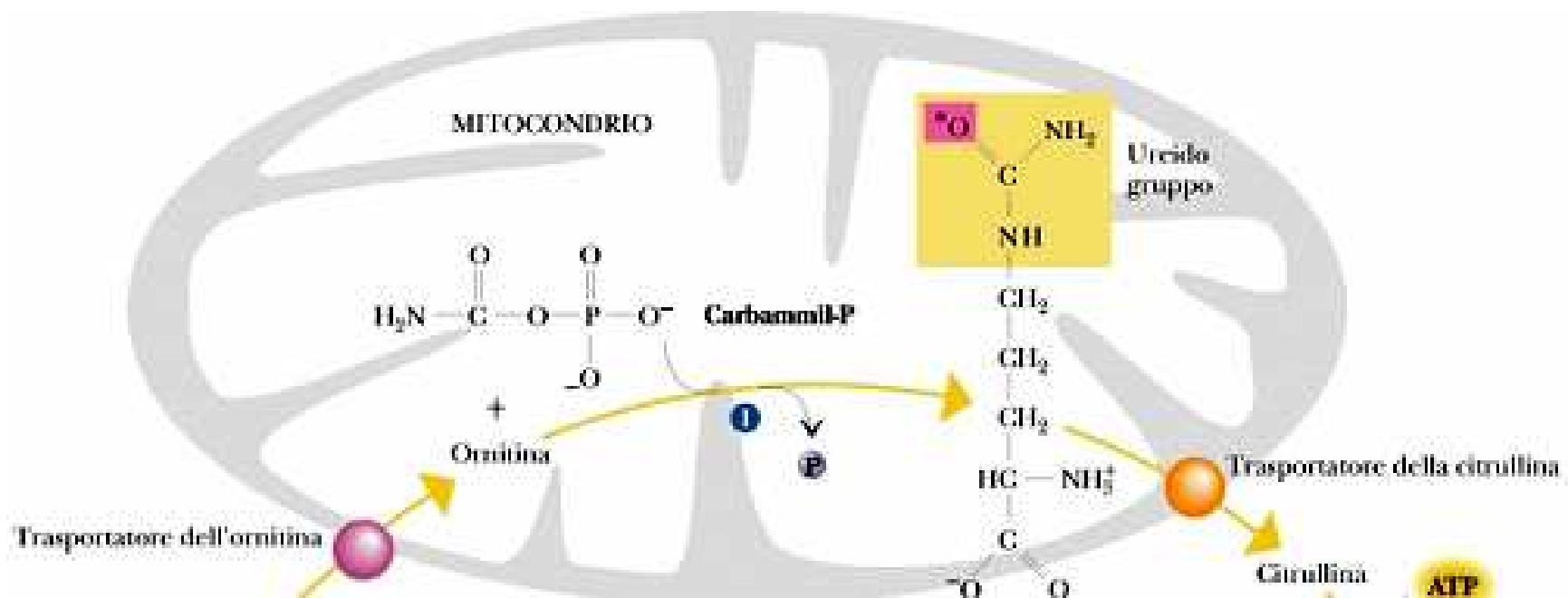


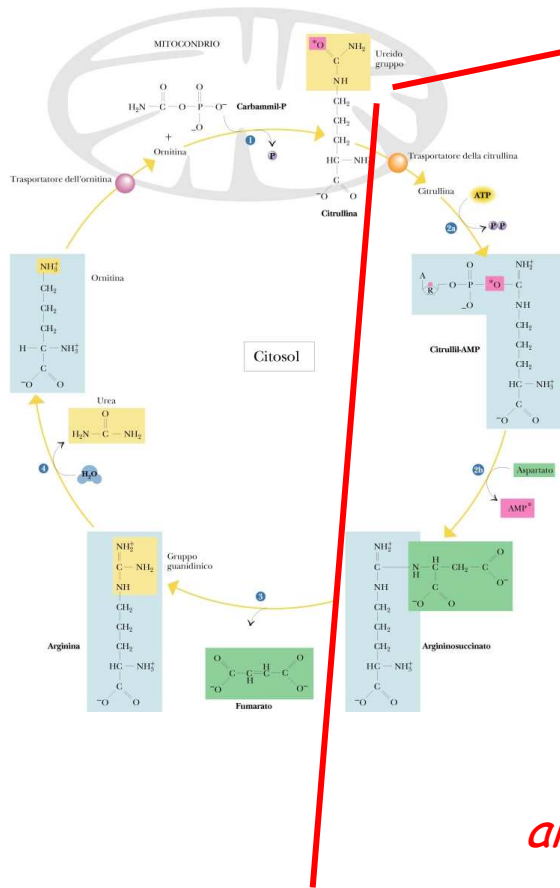
N-acetil-glutammato è l'attivatore allosterico della carbamil-fosfato sintetasi mitocondriale che utilizza come fonte di azoto l' NH_4^+ .

L' N-acetil-glutammato si forma dall' acetil-CoA+ glutammato reazione sulla quale l' ARGININA esercita un controllo positivo



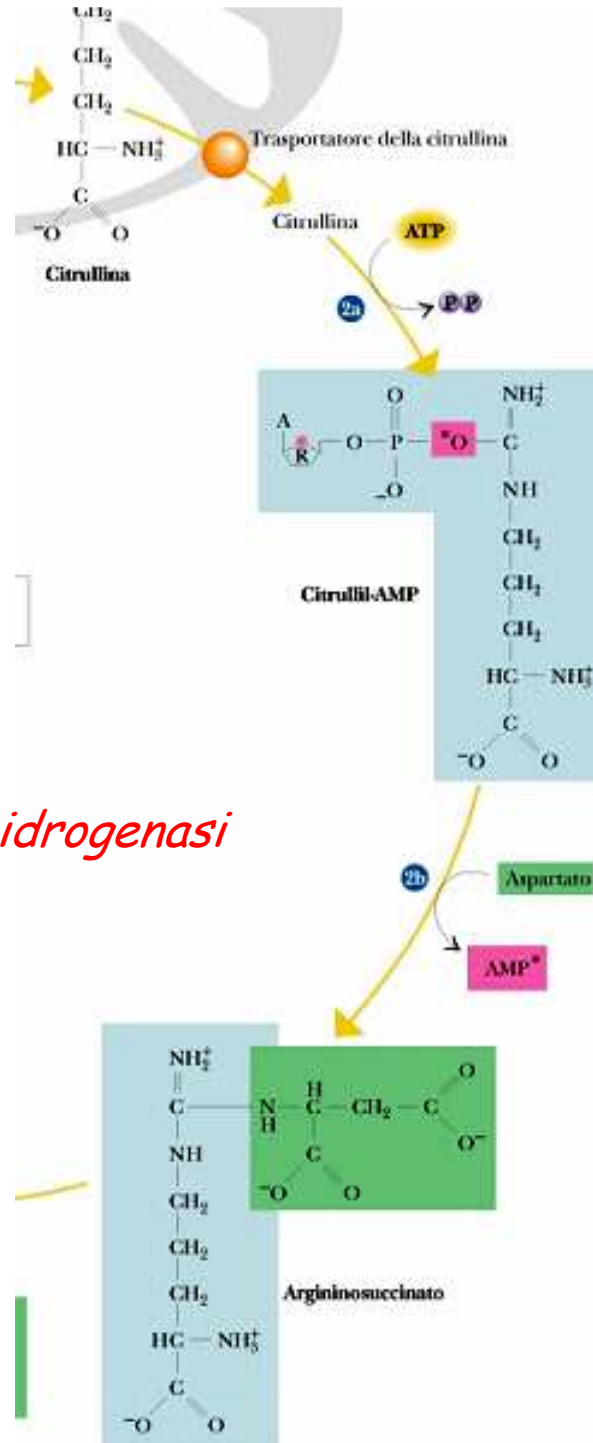
Il carbamilfosfato reagisce con l'ornitina per formare citrullina. La reazione è catalizzata dalla ornitina carbamil trasferasi (OCT)

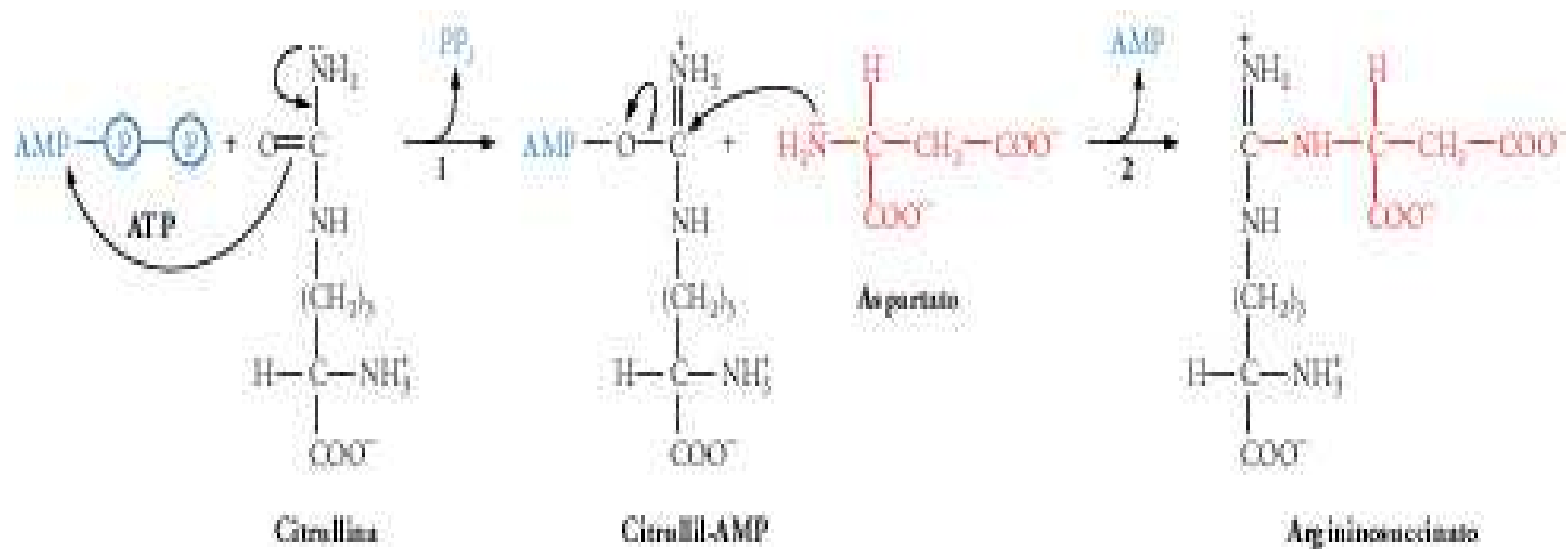




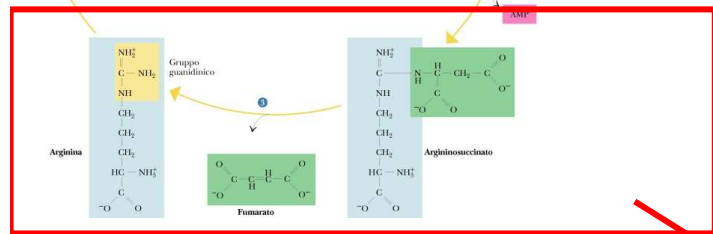
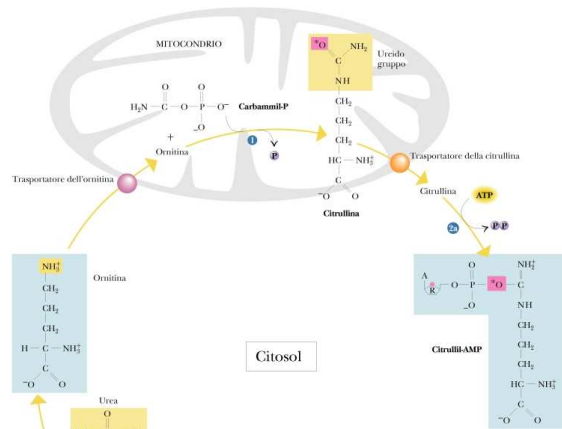
argininosuccinato deidrogenasi

In questa reazione viene introdotto il secondo atomo di azoto che si ritroverà nella molecola di urea

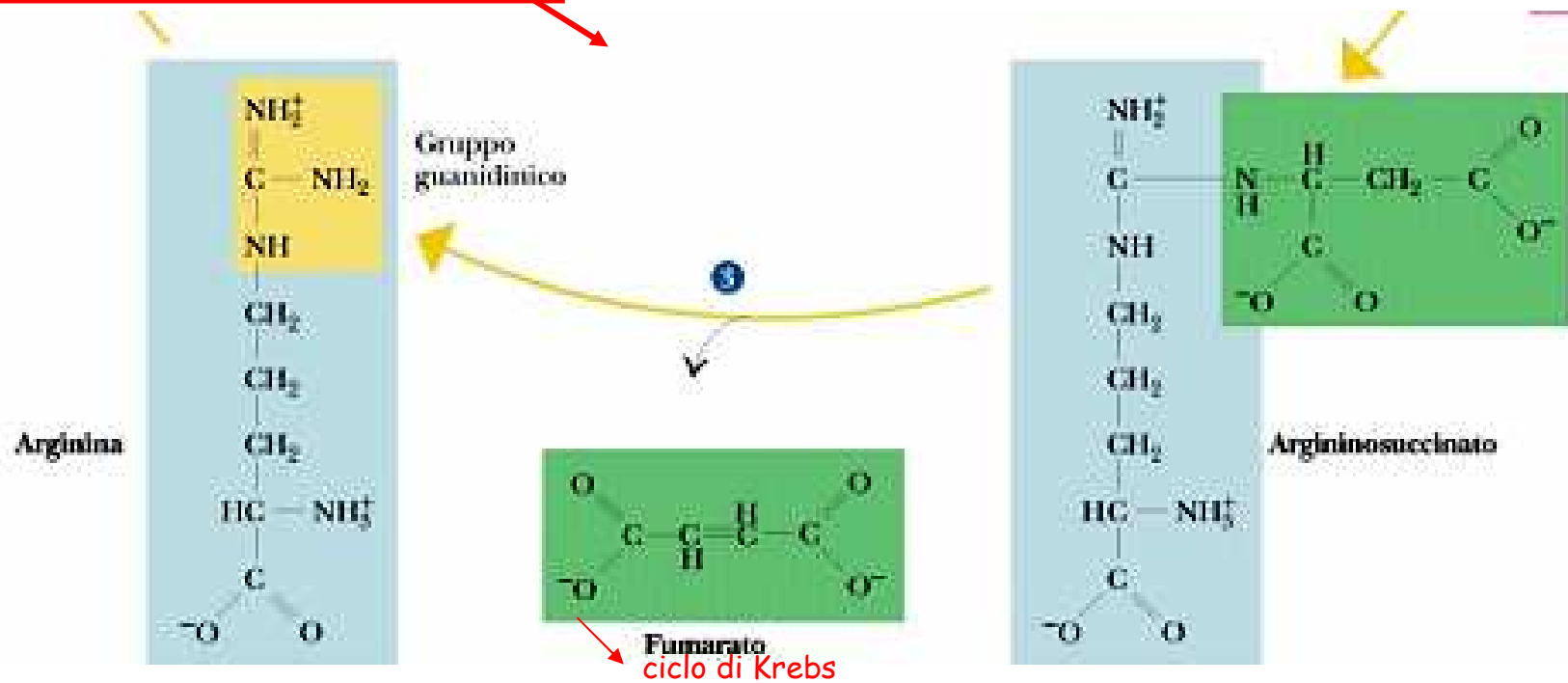


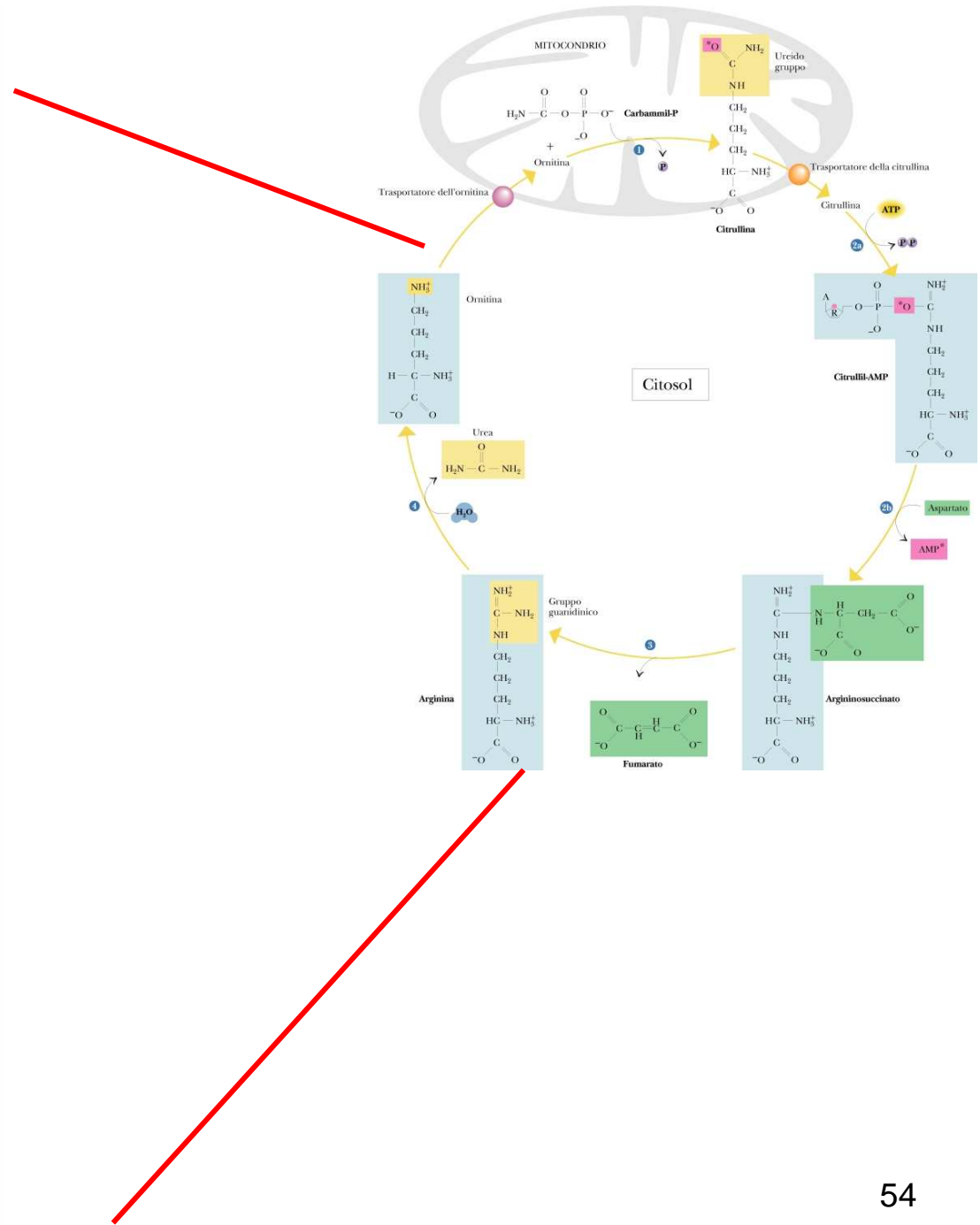
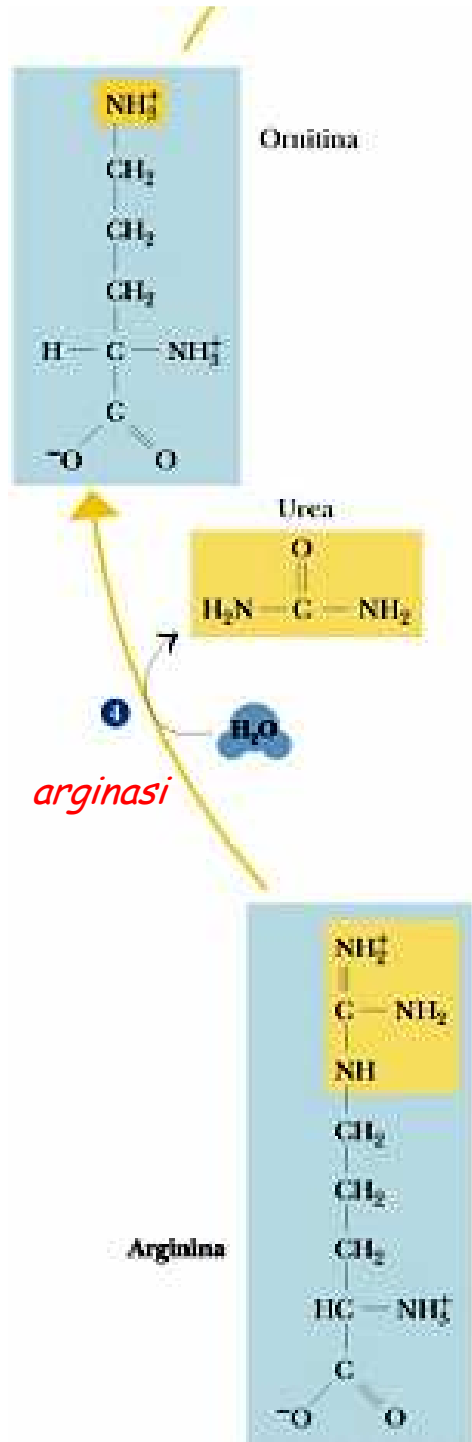


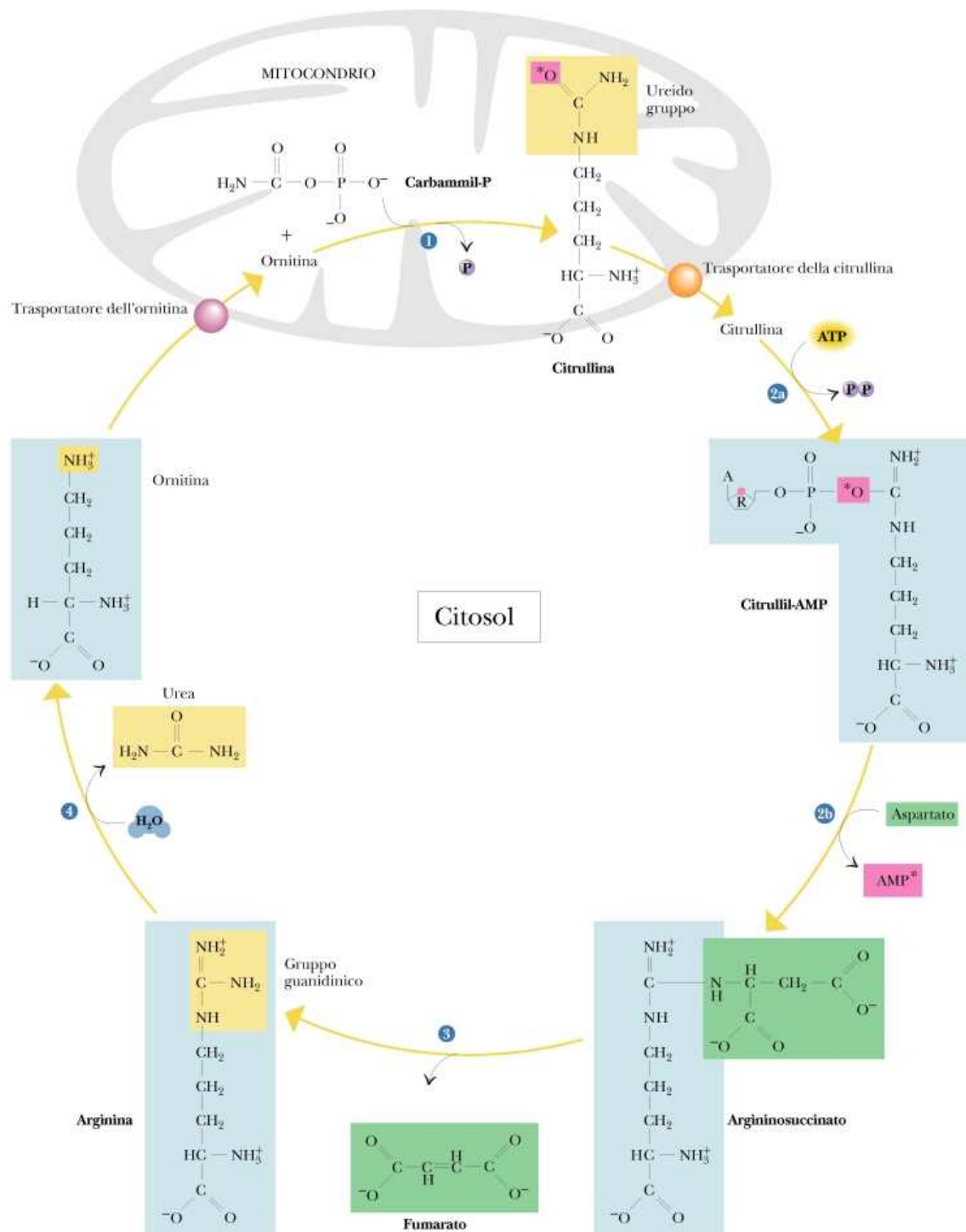
Meccanismo d'azione della arginosuccinato sintetasi



argininosuccinato liasi







Quantità di urea eliminata con le urine:

10-25g/die

Concentrazione di urea nel sangue:

5-14mg/100ml

Concentrazione di ammoniaca nel sangue:

0.1mg/100ml

Encefalopatia da ammoniaca: un'alta concentrazione di ammoniaca stimola la sintesi di glutammato dall' α -chetoglutarato: la concentrazione di quest'ultimo nelle cellule del sistema nervoso centrale può venir meno con conseguente inibizione del ciclo di Krebs e della produzione di ATP.

Disturbi del comportamento in soggetti con ammoniemia elevata: il glutammato (neurotrasmettitore inibitorio) o il GABA (suo derivato) agiscono sul SNC.

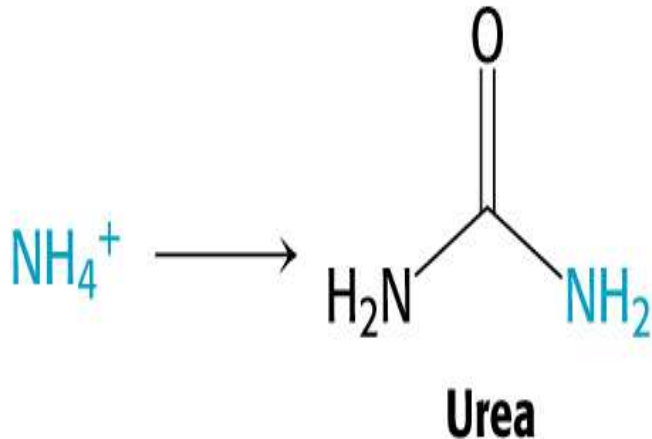
DA RICORDARE



ione ammonio

ANIMALI AMMONIOTELICI

la maggior parte dei vertebrati acquatici



ANIMALI UREOTELICI
molti vertebrati terrestri
compreso l'uomo

Acido urico

ANIMALI URICOTELICI
uccelli e rettili

LEGGE DELL' ARGINASI

“ L'ENZIMA ARGINASI E' PRESENTE NEL FEGATO DEGLI ORGANISMI A RICAMBIO UREOTELICO, IVI COMPRESO L'UOMO, E' SCARSAMENTE PRESENTE O ASSENTE NEL FEGATO DEGLI ORGANISMI A RICAMBIO URICOTELICO (uccelli e rettili)”.

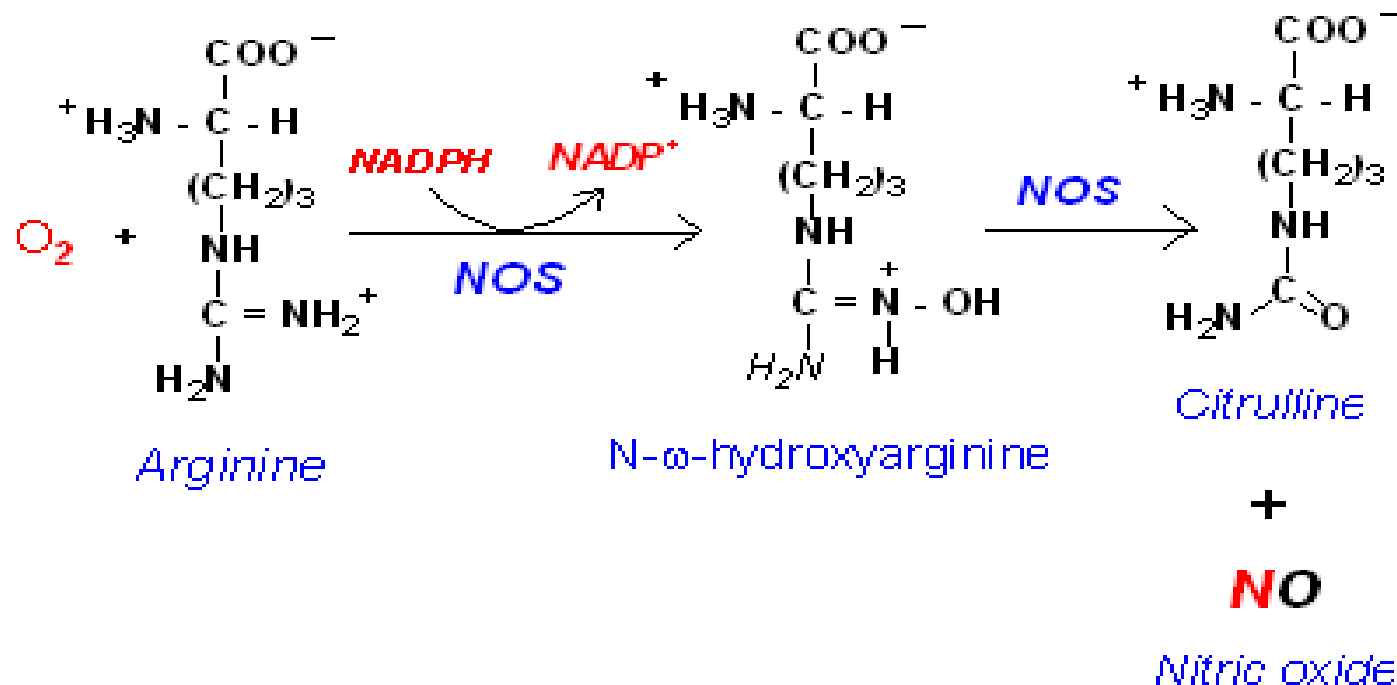
Prof. Clementi (1913)

Nel 1932: Premio Nobel a Krebs per il ciclo dell'urea

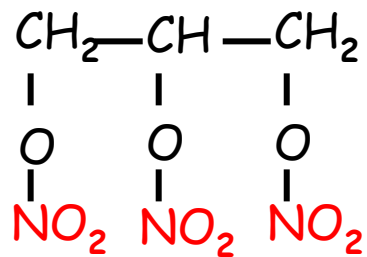
Nel 1998: Premio Nobel al prof Ignarro per la sintesi dell'ossido nitrico.

L'arginina è il precursore dell'ossido nitrico

Nitric Oxide Synthesis from Arginine



È un importante messaggero di molti processi di trasduzione del segnale si lega e attiva la guanilato ciclasi solubile



Nitroglicerina

L'NO è un vasodilatatore prodotto dalle **cellule endoteliali** in risposta ad una grande varietà di agenti

L'NO prodotto dai **neuroni** causa la dilatazione delle arterie cerebrali

NO prodotto dai **leucociti** si combina con il superossido per produrre il radicale ossidrilico, fortemente reattivo, che uccide i batteri invasori.

Regulation of the Urea Cycle

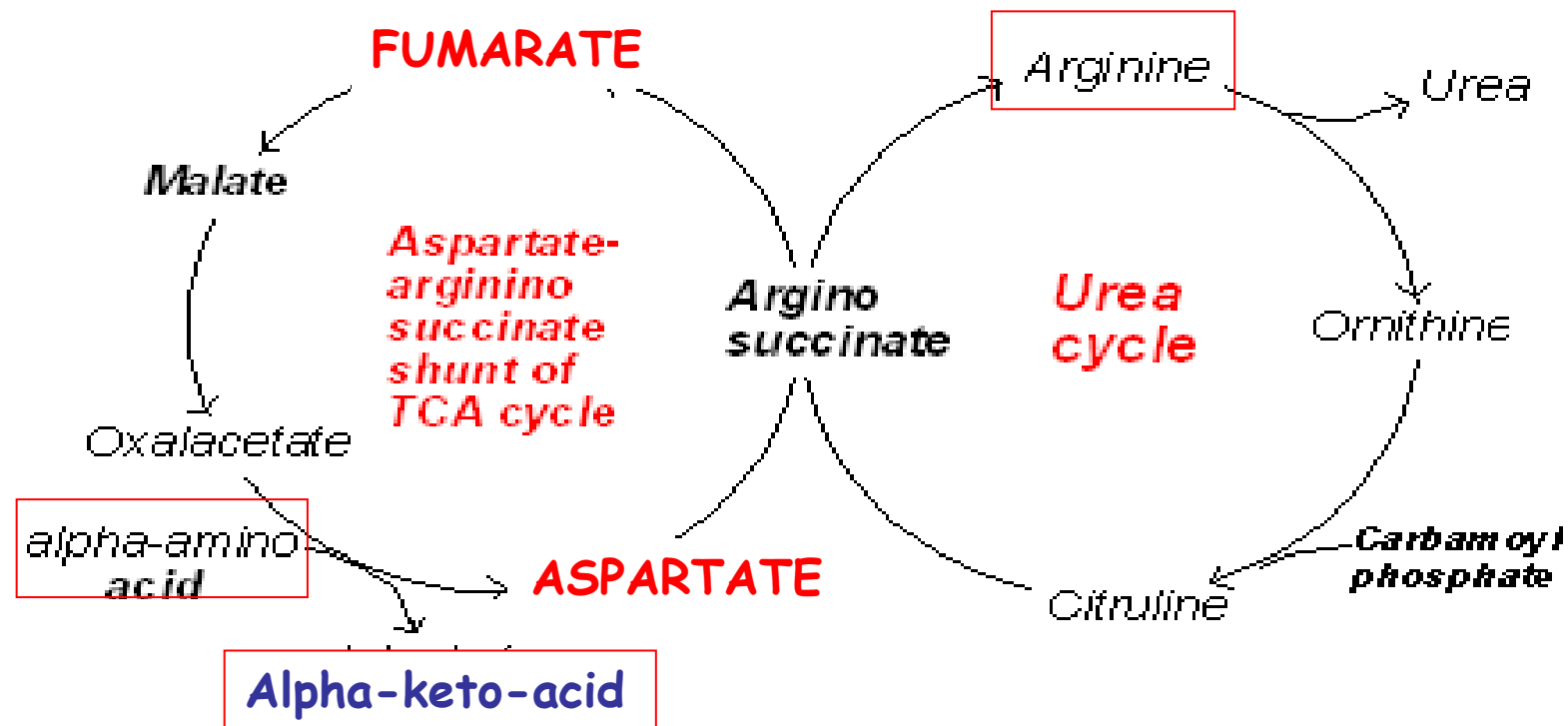
Short-term

allosteric activation of mitochondrial carbamoyl phosphate synthetase by N-acetyl glutamate. Increased arginine concentrations will stimulate the formation of N-acetyl glutamate from glutamate and acetyl CoA.

Long-term

A high protein diet will induce higher levels of urea cycle enzymes and amino transferases, etc. A low protein diet has the opposite effect.

The Relationship of the Urea Cycle to the TCA Cycle



Il ciclo dell'urea e quello dell'acido citrico e la transaminazione dell'ossalacetato sono collegati tra loro mediante il fumarato e l' aspartato

Carenza degli enzimi del ciclo dell'urea

i neonati con un difetto in uno dei primi 4 enzimi del ciclo sembrano normali alla nascita ma presto diventano letargici, ipotermici e manifestano problemi respiratori. Segue edema cerebrale, coma e morte.

Una carenza di arginasi (ultimo enzima del ciclo) provoca sintomi meno gravi. I soggetti interessati devono essere sottoposti a emodialisi cui si associa un trattamento con sodio benzoato e fenil lattato per via endovenosa; queste sostanze si condensano con la glutamina formando composti solubili che sequestrano l'ammoniaca in una forma atossica che può essere eliminata con le urine.