

LEZIONE 16 DI BIOCHIMICA

Sbobbatori: Anita Raponi, Amedeo Rogato

Argomenti: ciclo dell'urea, degradazione proteica, Celiachia

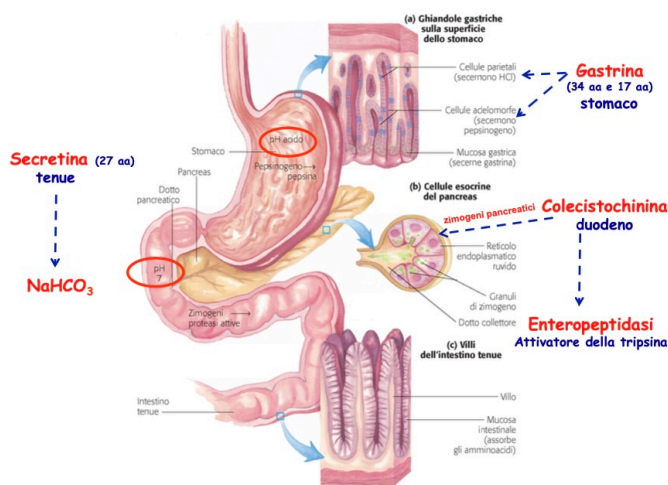
Nel nostro organismo, vi è una continua degradazione delle proteine.

Vi è una degradazione dovuta alle proteine "alimentari", le quali vengono tutte degradate perché il nostro organismo non può utilizzarle. Questa degradazione determina la frammentazione delle proteine in amminoacidi, perché gli amminoacidi (anche provenienti da proteine esterne) possono essere utilizzati dal nostro organismo anche per sintesi di nuove proteine.

Esiste poi il **turnover** delle proteine, ovvero, avendo esse un'emivita all'interno delle cellule, vengono continuamente sintetizzate e degradate.

Vi è una degradazione di proteine anche in particolari stati fisiologici:

- Durante il **digiuno prolungato**-> avviene una degradazione delle proteine (e successivamente degli amminoacidi) per estrarre energia;
- In caso di **diabete non controllato**-> l'organismo "pensa" di essere in assenza di glucosio.



La **degradazione delle proteine alimentari** avviene inizialmente nello stomaco perché, al livello di quest'ultimo, viene secreto l'ormone **gastrina** che, a sua volta, induce la secrezione di **acido cloridrico** e **pepsinogeno**.

Il pH dello stomaco è particolarmente acido.

La secrezione dell'acido cloridrico da parte dello stomaco ha due funzioni:

- **Funzione Diretta** sulle degradazioni delle proteine-> quando si ha un ambiente particolarmente acido (pH=2 circa), il pH tende a rompere i ponti disolfuro delle proteine (i quali sono la tipologia di legame covalente più forte che esista all'interno di esse);
- **Funzione antibatterica**: a pH così estremi, eventuali batteri o microrganismi, che sono eventualmente presenti nel bolo alimentare, non sopravvivono (almeno la maggior parte).

DIGRESSIONE: affrontando la regolazione degli enzimi in generale, abbiamo visto che esiste una classe di enzimi (**zimogeni**) che vengono secreti in parte dallo stomaco ed in parte dal pancreas. Si tratta di enzimi proteolitici, ovvero, in grado di rompere il legame peptidico. Essi vengono secreti sotto forma di enzimi non attivi (per l'appunto gli **zimogeni**) che devono essere attivati tramite rimozione di una parte della proteina (unica attivazione irreversibile in un enzima).

Viene secreto dallo stomaco anche il **pepsinogeno**.

Il pepsinogeno è il precursore della **pepsina** che è l'enzima in grado di rompere i legami peptidici. I vari enzimi proteolitici sono specifici per determinate sequenze amminoacidiche (*da non sapere*); quindi ogni enzima "taglia" particolari legami peptidici per degradare la proteina.

Nello stomaco avviene solo la degradazione da parte della pepsina. Il bolo alimentare finisce, poi, nell'intestino, dove avviene la secrezione della **secretina** (un ormone) che a sua volta induce la secrezione del bicarbonato di sodio (**NaHCO₃**).

Il bicarbonato di sodio ha la funzione di riequilibrare il pH, quindi, tamponare l'acidità e portare il bolo alimentare da un pH acido ad uno neutro (PH tipico dell'intestino).

Inoltre, nell'intestino vengono riversati tutti una serie di zimogeni che provengono dal pancreas, il quale, attraverso la **colecistochinina**, induce la secrezione di zimogeni pancreatici. A livello del duodeno, viene secreta l' **enteropeptidasi**, uno dei precursori della **tripsina** (enzima proteolitico che guida l'attivazione di altri enzimi proteolitici).

In generale, la cascata enzimatica che porta all'attivazione dei vari enzimi proteolitici inizia con gli zimogeni che vengono attivati (grazie all'azione dell'enteropeptidasi).

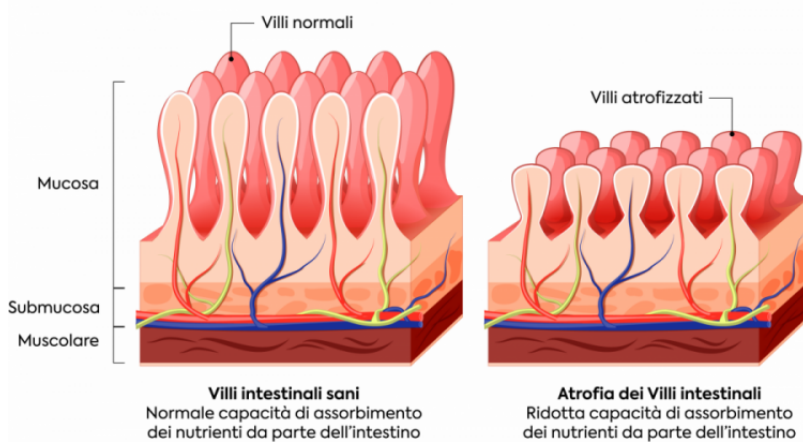
Il primo ad essere attivato sarà la **tripsina** (grazie all'enteropeptidasi), dopodiché la tripsina stessa, oltre ad avere un'autoproteolisi, è tra gli zimogeni che ne inducono la maturazione di altri.

Tutti gli zimogeni sono specifici per vari residui amminoacidici (quindi riconoscono determinati legami peptidici) ad eccezione delle **carbossipeptidasi** e delle **amminopeptidasi** che degradano il C-terminale o l' N- terminale della proteina in maniera aspecifica.

Grazie all'azione combinata di tutti questi enzimi, la proteina viene ridotta o in amminoacidi o in piccolissimi peptidi (di due o tre residui) che poi vengono riversati nel sangue.

Esistono al livello dell'enterocita (intestino) una serie di sistemi di trasporto specifici per i vari amminoacidi (in genere sono sodio- dipendenti), che fanno entrare gli amminoacidi nell'enterocita partendo dal lume intestinale (*esistono anche trasportatori specifici per piccole sequenze peptidiche*). Successivamente gli amminoacidi vengono riversati nei capillari sanguigni e vengono distribuiti a tutti gli organi.

CELIACHIA



Legata all'alimentazione proteica vi è una patologia che prende il nome di **Morbo Celiaco**. Esso è dovuto ad un'enteropatia indotta da glutine la quale causa una reazione al livello dei villi intestinali (è una proteina presente nei cereali, escluso il riso ndr.)

Il glutine viene degradato in **glutenina** e **gliadina**, la quale determina la tossicità del glutine (solo verso gli individui

celiaci ovviamente) perché si ha la formazione di un tetrapeptide composto da tre residui di glutammina e una prolina, che è l' **α -gliadina**.

Nel paziente affetto da celiachia si ha un'**atrofia dei villi intestinali**, una riduzione, quindi, della superficie di contatto, con conseguente diminuzione dell'assorbimento intestinale anche per gli altri alimenti. Questa patologia è dovuta alla **mancanza di una peptidasi** che dovrebbe degradare quel tetrapeptide. A questo si unisce un ridotto assorbimento dei grassi intestinali e delle vitamine **A, B, E e K**.

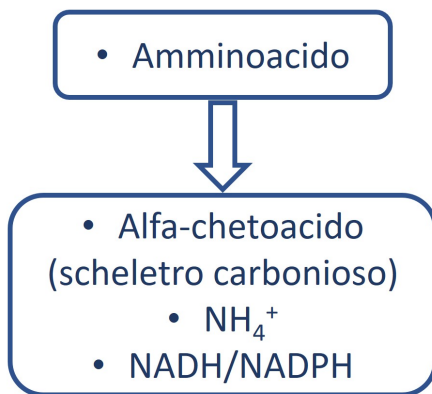
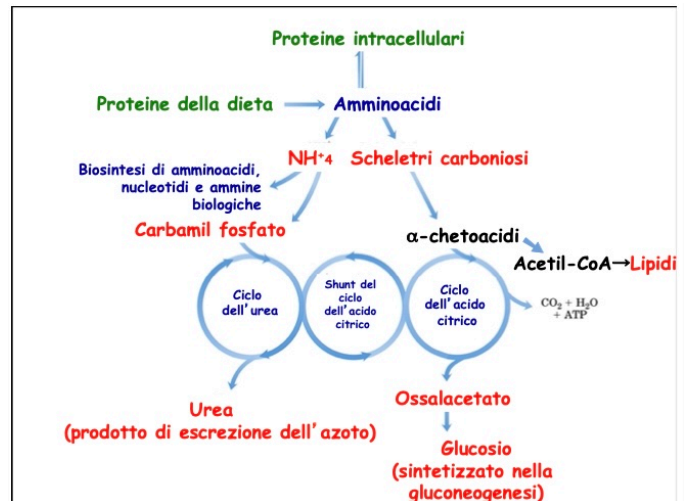
La Celiachia è probabilmente una malattia di origine **genetica**, scatenata anche da fattori **ambientali** ed è, di fatto, una malattia **autoimmune**. È, infatti, come se si scatenasse una risposta immunitaria contro i villi intestinali che ne determina la perdita.

I soggetti affetti da Celiachia si presentano pallidi. La diagnosi avviene, spesso, nei primi mesi di vita, allo svezzamento, quando si osserva una rallentata crescita (una specie di rachitismo), ed è quindi 'facilitato' l'intervento dei pediatri. Se non curata, la celiachia può causare fragilità ossea (a causa della carenza di vitamina D). L'assenza di vitamina K può invece portare a fenomeni emorragici.

La soluzione più semplice per poter trattare la celiachia è intervenire eliminando alimenti ricchi di glutine dalla dieta.

Degradazione proteica.

Sia le proteine alimentari che quelle intracellulari vengono degradate nei loro rispettivi amminoacidi, quindi, entrambi possono essere utilizzati per la sintesi di nuove proteine. Se, invece, gli amminoacidi fossero destinati alla degradazione, il primo passaggio è l'**allontanamento del gruppo amminico** dallo scheletro dell'amminoacido. Il prodotto di questo allontanamento sarà uno scheletro carbonioso (che è di fatto un α -amminoacido).



Abbiamo suddiviso gli amminoacidi in **chetogenetici e glucogenetici**. L' α -chetoacido può seguire o una via chetogenetica o una glucogenetica a seconda che dia un intermedio del ciclo di krebs o AcetilCoA.

Il gruppo amminico che viene allontanato dall'amminoacido è particolarmente prezioso per l'organismo umano per il **bilancio dell'azoto** e per la **sintesi di amminoacidi o ammine biologiche**. Un esempio di ammine biologiche sono le basi azotate fondamentali (ad esempio per la sintesi di DNA).

Se il gruppo amminico che viene allontanato dall'amminoacido è in eccesso (non serve quindi per altre sintesi) deve essere scartato dall'organismo. Vi è, dunque, la trasformazione del gruppo amminico in un composto (**Carboamil fosfato**) che, successivamente, entra nel ciclo dell'urea.

In questo ciclo avviene la produzione dell'urea e la successiva eliminazione di quest'ultima attraverso le urine (**escrezione dell'azoto tramite le urine**).

Il ciclo dell'urea e il ciclo dell'acido acetico sono strettamente correlati. Sono collegati in quanto hanno dei composti in comune (es fumarato, aspartato etc).

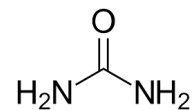
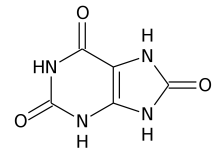
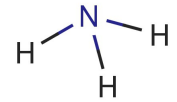
La sintesi dell'urea è una sintesi dispendiosa perché la presenza di ammoniaca (prodotta dalla degradazione degli amminoacidi) è altamente tossica, quindi, necessita di essere trasformata in un altro composto non dannoso.

Sotto questo punto di vista gli organismi si dividono in tre grandi categorie a seconda della modalità con la quale viene allontanata l'ammoniaca che deve essere eliminata.

Si devono tener conto due fattori: il dispendio energetico e l'ambiente in cui l'organismo vive.

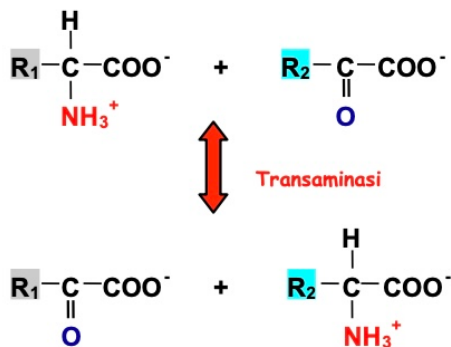
Vi sono:

- **Ammoniotelici**-> gli unici organismi in grado di espellere l'ammoniaca come tale. Sono organismi che vivono in ambienti particolarmente acquosi (pesci e invertebrati);
- **Uricotelici**-> l'ammoniaca viene trasformata in **acido urico**. La sintesi dell'acido urico è particolarmente dispendiosa rispetto a quella dell'urea (l'uomo la ha, ma non la utilizza per espellere l'ammoniaca dall'organismo). Gli organismi di questo tipo vivono in ambienti poverissimi di acqua (in questo modo la "recuperano") e si tratta per lo più di uccelli, rettili e pesci cartilaginei (più antichi nell'evoluzione);
- **Ureotelici**-> l'ammoniaca viene trasformata in urea. Utilizzano questo metodo i mammiferi (tra cui l'uomo).



Nel nostro organismo, il ciclo dell'urea avviene prevalentemente nel **fegato** e solo in minima parte nel rene.

La degradazione delle proteine e degli amminoacidi proviene da tutti gli organi, ma l'azoto non può viaggiare liberamente, deve essere trasformato.



Il primo passaggio di trasformazione di qualunque amminoacido per produrre l'azoto che verrà scartato con l'urea è la **trasformazione in glutammato**, attraverso reazioni di **transaminazione**.

Definizione di transaminazione: La transaminazione è una reazione chimica in cui il gruppo α-amminico di un amminoacido viene trasferito ad un α-chetoacido (generalmente all'α-chetoglutarato), generando contemporaneamente un nuovo amminoacido e l'α-chetoacido corrispondente all'amminoacido. (fonte: wiki)

Se l'alfa chetoacido è il glutammato, nella reazione di transaminazione abbiamo produzione del glutammato e dell'alfa chetoacido corrispondente. Queste reazioni sono tutte **reversibili** (si può fare sempre la reazione inversa) e utilizzano come cofattore **PLP** (Piridossal fosfato).

Le reazioni di transaminazione avvengono in tutti gli organi e sono di "preparazione" al ciclo dell'urea (il gruppo amminico dell'aa viene trasferito sull'alfachetoglutarato, trasformandolo in glutammato).

L'altro alfa-chetoacido che deve essere utilizzato per transaminare gli amminoacidi che devono essere degradati è il **piruvato** poiché è particolarmente abbondante nel muscolo e il suo amminoacido corrispondente è l'**alanina**. Quindi, nel muscolo una reazione di transaminazione che viene utilizzata consiste nel trasferire il gruppo amminico dell'amminoacido di nostro interesse (che deve essere degradato) sul piruvato, trasformandolo in alanina e nel corrispondente alfa-chetoacido.

Questo processo viene denominato **ciclo del glucosio-alanina**: l'alanina prodotta nel muscolo viene riversata nel sangue, arriva al fegato ed, essendo la reazione di transaminazione reversibile, avviene l'inverso. Il piruvato che si forma nel fegato viene utilizzato per la sintesi del glucosio, mentre il glutammato prodotto sempre nel fegato andrà nel ciclo dell'urea.

Un'ulteriore problema nell'eliminazione del gruppo amminico è la limitata libertà di movimento che possiede il glutammato nel circolo sanguigno in quanto è un neurotrasmettitore (non possiamo aumentare in maniera abbondante la sua concentrazione nel sangue) e, inoltre, dalla sua decarbossilazione otteniamo un secondo neurotrasmettitore, il DADA.

Per evitare la concentrazione di glutammato (amminoacido carico) nel circolo ematico, esso viene trasformato in **glutammina**, amminoacido neutro. Nei tessuti extraepatici il glutammato viene trasformato in glutammina attraverso una reazione ATP-dipendente catalizzata dalla **glutammina sintetasi**.

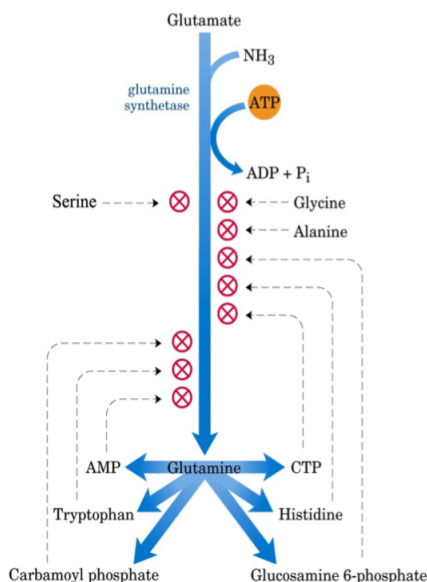
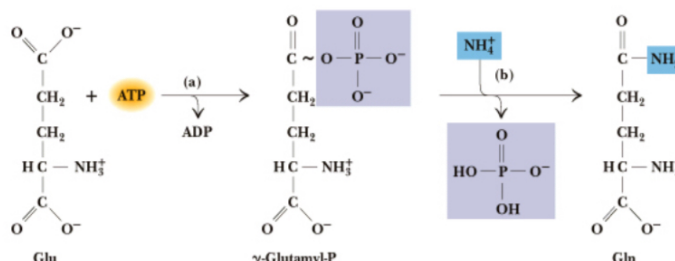
La glutammina è l'amide del glutammato. Questa reazione avviene in due passaggi enzimatici:

1. Trasferimento del gruppo fosfato sul carbonio in gamma del glutammato (formazione intermedio = Glutamil-fosfato)
2. Scambio con gruppo amminico (formazione glutammina).

La glutammina trasporta due gruppi amminici al fegato che possono essere entrambi espulsi tramite il ciclo dell'urea. Questa sintesi di glutammina è altamente regolata, ma, al tempo stesso, dispendiosa.

Glutammina sintetasi

Reazione ATP dipendente - amidazione del gruppo γ -carbossilico del glutammato per dare glutammina
Formazione dell'intermedio γ -glutamyl 1-P

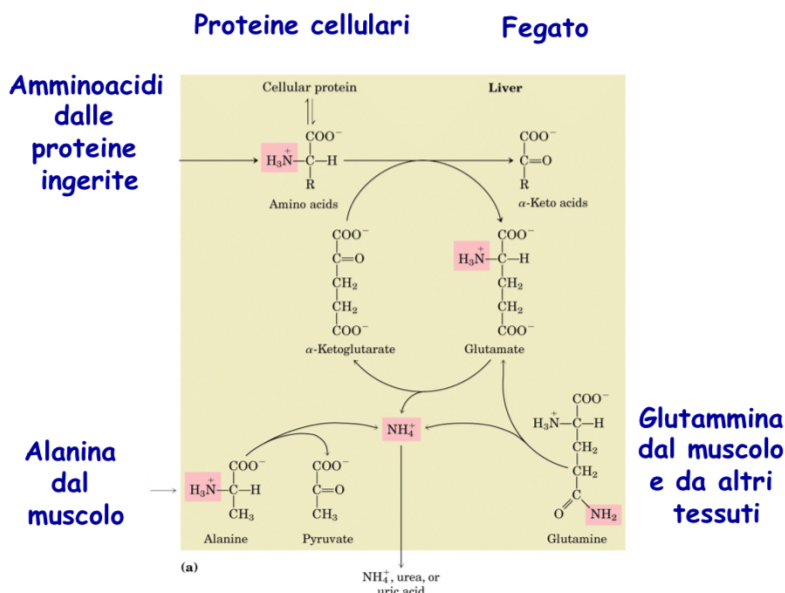
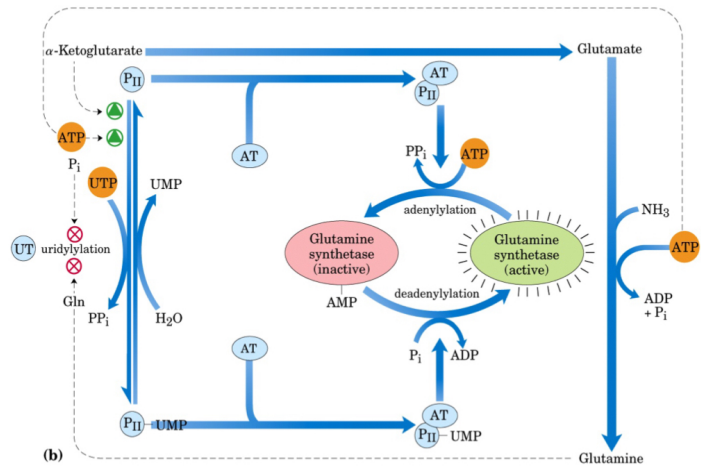


La glutammina sintetasi subisce due processi di regolazione.

1. **Regolazione allosterica**: ben 9 diversi substrati inibiscono parzialmente questo enzima. I substrati sono indicatori del metabolismo amminoacidico e altri si formano a partire dalla glutammina, loro precursore. (Gly, Ala, Ser sono indicatori del metabolismo amminoacidico. L'N ammidico della Gln è utilizzato per la sintesi degli altri sei composti). I nove diversi substrati inibitori sono: Gly, Ala, Ser, His, Trp, CTP, AMP, carbamil-P e glucosamina-6-P.

2. **Regolazione covalente**: diversa da quelle che noi già conosciamo (fosforilazione e defosforilazione). Per quanto riguarda la glutammina sintetasi la regolazione di tipo covalente avviene per trasferimento o per rimozione di un gruppo AMP.

È, dunque, un fenomeno di **adenilazione o deadenilazione**. La glutammina sintetasi è un'enzima formato da più subunità proteiche, ognuna delle quali può essere adenilata (con trasferimento di un gruppo AMP), così inibendo l'enzima. Il trasferimento di AMP è catalizzato dall'enzima **Adenil Transferasi (AT)**, che regola anche la sua stessa rimozione. Per adenilarlo, cioè inibire l'enzima, l'Adenil Transferasi deve legarsi ad una proteina regolatrice che prende il nome **proteina PII**. Si forma dunque un **complesso PII-Adenil Transferasi** con inibizione della glutammina sintetasi. Il processo inverso, di attivazione della glutammina sintetasi, è regolato a sua volta andando ad agire sulla proteina PII, mediante **uridilazione e deuridilazione**, ovvero trasferimento e rimozione di UMP sulla proteina PII. Tale processo è dovuto all'azione dell'enzima Uridil Transferasi: quando il complesso PII-AT viene uridilato, provoca la deadenilazione dell'Adenil Transferasi e, dunque, l'attivazione della glutammina sintetasi. L'Uridil Transferasi è a sua volta controllato allostericamente tramite attivazione e inibizione da parte di substrati. Sono attivatori allosterici dell'Uridil Transferasi l'**ATP** e l'**alfa-chetoglutarato** ed è inibitore allosterico un eccesso di **glutammina**.



Una volta che il gruppo amminico è stato trasferito o sull'alanina o sulla glutammina nei tessuti periferici deve arrivare al fegato, dove avviene appunto la sintesi dell'urea.

Nel **fegato** la glutammina subisce un'azione "diversa", ma non opposta all'azione della glutammina sintetasi che non dà reazione reversibile. Avviene un allontanamento del gruppo amminico per formare nuovamente il glutammato. Il gruppo amminico allontanato entrerà nel ciclo dell'urea.

Anche il glutammato può avere un allontanamento del gruppo amminico, che finirà anche questo nel ciclo dell'urea, trasformandosi in alfa-chetoglutarato.

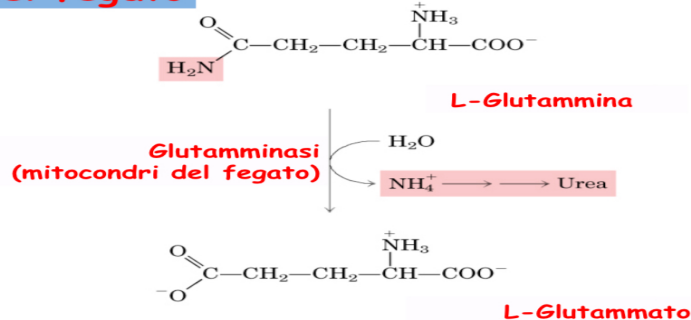
L'alanina (che è arrivata nel fegato) subisce la reazione di transaminazione, trasformandosi in glutammato e piruvato, che andrà in sintesi di glucosio.

Mentre il glutammato può subire l'allontanamento del gruppo amminico e quindi entrare nel ciclo dell'urea.

Il ciclo dell'urea viene chiamato ciclo poiché, come nel caso del ciclo del Krebs, vi è un substrato che né si produce né si consuma. Inoltre un'altra particolarità del ciclo dell'urea è che avviene a cavallo della **membrana mitocondriale**: alcune reazioni avvengono nel citoplasma, altre nella matrice mitocondriale.

Glutamina e glutammato entrano nel mitocondrio e subiscono l'azione di due enzimi:

Nel fegato

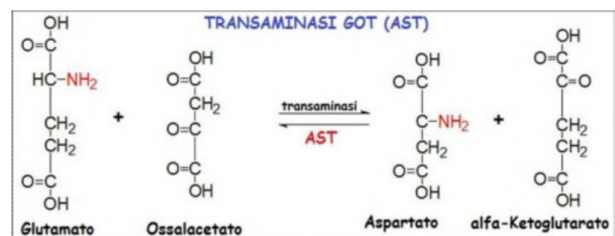


1. **Glutaminasi**, idrolisi che allontana il gruppo amminico dalla glutamina con sintesi di **glutammato**;
2. **Glutammato deidrogenasi**, deaminazione ossidativa che allontana il gruppo amminico dal glutammato con produzione di **ammoniaca libera** e **alfa-chetoglutarato**. Questa reazione è reversibile e può venire in tutti gli

organi. Questo enzima esiste in più isoforme, che possono essere NAD^+ o NADH dipendenti. La reazione viene attivata da ATP ed inibita da GTP. La reazione è reversibile e procede verso chetoglutarato e liberazione del gruppo amminico nel fegato (verso destra), mentre nel muscolo e negli altri organi andrà verso la sintesi di glutammato (verso sinistra). Le condizioni energetiche dipendono molto dal ciclo di Krebs.

Invece l'alanina ricordiamo che entrerà direttamente sotto forma di glutammato. Il glutammato oltre che per il ciclo dell'urea, dà luogo anche, in parte, alla reazione di transaminazione con **ossalacetato** (intermedio del ciclo di Krebs), tramite la transaminasi otteniamo **aspartato** e **alfa-chetoglutarato**, che può rientrare nel ciclo di Krebs. Mentre l'aspartato viene trasportato nel citoplasma, in quanto sarà fondamentale nella sintesi dell'urea.

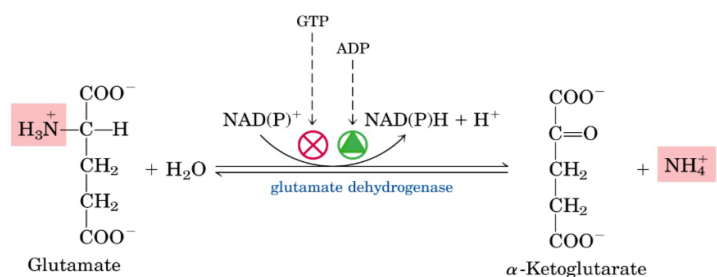
Glutammico-ossalacetica (GOT) o Aspartato-aminotransferasi (AST)



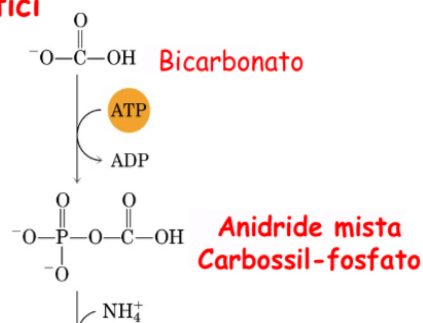
A questo punto, a livello della matrice mitocondriale avviene la sintesi del **carboamifosfato**, per azione dell'enzima **carboamifosfato-sintetasi-1**.

Per sintetizzare il carboamifosfato è necessario il consumo di due molecole di ATP perché la reazione avviene attraverso due passaggi enzimatici:

1. Il primo gruppo fosfato serve per sintetizzare il carboammato, con un primo trasferimento di un gruppo fosfato a formare un **carbossil-fosfato** sulla molecola di **bicarbonato** e successivamente si ha il trasferimento del gruppo amminico sull'**Anidride mista Carbossil-fosfato** con fuoriuscita di un gruppo fosfato per formare il **carboammato**;
2. Una seconda molecola di fosfato viene legata al carboammato per formare **carboamifosfato**.

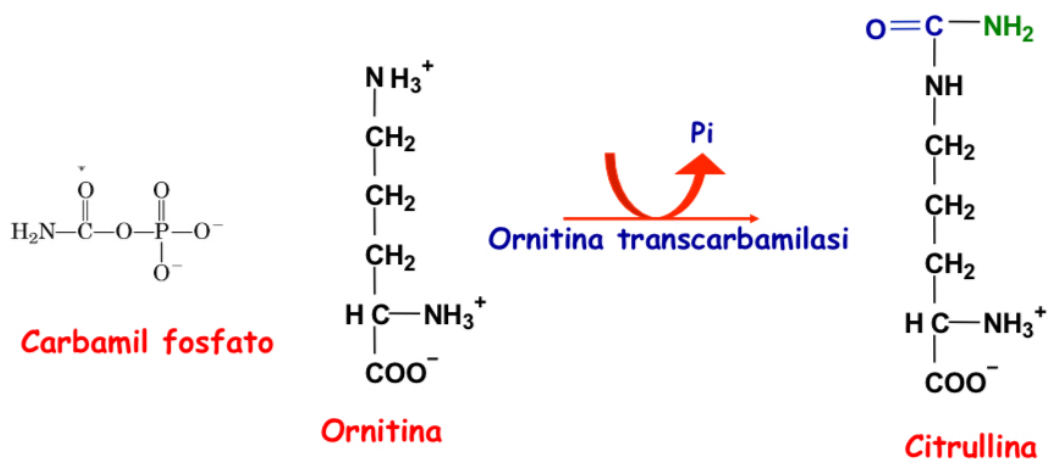


Mitocondri epatici



Questa è la reazione che precede il ciclo dell'urea.

Il carboammil-fosfato che si è formato condensa con una molecola di **ornitina** per formare la **citrullina**, entrambi amminoacidi particolari, non presenti nelle proteine, utilizzati nel ciclo dell'urea.



La citrullina uscirà dai mitocondri e qui tramite altre tre reazioni enzimatiche, si avrà la sintesi dell'urea.