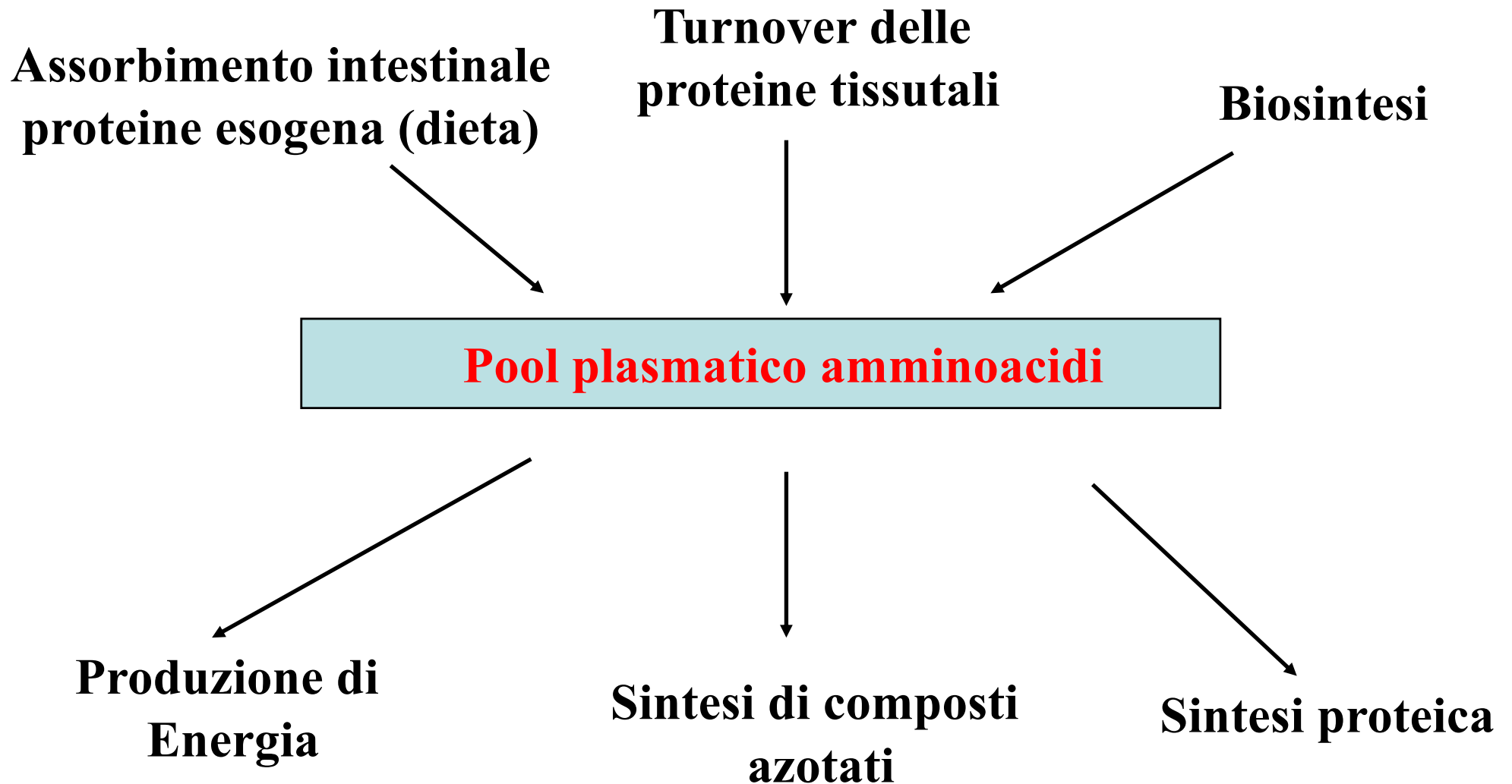


Metabolismo degli amminoacidi

Complesso di reazioni di sintesi e di degradazione mediante le quali gli AA vengono assemblati come precursori delle proteine, vengono degradati per ottenere energia metabolica o sono trasformati in prodotti intermedi del metabolismo.

Gli AA non sono accumulati nelle cellule ma sono costituenti delle proteine da cui possono essere liberati per proteolisi.



Fonti di amminoacidi

La fonte principale degli AA sono le proteine ingerite con la dieta o quelle che non “servono” più alla loro funzione (enzimi, immunoglobuline, proteine strutturali, ecc.).

La degradazione delle proteine può avvenire mediante tre processi:

- digestione gastrointestinale (proteine esogene della dieta)**
- degradazione lisosomiale (proteine cellulari)**
- degradazione ubiquitina dipendente (proteine cellulari)**

Digestione gastrointestinale

Gli AA derivano anche dall'idrolisi delle proteine provenienti dalla dieta grazie all'azione di enzimi proteolitici quali la *pepsina* (gastrica), gli enzimi pancreatici *tripsina*, *chimotripsina* ed *elastasi* o da altre *endo- ed esopeptidasi*.

Gli amminoacidi liberi vengono assorbiti a livello della mucosa intestinale, trasferite al circolo sanguigno che li trasporta ai tessuti di utilizzo, essenzialmente fegato e muscolo.

Degradazione lisosomiale

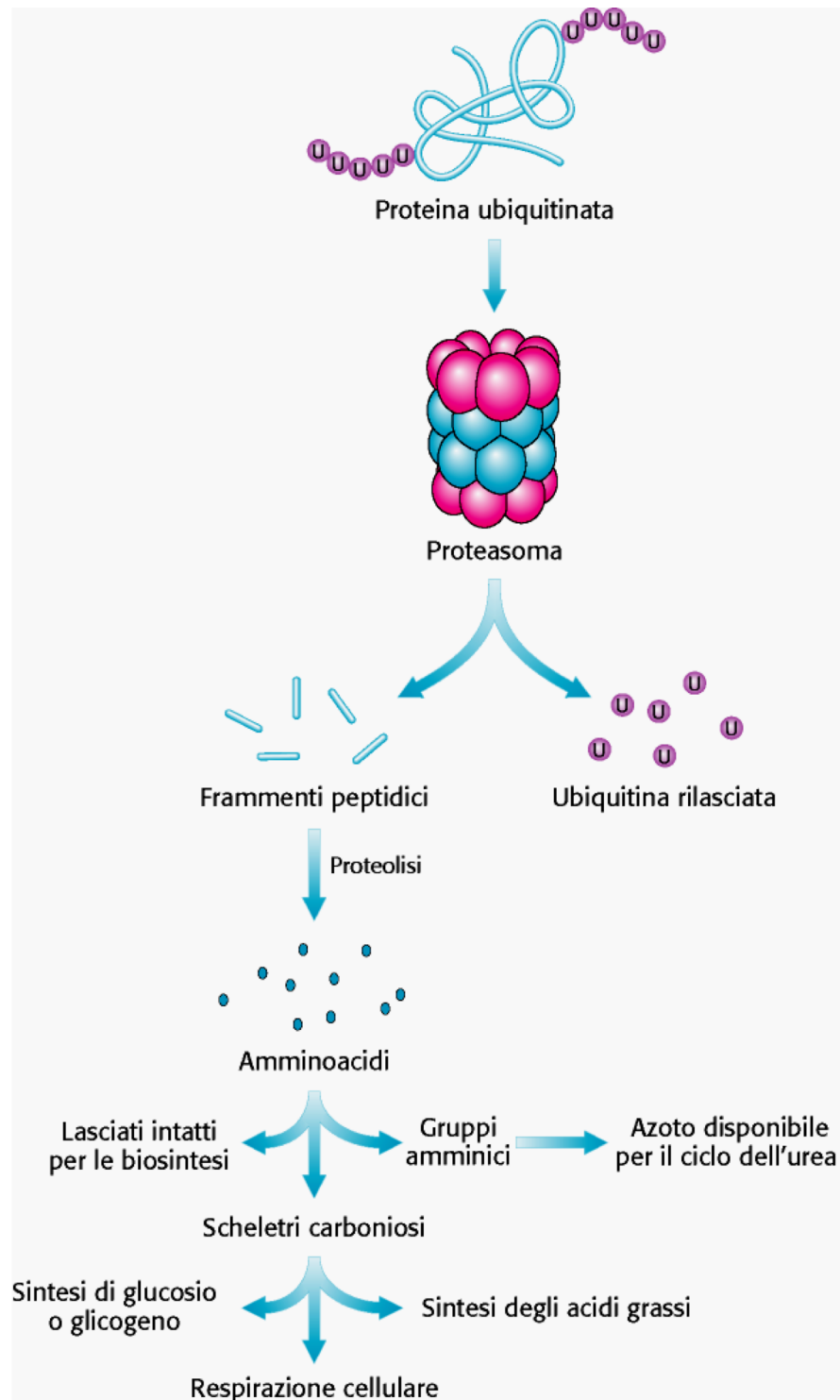
Con questo processo vengono idrolizzate tutte le proteine che le cellule assumono per endocitosi. Nei lisosomi le proteasi, gli enzimi che idrolizzano il legame peptidico, agiscono ad un pH ottimale intorno a 5 e sono praticamente inattivi a pH neutro.

Questa proprietà rappresenta un meccanismo di difesa da parte delle cellule in quanto se accidentalmente gli enzimi lisosomiali dovessero trovarsi nel citoplasma, non potranno idrolizzare le proteine citoplasmatiche necessarie alla vita della cellula.

Degradazione ubiquitina-dipendente (1)

E' un meccanismo di degradazione indipendente dai lisosomi e che prevede consumo di ATP. Inoltre, in questo processo sono coinvolti una proteina denominata *ubiquitina* ed un complesso multienzimatico definito *proteasoma* che possiede l'attività proteolitica.

L'ubiquitina è una proteina ubiquitaria di piccole dimensioni (76 aa) che ha la funzione di "etichettare" le proteine citoplasmatiche che devono essere idrolizzate. In alcuni casi si può anche avere una poli-ubiquitinazione.



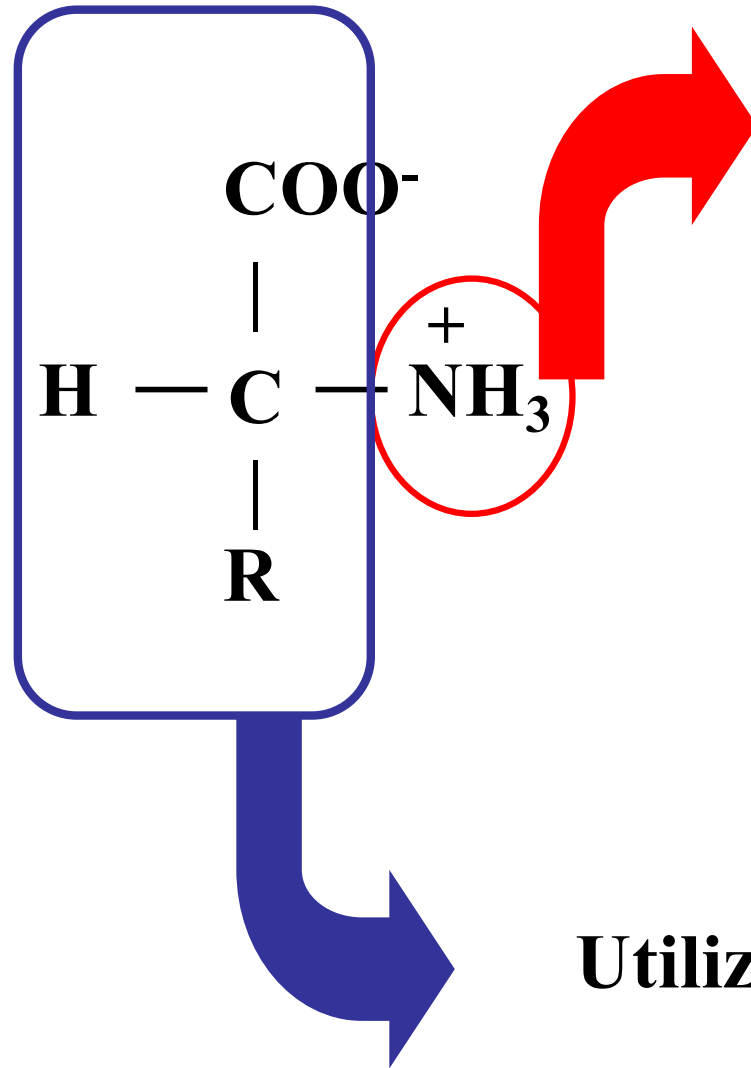
Degradazione ubiquitina-dipendente (2)

Le proteine ubiquitinate vengono degradate dal **proteasoma (26S)** un complesso multienzimatico costituito da una parte centrale (20S) cilindrica e da due altre parti (19S) che si trovano alle due estremità della parte centrale.

Il proteasoma è costituito da 28 subunità proteiche organizzate in 4 anelli di sette subunità con simmetria cilindrica.

L'attività catalitica di questo complesso produce peptidi di circa 8 residui che vengono poi ulteriormente idrolizzati ad aminoacidi da peptidasi citosoliche.

Catabolismo degli amminoacidi



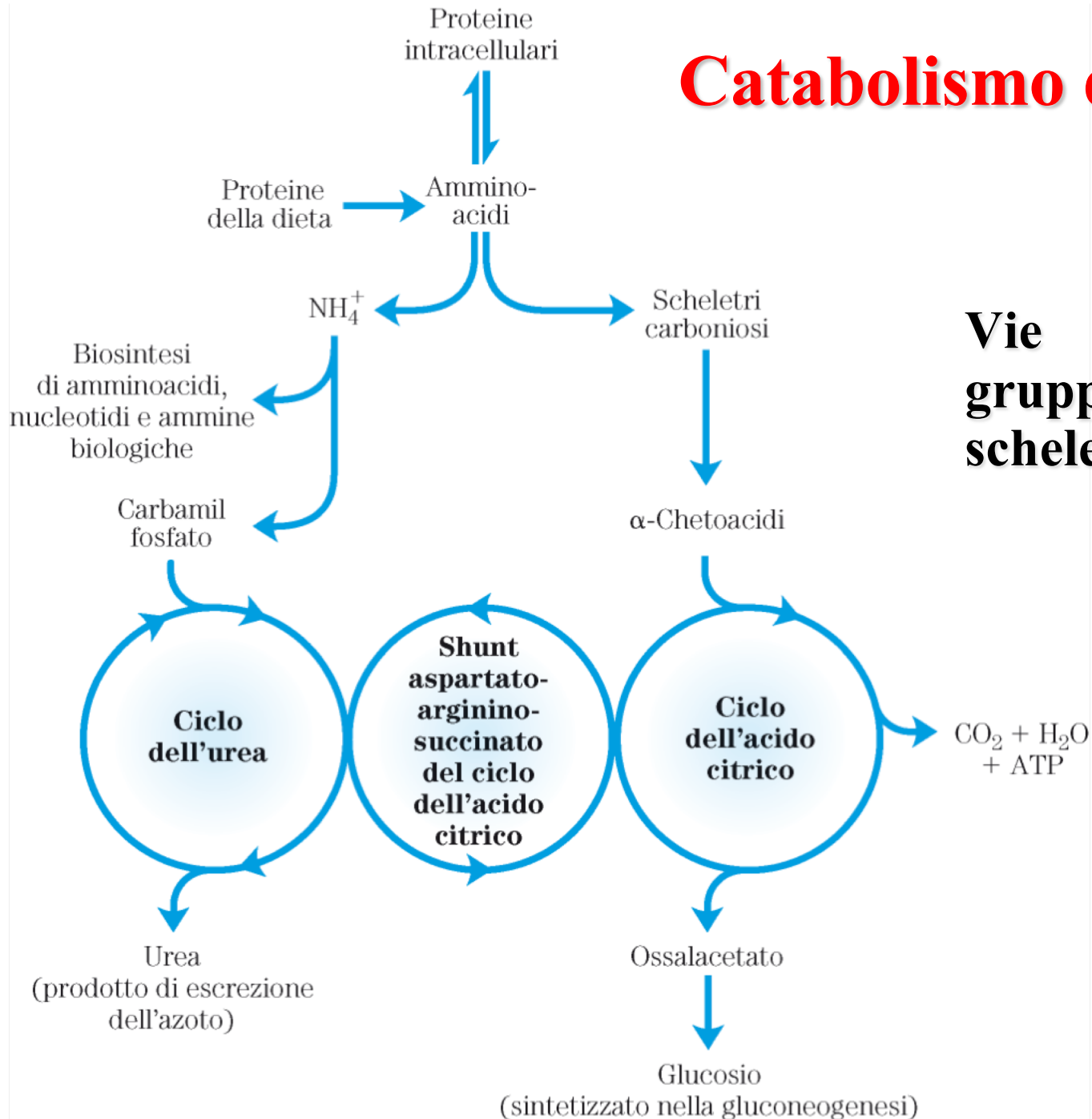
Rimozione del gruppo alfa-amminico mediante reazioni di transamminazione e deamminazione.

Eliminazione dell'N sotto forma di ammoniaca o acido urico o urea

Utilizzo dello scheletro carbonioso per scopi metabolici

Catabolismo degli aminoacidi

Vie seguite dallo dai gruppi amminici e dallo scheletro carbonioso



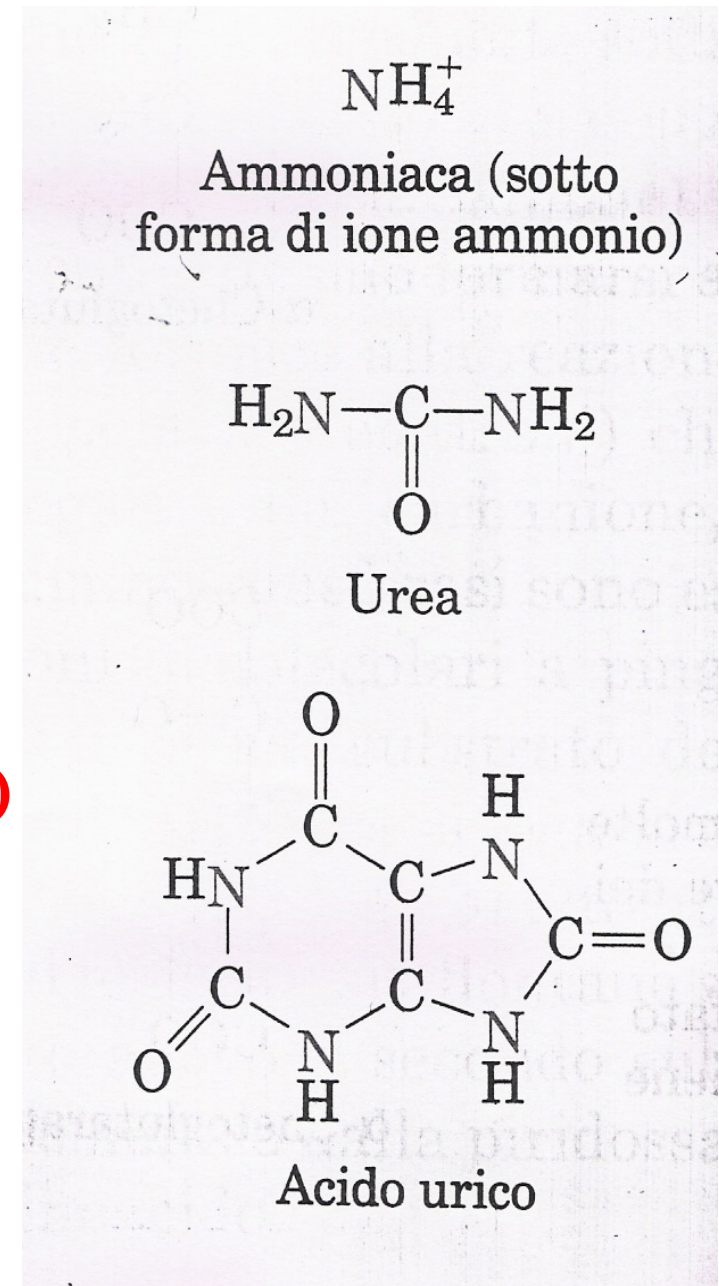
Destino dell'azoto alfa-amminico

Non viene utilizzato per scopi energetici

Prende parte solo in misura ridotta biosintesi delle basi azotate dei nucleotidi

Per la maggior parte viene eliminato sotto forma di:

- ammoniaca, tossica, la cui sintesi non è dispendiosa (**animali ammoniotelici, pesci**)
- acido urico (**animali uricotelici, rettili, uccelli**)
- urea (**animali ureotelici, mammiferi**)



Degradazione degli aminoacidi

La degradazione degli AA si verifica:

- prevalentemente nel fegato;
- nel muscolo, in condizioni di digiuno ed esercizio fisico prolungato che utilizza preferenzialmente gli AA a catena ramificata, (BCAA, leucina, isoleucina e valina);
- negli altri tessuti

La I tappa prevede la rimozione del gruppo α -amminico, un processo che consta di due passaggi e si possono individuare alcuni tipi di reazioni metaboliche comuni più o meno a tutti i 20 AA:

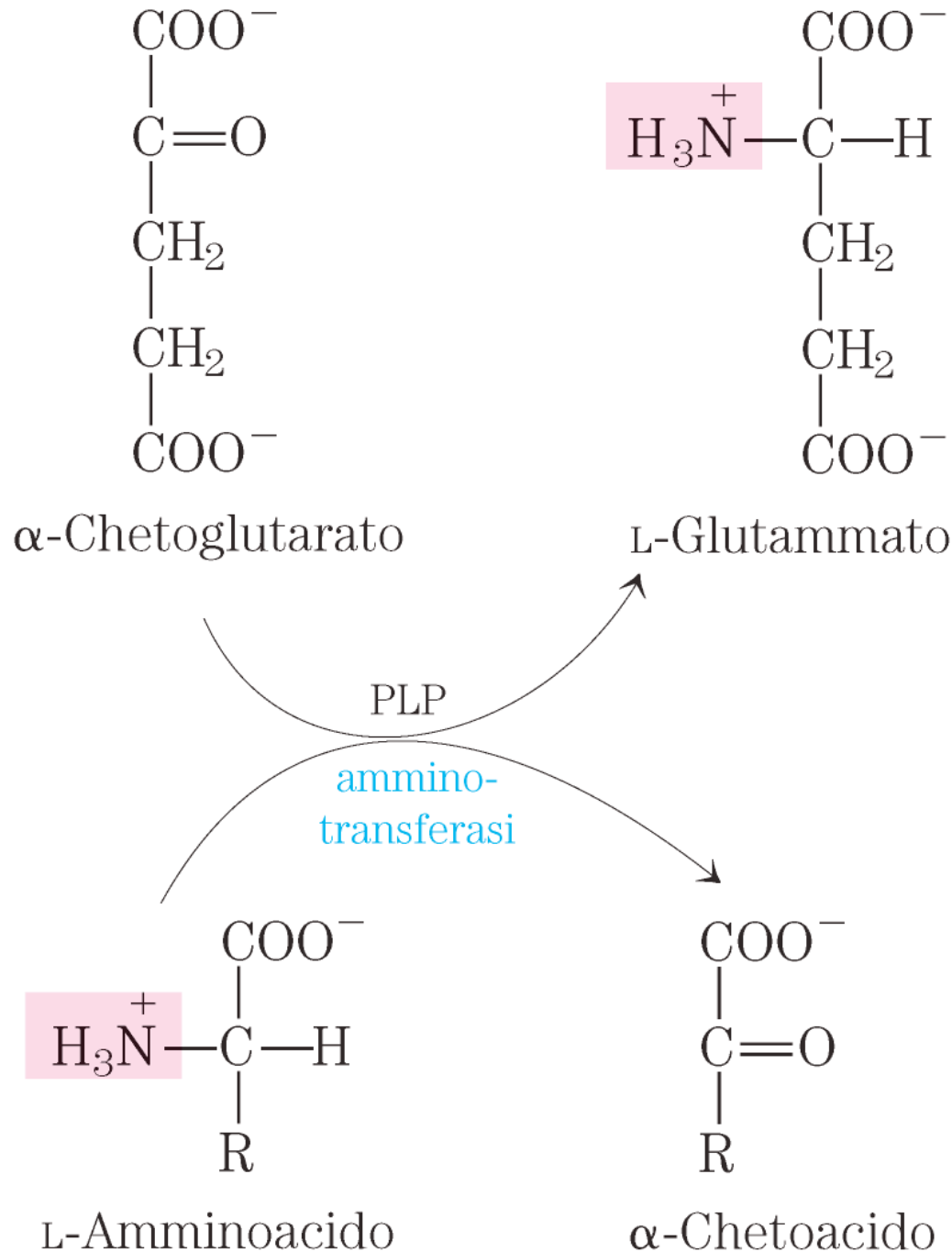
- 1) reazione di **transamminazione** (*transamminasi*) formazione in prevalenza di glutammato
- 2) reazione di **deamminazione ossidativa** del glutammato con produzione dello ione ammonio e α -chetoglutarato (*glutammato deidrogenasi*).

La II tappa avviene nel fegato, dove lo ione ammonio è utilizzato per la sintesi dell'urea. L'urea è poi immessa nel torrente ematico ed escreta a livello renale nelle urine.

Rimozione del gruppo alfa-amminico: le transamminasi

Le **transamminasi** o **amminotrasferasi** sono enzimi che catalizzano il trasferimento reversibile di un gruppo alfa amminico da un AA ad un alfa-chetoacido (non vi è una deamminazione netta)

L'AA si trasforma nel chetoacido corrispondente e l'alfa-chetoacido nell'AA corrispondente



La reazione catalizzata dalle transamminasi

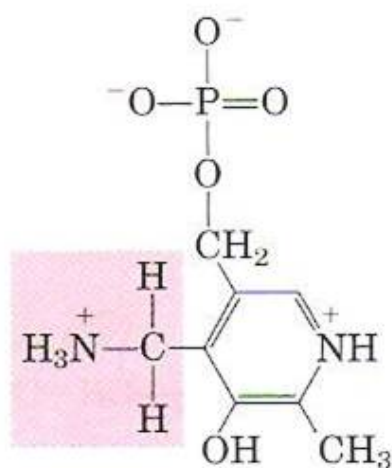
- **Reazione citosolica.**
- **In molte reazioni, l'accettore del gruppo amminico è l' α -chetoglutarato.**
- **La reazione è reversibile.**
- **Tutte le ammino-trasferasi utilizzano come cofattore il piridossalfosfato (PLP).**
- **Meccanismo di reazione a ping-pong.**

Transamminasi o amminotransferasi.



Piridossal fosfato
(PLP)

Non posseggono una stretta specificità e possono catalizzare la transamminazione di diversi AA.

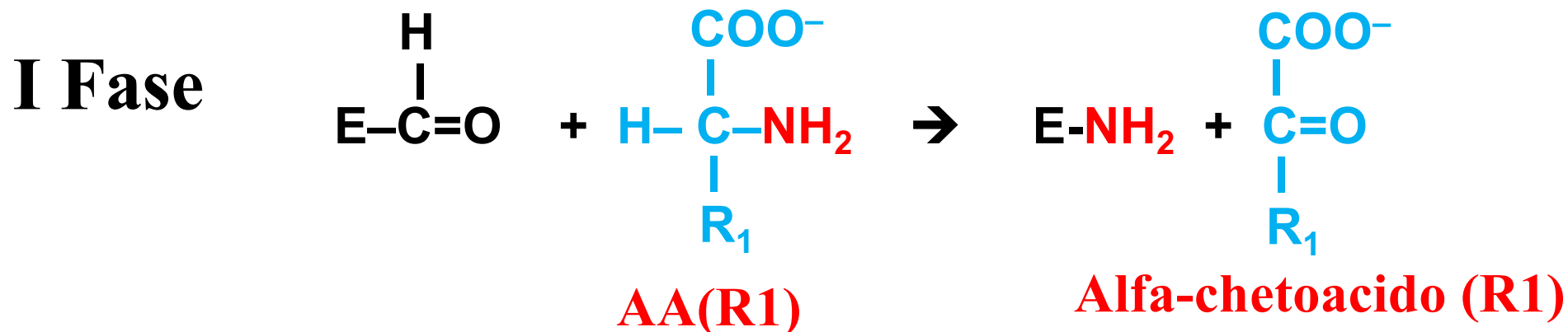


Piridossamina
fosfato

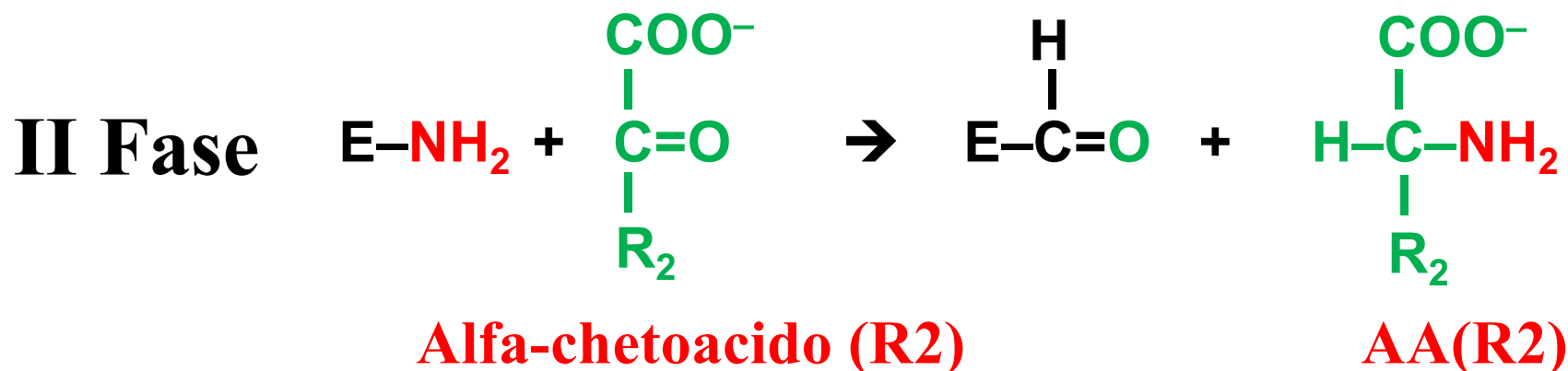
Il coenzima piridossal-5-fosfato (derivato della vitamina B6) funziona da trasportatore del gruppo amminico

Enzimi a piridossal-fosfato: meccanismo ping-pong

Conversione di un amminoacido in un alfa-chetoacido



Conversione dell'alfa-chetoacido in un amminoacido



Intermedio di reazione: base di Schiff

Le transamminasi si differenziano nella prima fase per la specificità dei diversi amminoacidi con formazione di diversi chetoacidi.

Nella seconda fase invece, le aminotransferasi riconoscono essenzialmente solo **tre chetoacidi: α -chetoglutarato, ossalacetato o piruvato.**

α -chetoacido

Amminoacido

α -chetoglutarato



glutammato

ossalacetato



aspartato

piruvato



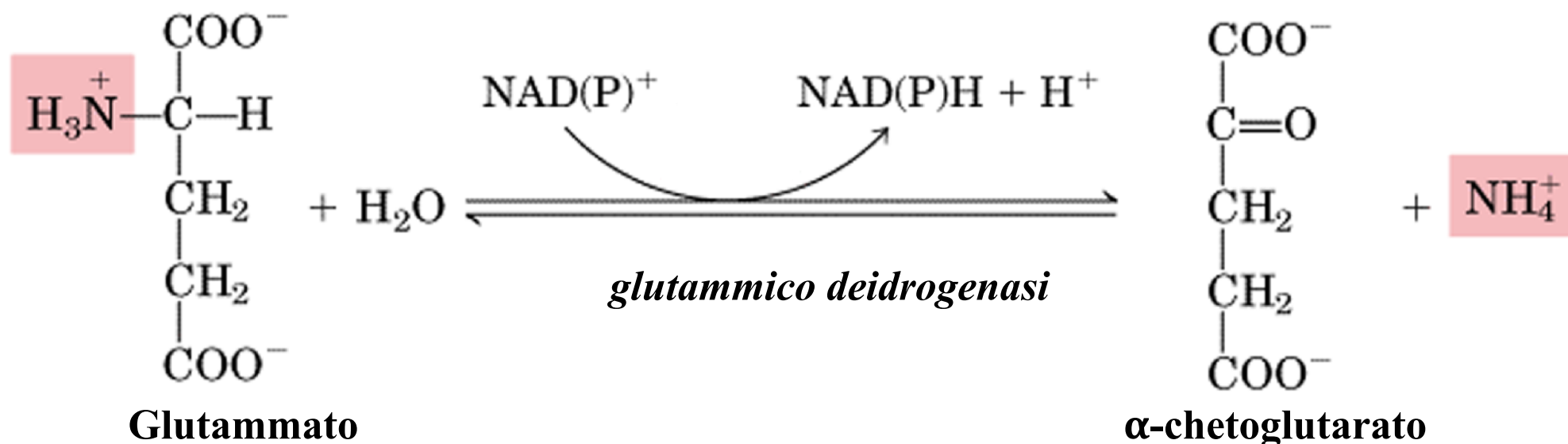
alanina

Le concentrazioni relative di tutte queste sostanze regolano la direzione di catalisi di questi enzimi che portano alla formazione di glutammato (in misura maggiore), aspartato o alanina.

Deamminazione ossidativa del glutammato

La reazione avviene nel citoplasma ed è catalizzata dall'enzima *glutammico deidrogenasi* che provoca la rimozione di uno ione ammonio e contemporanea ossidazione dell'atomo di carbonio a cui esso era legato.

Utilizza sia NAD^+ sia NADP^+ come accettore di elettroni.

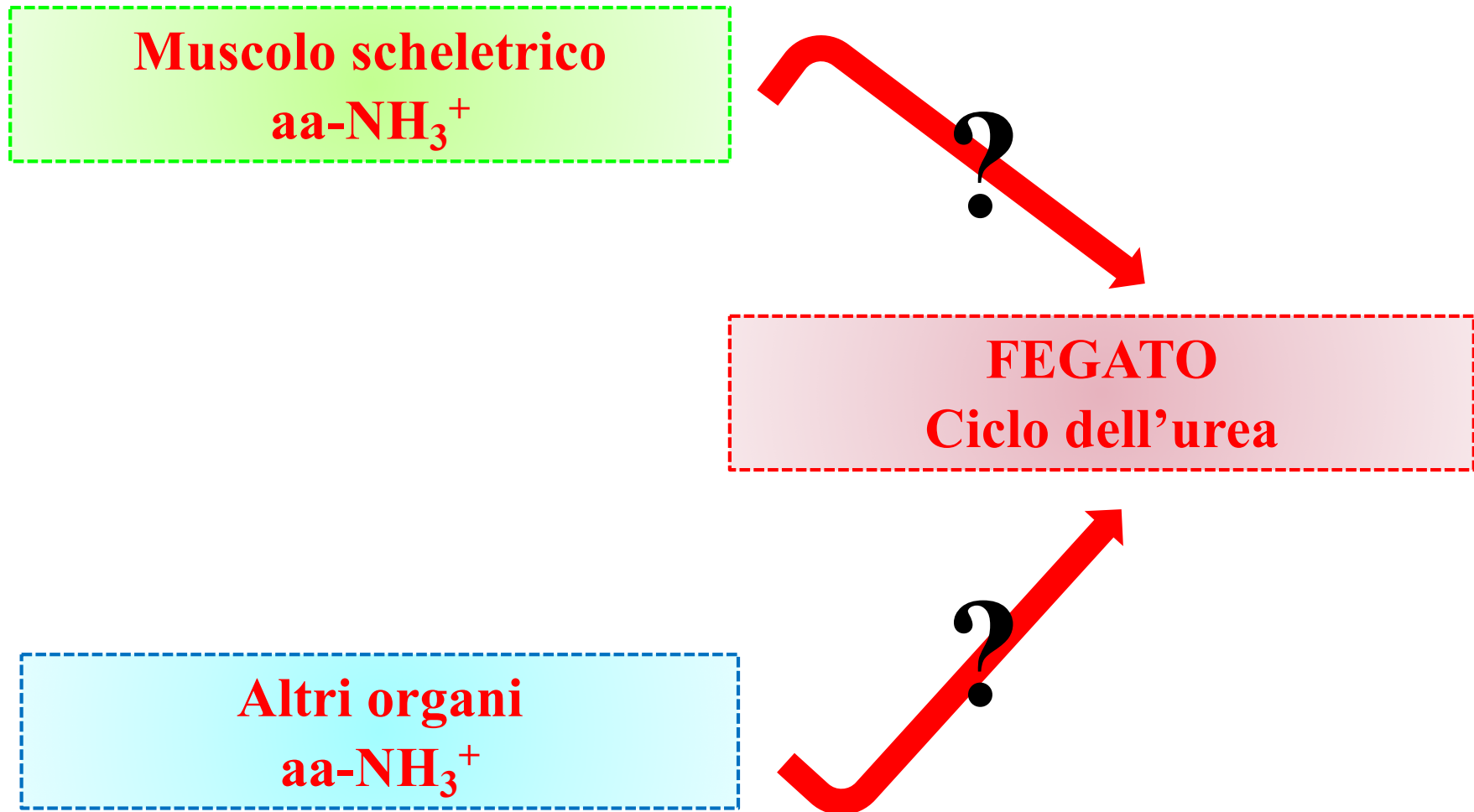


L'enzima funziona *in vivo* in condizioni vicine all'equilibrio ($\Delta G = 0$) pertanto le concentrazioni relative dirigono la reazione.

Lo ione ammonio viene poi incorporato nell'urea per essere escreto.

La reazione inversa è importante per la rimozione dell'ammoniaca molto tossica soprattutto a livello nervoso.

Trasporto dei gruppi alfa-amminici al fegato



Trasporto dello ione ammonio nel circolo ematico

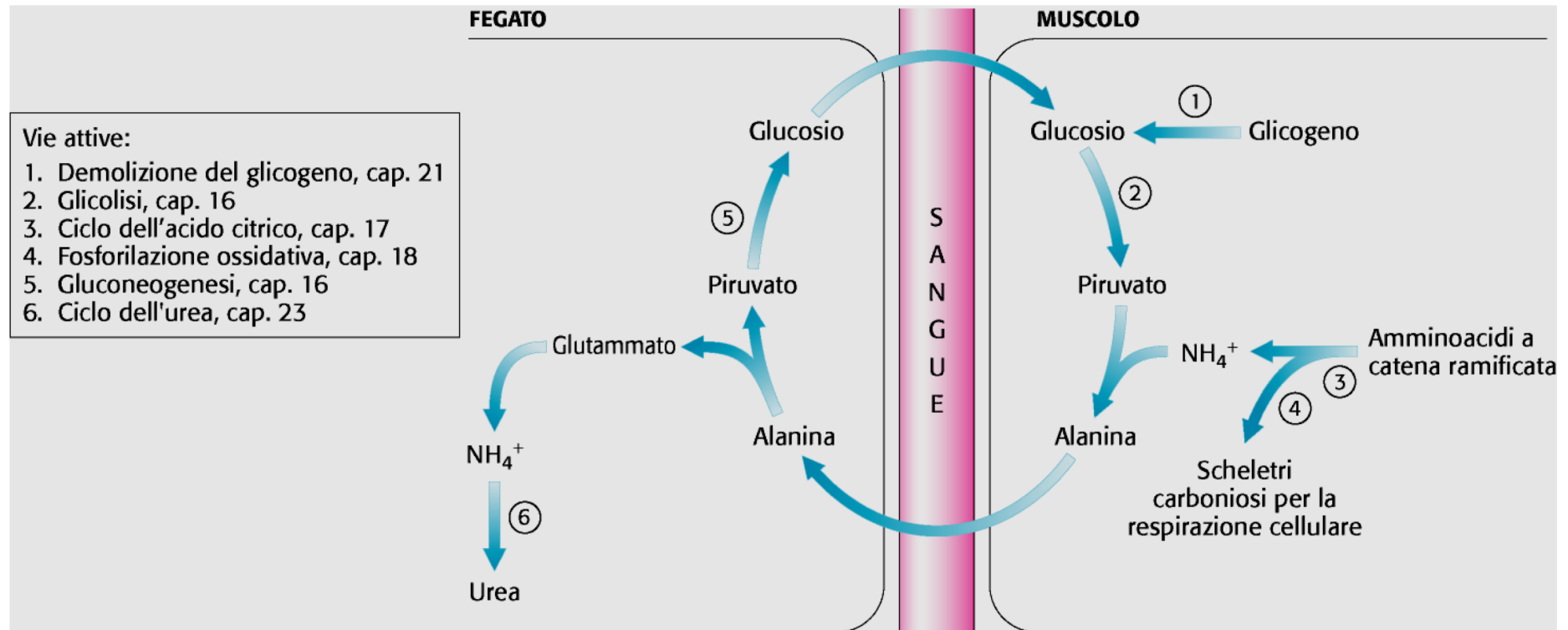
L'ammoniaca è una specie molto tossica, pertanto non può essere trasportata liberamente nel circolo sanguigno ma viene trasformata in altre molecole meno tossiche e più solubili.

Dal muscolo al fegato è trasportata sotto forma di **alanina (Ciclo glucosio-alanina)**

Dagli altri tessuti al fegato è trasportata sotto forma di **glutamina.**

Nel fegato, lo ione ammonio è incorporato nell'urea (**Ciclo dell'urea**) che poi è escreta con le urine a livello renale.

Ciclo glucosio-alanina



Berg, Tymoczko, Stryer "Biochimica" - Ed. Zanichelli

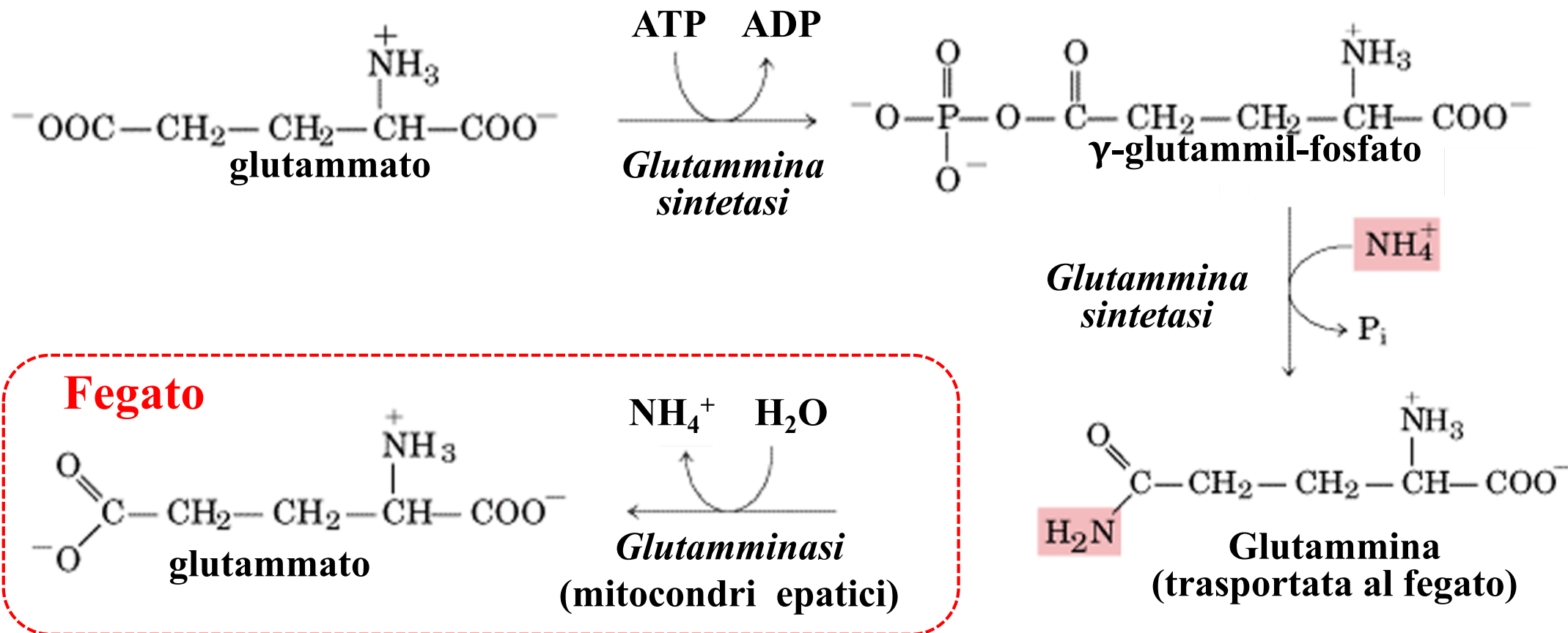
L'ammoniaca prodotta dalla degradazione degli amminoacidi nel muscolo, viene trasportata sotto forma di alanina formata a partire dal piruvato (*alanina aminotrasferasi*, isoenzima muscolare).

Negli epatociti, il gruppo amminico dell'alanina è trasferito all' α -chetoglutarato formando glutammato e piruvato (*alanina aminotrasferasi*, isoenzima epatico).

Il glutammato formerà ammoniaca grazie all'azione dell'enzima glutammico deidrogenasi. Il piruvato potrà formare glucosio attraverso la gluconeogenesi.

21 Trasporto dello ione ammonio formato in altri tessuti

Negli altri tessuti, il gruppo alfa-amminico viene incorporato **nell'N ammidico del gruppo R** della **L-glutammina** attraverso la **glutammina sintasi**, reazione a 2 tappe, che richiede ATP.

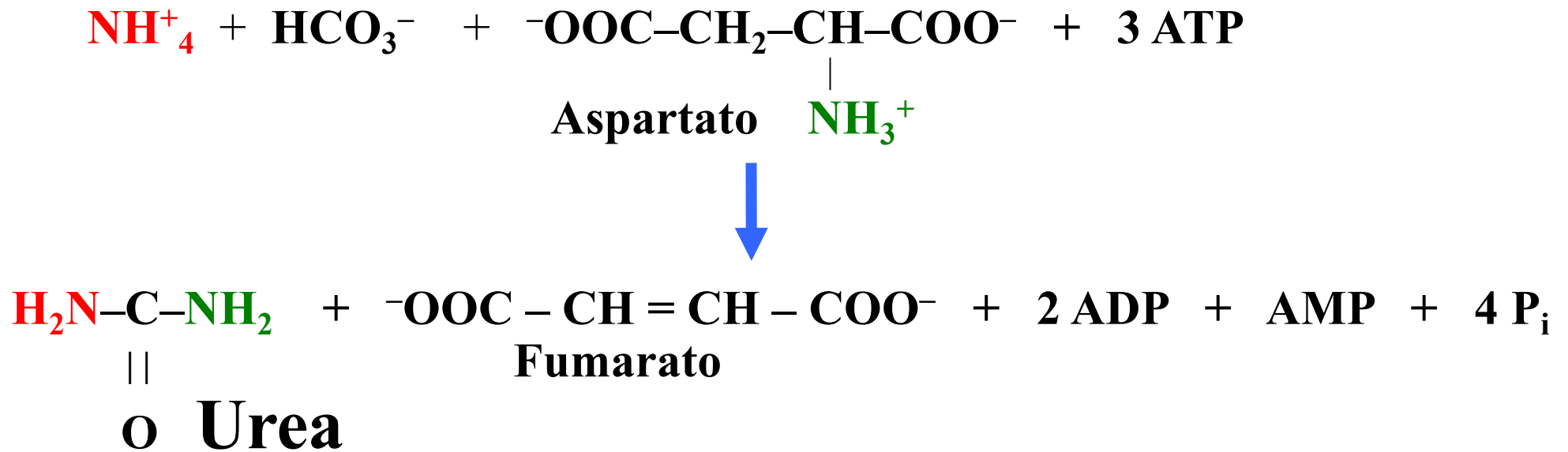


La L-glutammina, trasportata al fegato, viene trasformata dalla **glutaminasi** in glutammato e ione ammonio che entra nel ciclo dell'urea.

Il ciclo dell'urea

E' un processo ciclico che porta alla fissazione degli ioni ammonio nell'urea, che viene secreta nel circolo ematico e poi eliminata dal rene attraverso le urine.

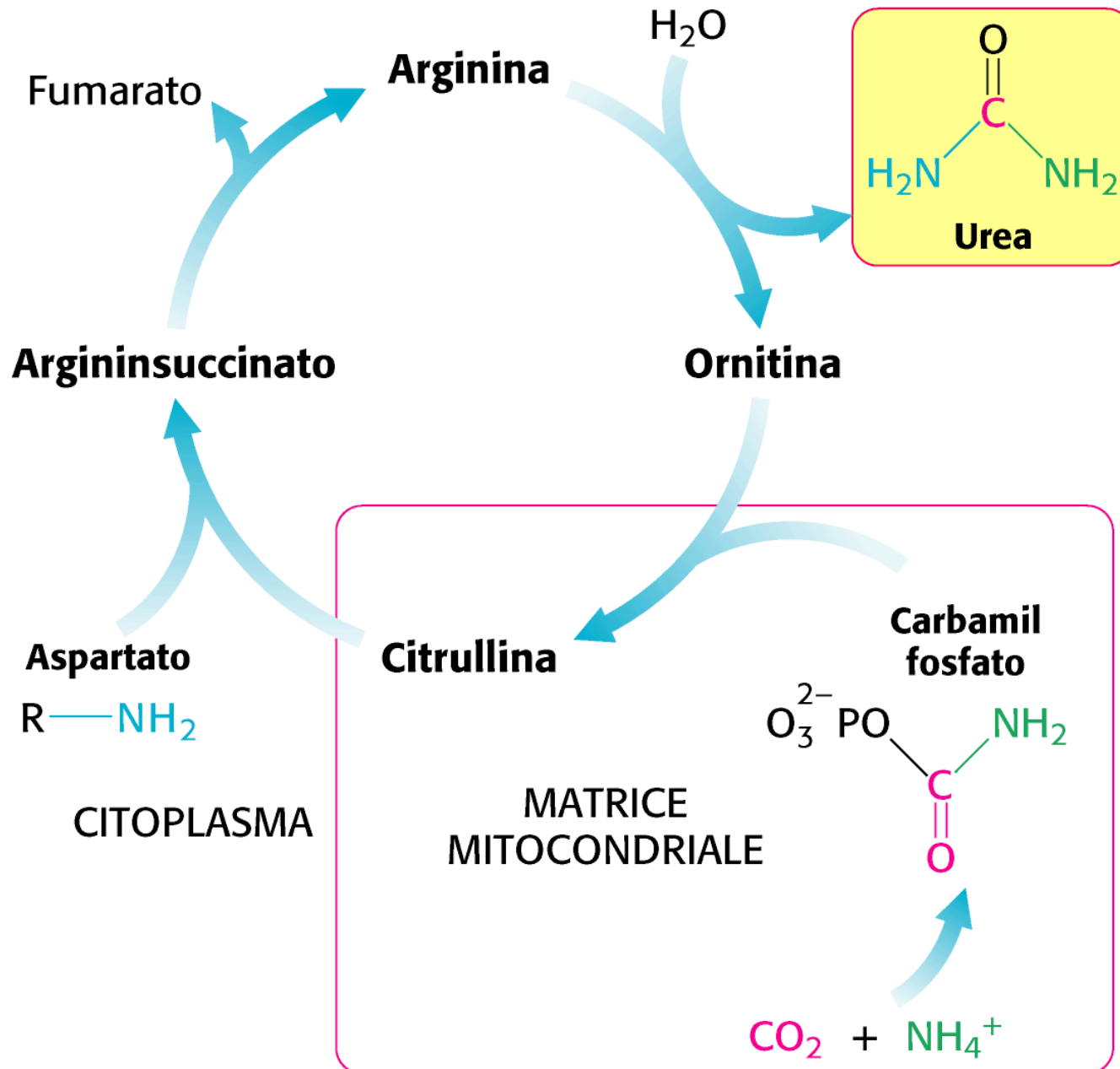
La reazione complessiva è la seguente:



Pertanto i due atomi di azoto dell'urea provengono dall'ammoniaca e dall'aspartato;

- l'atomo di carbonio proviene invece dallo ione bicarbonato

Ciclo dell'urea



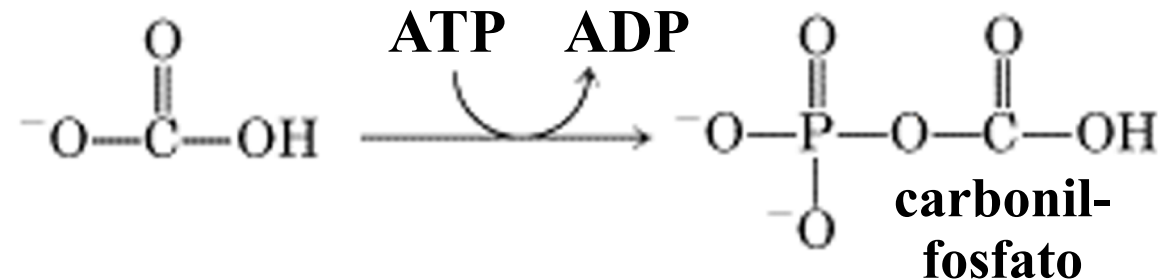
**Avviene nel fegato;
sono coinvolte 5
reazioni:
due mitocondriali e
tre citosoliche.**

**Presenza di 2 AA non
proteino-genici:
citrullina ed ornitina**

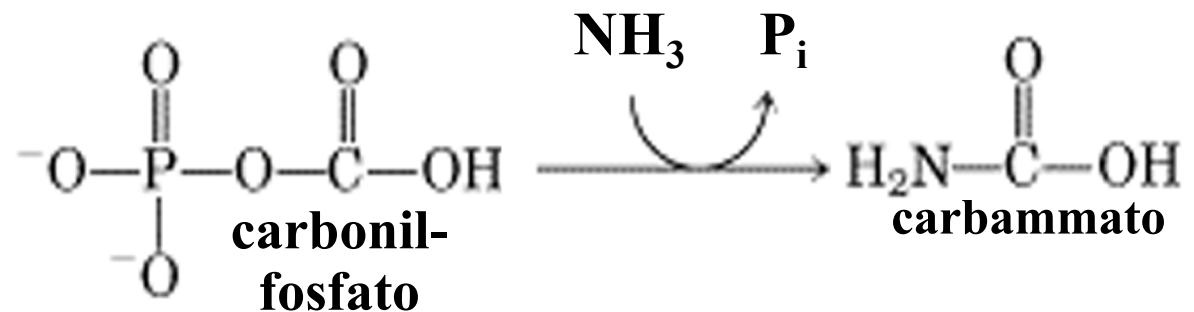
Le reazioni del ciclo dell'urea

La reazione 1 del ciclo dell'urea: SINTESI DEL CARBAMMIL-FOSFATO ad opera della *carbammil-fosfato sintetasi*. Avviene nella matrice mitocondriale in tre fasi.

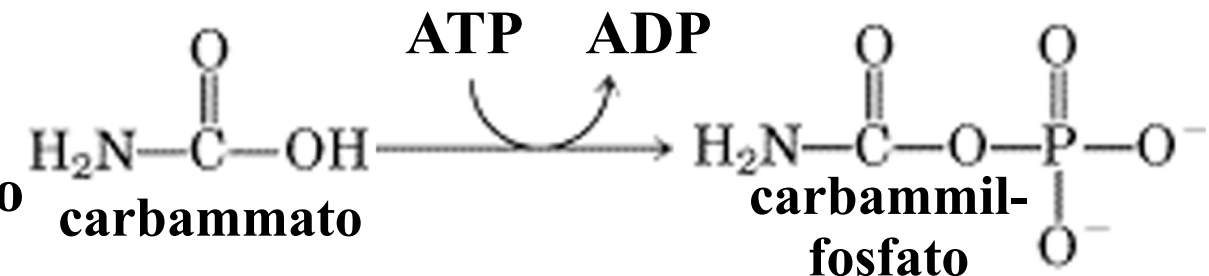
A) L'ATP attiva il bicarbonato con formazione di carbonil-fosfato



B) L'ammoniaca sostituisce il fosfato con formazione di carbammato e fosfato

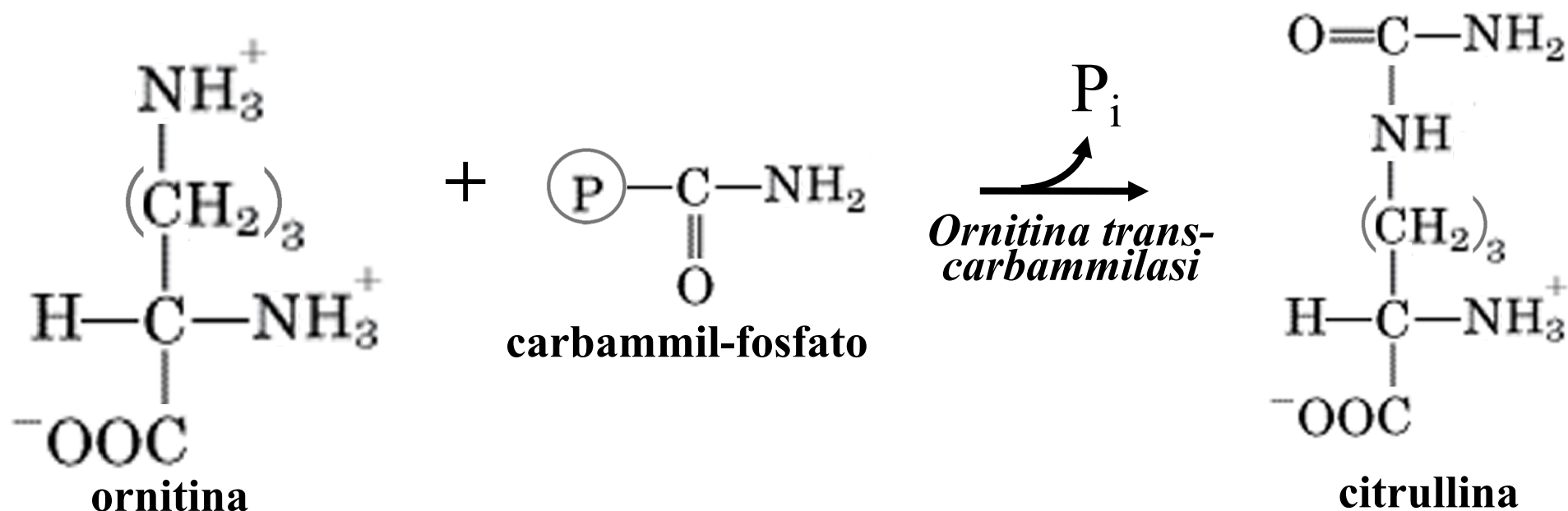


C) Una seconda molecola di ATP fosforila il carbammato con formazione di carbammil-fosfato



La reazione 2: sintesi di citrullina

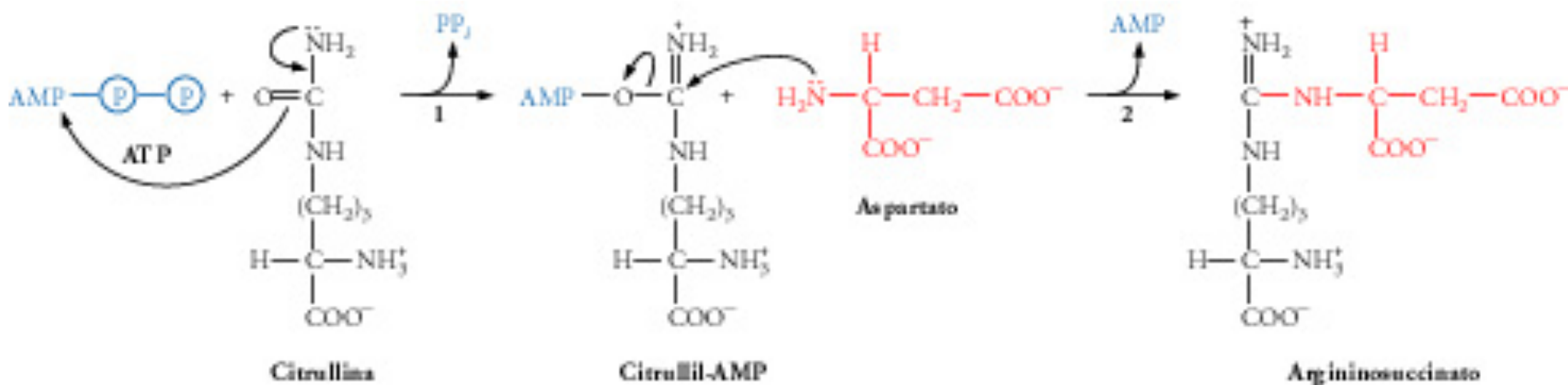
Il carbammilfosfato reagisce con l'ornitina per formare citrullina, mediante il trasferimento del gruppo carbammilico all'ornitina.



La reazione avviene nella matrice mitocondriale, pertanto l'ornitina, sintetizzata nel citoplasma entra nel mitocondrio con un sistema di trasporto specifico. **Poiché le reazioni successive del ciclo dell'urea avvengono nel citoplasma, anche per la citrullina c'è un sistema di trasporto specifico, ma in direzione opposta.**

La reazione 3: sintesi di arginin-succinato

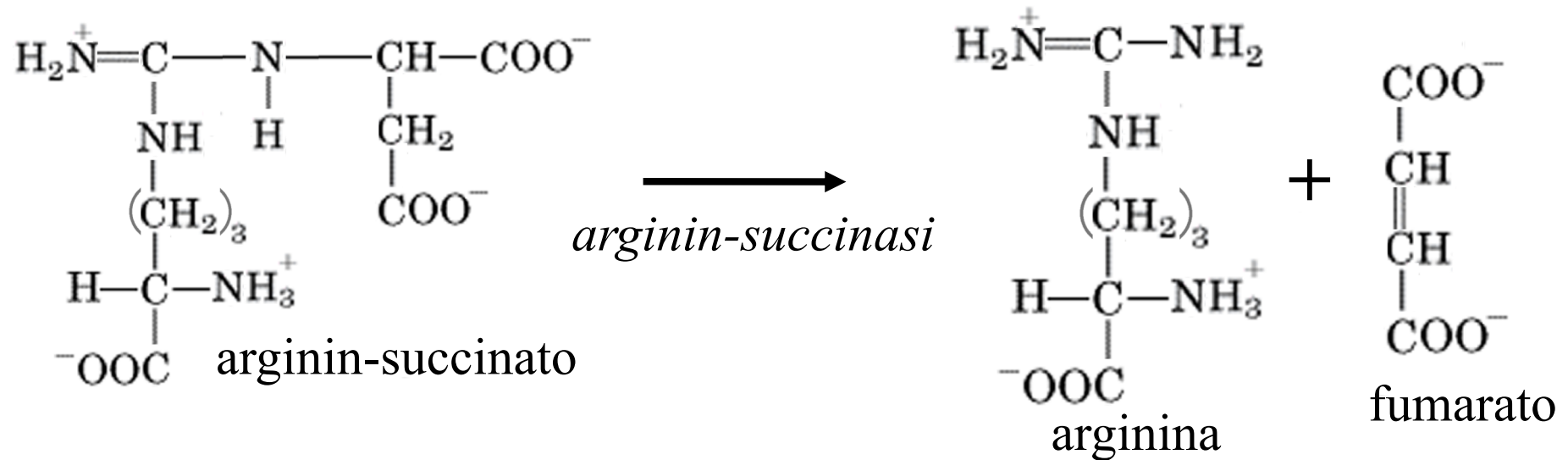
La citrullina reagisce con l'aspartato con formazione di arginin-succinato e consumo di **ATP** ad AMP e 2 P_i. Si verifica la condensazione tra il gruppo amminico dell'aspartato ed il gruppo carbonilico della citrullina



In questa reazione, che avviene nel citoplasma, viene acquisito il **secondo atomo di azoto dell'urea**. Il pirofosfato viene idrolizzato dalla pirofosfatasi. Si ha quindi il consumo **di due legami ad alto contenuto energetico**.

La reazione 4: sintesi di arginina e succinato

Scissione dell'arginin-succinato in arginina e fumarato.

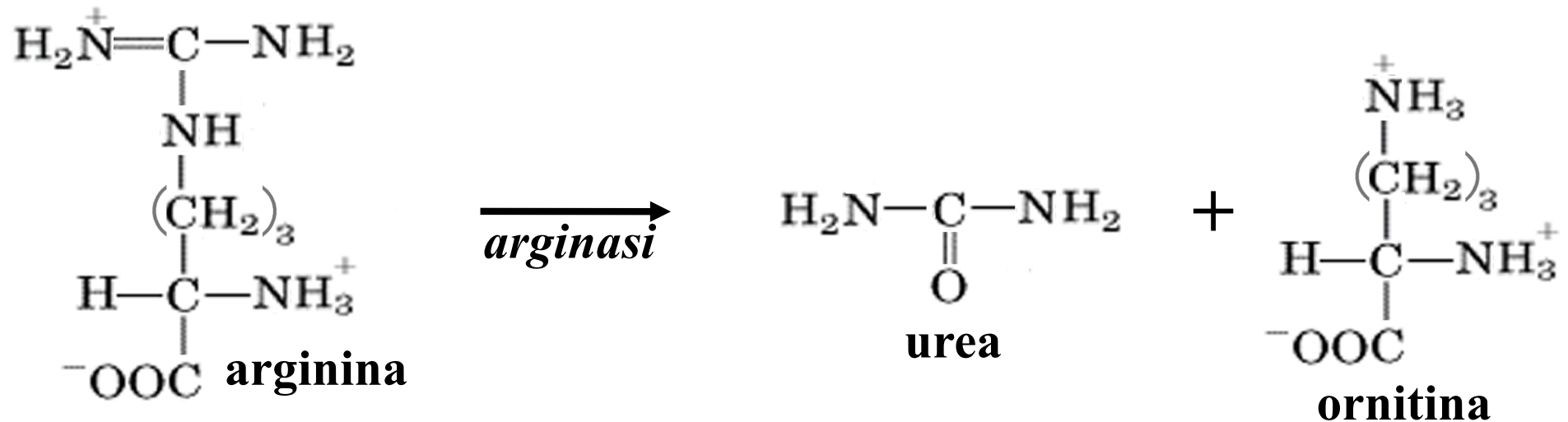


Il fumarato viene trasformato prima in malato (*fumarasi*) e poi in ossalacetato (*malato deidrogenasi, MDH*). **Questi enzimi sono gli stessi del ciclo di Krebs, ma citoplasmatici.** La MDH produce inoltre NADH. L'ossalacetato può generare aspartato, un intermedio del ciclo, grazie all'azione della *transamminasi*.

L'arginina rappresenta il precursore immediato dell'urea.

La reazione 5: sintesi di urea ed ornitina

Nella reazione finale del ciclo dell'urea, si verifica l'idrolisi dell'arginina in urea e ornitina.



L'ornitina può riprendere il ciclo dopo il trasporto nel mitocondrio.

L'urea, molto solubile in acqua, viene rilasciata nel circolo sanguigno che la trasporta al tessuto renale. Da qui viene escreta tramite l'urina.

I collegamenti tra le vie metaboliche riducono i costi energetici del ciclo dell'urea

La sintesi dell'urea richiede 4 gruppi fosforici ad elevata energia (2 ATP per la sintesi del carbammil fosfato, 2 legami fosfoanidridici per la sintesi dell'arginin-succinato).

Tuttavia, l'energia dei legami fosfoanidridici viene recuperata mediante la conversione di fumarato in malato (shunt aspartato-arginin succinato) e la rigenerazione di ossalacetato (NADH prodotto dalla malato deidrogenasi).

Degradazione dello scheletro carbonioso degli aminoacidi

Lo scheletro carbonioso degli aminoacidi viene trasformato in intermedi di altre vie metaboliche.

Sulla base del tipo di intermedio prodotto si possono distinguere due classi di aminoacidi: glucogenici e chetogenici.

Gli **aminoacidi glucogenici** vengono degradati a **piruvato, α -chetoglutarato, succinil-CoA oppure ossalacetato**; tutte queste molecole sono intermedi del metabolismo glucidico.

Gli **aminoacidi chetogenici** vengono degradati ad **acetil-CoA, oppure acetoacetato**; queste molecole sono invece coinvolti nel metabolismo dei grassi.

Pertanto la parte carboniosa degli aminoacidi può portare alla produzione di energia sotto forma di ATP o può essere utilizzata per la sintesi di altre biomolecole.

Biosintesi degli amminoacidi

Gli amminoacidi vengono classificati in essenziali e non essenziali in dipendenza della capacità degli organismi di sintetizzarli.

NON ESSENZIALI

- Alanina
- Asparagina
- Aspartato
- Cisteina
- Glutammato
- Glutamina
- Glicina
- Prolina
- Serina
- Tirosina

ESSENZIALI

- Arginina
- Istidina
- Isoleucina
- Leucina
- Lisina
- Metionina
- Fenilalanina
- Treonina
- Tryptofano
- Valina

Gli amminoacidi non essenziali vengono sintetizzati attraverso vie semplici che partono da quattro intermedi metabolici comuni: piruvato, ossalacetato, α -chetoglutarato e 3-fosfoglicerato.

Le vie metaboliche per la sintesi degli amminoacidi essenziali, presenti solo nelle piante, sono state perse durante l'evoluzione forse a causa della semplice reperibilità di tali molecole.