

TRANSAMINASI E CICLO DELL'UREA

L'energia metabolica ottenuta dagli amminoacidi, sia derivati dalle proteine della dieta, sia dalle proteine dei tessuti, varia notevolmente a seconda del tipo di tessuto e delle condizioni metaboliche dell'organismo.

I carnivori traggono fino al 90% dell'energia di cui hanno bisogno dall'ossidazione degli amminoacidi. Il lupo possiede gli stessi metabolismi che possiede l'uomo, quindi anche il lupo, pur avendo una dieta iperproteica, ha livelli glicemici simili a quelli umani. Questo perché fa moltissima gluconeogenesi, ingerendo pochissimi carboidrati, e utilizza gli amminoacidi, che vengono trasformati in piruvato, così da iniziare il processo di produzione del glucosio. Dato che gli amminoacidi non possono essere immagazzinati, il lupo ha un livello di glucidi nell'organismo molto alto.

DESTINO METABOLICO DEI GRUPPI AMMINICI

Gli amminoacidi che derivano dalle proteine della dieta sono la fonte della maggioranza dei gruppi amminici. La maggior parte degli amminoacidi viene metabolizzata nel fegato. Lo **ione ammonio** generato in questi processi viene in parte utilizzato in una serie di vie biosintetiche, e l'eccesso viene secreto come tale, oppure convertito a seconda dell'organismo in **urea** o **acido urico**, che verranno poi eliminati. L'eccesso di ioni ammonio generati in altri tessuti (extraepatici) giunge al fegato (sotto forma di gruppi amminici) per essere trasformato nelle forme di escrezione.

Quattro amminoacidi hanno un ruolo particolare nel metabolismo dell'azoto:

- Glutammato
- Glutamina
- Alanina
- Aspartato

Questi amminoacidi hanno un ruolo particolare, perché sono convertiti più facilmente in intermedi del Ciclo di Krebs:

- Glutammato e glutamina: vengono convertiti in α -chetoglutarato. Agiscono come punto di raccolta dei gruppi amminici.
- Alanina e aspartato: vengono convertiti in ossalacetato.

Nel citosol delle cellule del fegato, i gruppi amminici della maggioranza degli amminoacidi vengono trasferiti all' α -chetoglutarato, formando glutammato; quest'ultimo entra nei mitocondri, dove perde il suo gruppo amminico sotto forma di ione ammonio (NH_4^+). In gran parte degli altri tessuti, l'eccesso di ammoniaca viene convertito nell'azoto ammidico della glutamina, che viene trasferita al fegato e quindi entra nei mitocondri di queste cellule.

Destino delle proteine ingerite con la dieta

Nell'uomo, le proteine ingerite con la dieta vengono degradate ad amminoacidi liberi nel tratto gastrointestinale. L'ingresso delle proteine della dieta nello stomaco stimola la mucosa gastrica a secernere l'ormone **gastrina**, che a sua volta stimola la produzione di **succhi gastrici**. Il succo gastrico (pH = 1-2.5) agisce sia da antisettico, sia da agente denaturante, poiché denatura le proteine, indebolendo i legami peptidici. Il **pepsinogeno**, un precursore inattivo, viene convertito in **pepsina** attiva, mediante un'attivazione proteolitica, che avviene solo a pH bassi. Nello stomaco, la pepsina idrolizza le proteine ingerite, rompendo i legami peptidici. In questo modo vengono generati di/tri-peptidi a partire da grosse proteine. La **tripsina** e la **chimotripsina**, due enzimi pancreatici, aiutano l'idrolisi dei legami peptidici operata dalla pepsina.

Nel duodeno, il **chimotripsinogeno**, un enzima secreto dal pancreas, rompe i legami peptidici dei di/tri-peptidi, riducendo, quindi, tutte le proteine ingerite con la dieta a semplici amminoacidi. Gli

amminoacidi liberi vengono trasportati nelle cellule epiteliali dell'intestino tenue, poi entrano nei capillari dei vasi dei villi intestinali per giungere al fegato.

Gruppo amminico e ione ammonio

Quando un amminoacido viene selezionato per essere degradato e produrre energia, rispetto ai lipidi e ai glucidi, ha un problema in più, cioè ha un **gruppo amminico**. Fino ad ora si è parlato di metabolismo di sostanze con una catena carboniosa, ma qui si ha un gruppo amminico e la prima cosa da fare dev'essere quella di staccare il gruppo amminico. Il gruppo amminico può dare origine a ioni ammonio, quindi ad ammoniaca, che è un veleno.

Gli organismi non possono accumulare in circolo **ioni ammonio**. Ci sono dei meccanismi che in qualche modo eliminano o utilizzano lo ione ammonio e dall'altro lo inattivano, quindi inibiscono la tossicità. Solo in piccola parte è presente come tale e, nel momento in cui viene liberato, viene idrolizzato, impedendo di agire in qualche modo. Lo ione ammonio viene inserito in una via metabolica che è il **ciclo dell'urea**, che rappresenta il prodotto di escrezione dello ione ammonio.

Eliminazione del gruppo amminico

Il primo problema, ora, è quello di staccare il gruppo amminico dall'amminoacido. C'è un solo amminoacido che è in grado di perdere il gruppo amminico in α e che ha un enzima capace di staccare il gruppo amminico liberando NH_4^+ , tutti gli altri amminoacidi non hanno un enzima che li riconosca e che possano fargli perdere il fosfato. Il **glutammato** è l'unico amminoacido che ha un enzima che stacca il gruppo amminico. Abbiamo 20 amminoacidi e siamo in grado di staccare il gruppo amminico solo da uno di essi. Questo non significa, però, che 19 amminoacidi non vengono catabolizzati, ma c'è una strategia che permette la loro degradazione, dato che gli amminoacidi sono interconvertibili l'uno nell'altro. Cioè, il gruppo amminico di 19 amminoacidi non viene degradato come tale, ma viene trasferito ad un altro amminoacido (il glutammato).

L' α -chetoglutarato rappresenta il meccanismo con cui gli amminoacidi possono perdere il gruppo amminico. In realtà, il gruppo amminico non passa direttamente da un amminoacido all'altro per essere attaccato dall'enzima preposto, ma passa per un intermedio che è l' α -chetoglutarato.

L'**ammoniaca** è un veleno perché è una base, ma anche metabolicamente è tossica, perché in questa reazione (amminoacido \rightarrow α -chetoglutarato \rightarrow glutammato), così come il glutammato può rilasciare lo ione ammonio con una reazione diretta, la reazione è reversibile, quindi anche l' α -chetoglutarato, in presenza di ione ammonio, darà vita al glutammato, quindi se c'è tanto ione ammonio in giro per l'organismo l' α -chetoglutarato viene utilizzato molto e il Ciclo di Krebs si interromperebbe. L' α -chetoglutarato può fare da accettore per il gruppo amminico, ma se c'è tanto ione ammonio, perché non funzionano il rene o il fegato, questo può portare ad una interruzione del Ciclo di Krebs, che si blocca all'isocitrato.

La **glutammato deidrogenasi**, cioè l'enzima che libera il gruppo amminico dal glutammato, è presente nel mitocondrio del fegato. Quando arriva glutammato nel fegato, questo enzima si mette in moto, di fatto non c'è mai ione ammonio in giro (o ce n'è una piccolissima percentuale), perché nel fegato c'è anche l'urogenesi. Lo ione ammonio viene liberato dal glutammato e viene catturato dall'urogenesi, che lo trasforma in urea. La glutammato deidrogenasi c'è anche in altri tessuti.

Il meccanismo di neutralizzazione immediata di ione ammonio è la formazione di glutammina. La glutammina è una donatrice di gruppi amminici e, all'interno dell'organismo, alcune molecole necessitano di gruppi amminici: la glucosammina e la galattosammina hanno bisogno di gruppi amminici per formarsi. La glutammina si forma grazie anche al poco ione ammonio presente in circolo.

Reazioni di transaminazione

Le **transaminasi** sono una classe di enzimi che attuano **reazioni di transaminazione**, cioè staccano il gruppo amminico da un amminoacido per attaccarlo all' α -chetoglutarato. Lo scopo delle reazioni

di transaminazione è quello di raccogliere tutti i gruppi amminici provenienti dagli amminoacidi, di trasferirli all' α -chetoglutarato, che diventa glutammato.

Tutte le transaminasi hanno lo stesso gruppo prostetico, il **piridossal fosfato (PLP)** o **vitamina B₆**. Il piridossal fosfato agisce come un trasportatore di gruppi amminici a livello del sito attivo della transaminasi. Questo cofattore va incontro a trasformazioni reversibili tra la sua forma aldeidica, il piridossal fosfato, che può accettare un gruppo amminico, e la sua forma amminata, la piridossamina fosfato, che può donare il suo gruppo amminico a un α -chetoacido. Il piridossal fosfato è in genere legato covalentemente al sito attivo dell'enzima mediante un legame aldiamminico (**base di Schiff**) con il gruppo amminico di un residuo di lisina.

Le transaminasi sono esempi classici di enzimi che catalizzano reazioni biomolecolari a *ping-pong*. In questo tipo di reazioni il primo substrato deve lasciare il sito attivo perché si possa legare il secondo substrato. Quindi il primo substrato, l'amminoacido, si lega al sito attivo, dona il suo gruppo amminico al piridossal fosfato e si allontana sotto forma di un α -chetoacido. Il secondo substrato, l' α -chetoacido, si lega poi al sito attivo e accetta il gruppo amminico dalla piridossamina fosfato, uscendo sotto forma di amminoacido.

Eliminazione dello ione ammonio

Lo ione ammonio può seguire tre tipi di eliminazione:

- L'uomo (organismo ureotelico) elimina lo ione ammonio sotto forma di urea, quindi in ambiente acquoso, dato che è composto da circa il 70% di acqua.
- I pesci (organismi ammoniotelici) non producono urea, ma eliminano lo ione ammonio direttamente nell'acqua, dato che possono diluirlo nell'ambiente in cui si trovano.
- I serpenti e gli uccelli (organismi uricotelici), che non hanno una grande percentuale d'acqua interna e non vivono in ambiente acquatico, producono acido urico, che, però, viene prodotto sotto forma di precipitato che prende il nome di goano, un prodotto insolubile che viene trasportato fino alla cloaca e che richiede un quantitativo d'acqua relativamente basso.

Ciclo glucosio-alanina

Grazie a una transaminasi, nei tessuti, in particolare quello muscolare, si forma **alanina**. L'alanina è l'amminoacido di cui il muscolo è più ricco ed è la via di uscita dei gruppi amminici nei muscoli. L'alanina esce dal fegato. Nei muscoli è presente anche la **glutammato deidrogenasi**, che libera ione ammonio, il quale viene catturato dal glutammato per generare glutammina, che esce dal fegato. Se un tessuto è ricco di transaminasi, allora verrà prodotta una percentuale maggiore di alanina, mentre

se un tessuto è povero di transaminasi, allora verrà prodotta una quantità maggiore di **glutammina**, dato che la glutammina è solo un processo di pronto intervento in mancanza temporanea di transaminasi. Quindi, dal fegato escono glutammina e alanina, che vanno nel torrente circolatorio e raggiungono il fegato.

Nel fegato, l'alanina va incontro a una transaminazione, di fatto riceve il gruppo amminico dall' α -chetoglutarato, genera così piruvato e glutammato. La glutammina ha invece due gruppi amminici da cedere. C'è un enzima degli epatociti che stacca il gruppo amminico aggiunto in precedenza nei tessuti, generando glutammina, che si trasforma in glutammato, che libera lo ione ammonio sul C- α . Nel fegato mancano le transaminasi degli amminoacidi ramificati, le quali sono presenti solo nel muscolo, tessuto adiposo rene e cervello, quindi solo questi tessuti possono togliere il gruppo amminico a questi amminoacidi. Gli amminoacidi ramificati sono integratori alimentari e arricchiscono i muscoli di chetoacidi, che possono essere utilizzati a scopo energetico.

CICLO DELL'UREA

I gruppi amminici, se non vengono riutilizzati per la sintesi di nuovi amminoacidi o di altri componenti azotati, vengono convertiti tutti in un unico prodotto finale di escrezione.

Negli organismi ureotelici, l'ammoniaca accumulata nei mitocondri dagli epatociti viene convertita in urea mediante il **ciclo dell'urea**. La produzione di urea ha luogo quasi esclusivamente nel fegato ed è il destino metabolico della maggior parte dell'ammoniaca che vi giunge. L'urea passa quindi nel sangue e raggiunge i reni, dove viene escreta tramite le urine.

Il ciclo dell'urea inizia all'interno dei mitocondri degli epatociti, ma le tappe successive avvengono nel citosol. Il primo gruppo amminico a entrare nel ciclo dell'urea deriva dall'ammoniaca presente all'interno dei mitocondri.

Formazione del carbamil fosfato

Gli amminoacidi sorteggiati per essere demoliti cedono il gruppo amminico al glutammato, che arriva al citosol della cellula epatica. Dal citosol esiste un trasportatore per il glutammato che lo fa entrare nel mitocondrio e c'è la **glutammato deidrogenasi** che libera NH_4^+ e genera α -chetoglutarato. Allo stesso modo c'è la glutamina che arriva nel mitocondrio e deve cedere due gruppi amminici: uno è quello in γ e l'altra è quello in α : il gruppo amminico in γ viene liberato ad opera di una **glutaminasi**, mentre il gruppo amminico in α viene liberato ad opera della glutammato deidrogenasi.

Il ciclo dell'urea si compone di quattro reazioni, ma, prima di questo ciclo, è necessario che si formi carbamil fosfato, tramite una serie di reazioni.

- Formazione del carbamil fosfato: per la formazione di carbamil fosfato sono necessarie tre reazioni:

- Formazione del carbossifosfato: il bicarbonato viene fosforilato dall'ATP. L'ATP ha la funzione di innalzare l'energia libera della reazione, che altrimenti non potrebbe avvenire.
- Formazione del carbammato: l'ammoniaca rimuove il gruppo fosforico per generare il carbammato.
- Formazione del carbamil fosfato (carbamil fosfato sintetasi I): il carbammato viene fosforilato per generare il carbamil fosfato. La forma mitocondriale di questo enzima (carbamil fosfato sintetasi I) è diversa da quella citosolica (carbamil fosfato sintetasi II), che funziona invece nella biosintesi delle basi pirimidiniche. Anche in questa reazione c'è l'utilizzo di una molecola di ATP.

Ciclo dell'urea

Il ciclo dell'urea si compone di quattro reazioni:

1) Formazione della **citrullina** da ornitina e carbamil fosfato: la formazione della citrullina è la sola reazione del ciclo dell'urea che avviene nel mitocondrio. L'ornitina non fa parte dei 20 amminoacidi standard presenti comunemente nelle proteine, ma è un intermedio chiave nel metabolismo dell'azoto. L'ornitina svolge un ruolo simile a quello dell'ossalacetato nel Ciclo di Krebs, accettando un'unità di carbamil fosfato ad ogni giro del ciclo dell'urea.

2) Formazione dell'**argininosuccinato** attraverso l'intermedio citrullil-AMP: dalla citrullina non si forma direttamente l'argininosuccinato, ma si forma prima un intermedio, il citrullil-AMP. Il citrullil-AMP deriva dalla reazione tra la citrullina e una molecola di ATP, con la liberazione di un pirofosfato. L'argininosuccinato si forma, invece, dalla reazione tra il citrullil-AMP e l'aspartato (un amminoacido), con la liberazione di AMP.

3) Formazione dell'**arginina** dall'argininosuccinato: l'arginina si forma dall'argininosuccinato, con la liberazione di fumarato (un intermedio del Ciclo di Krebs).

4) Formazione dell'**urea** e dell'**ornitina** a partire dall'arginina: l'ornitina si forma dall'arginina, con l'aggiunta di acqua e la liberazione di urea, la quale mantiene entrambi i gruppi amminici aggiunti in precedenza: quello derivante dallo ione ammonio e quello derivante dall'aspartato.

Relazione tra Ciclo i due cicli di Krebs: ciclo dell'acido citrico e ciclo dell'urea

I due Cicli di Krebs sono correlati tra loro, per il fatto che il **fumarato**, prodotto nel ciclo dell'urea, è anche un intermedio del ciclo dell'acido citrico. I due cicli, di fatto, si può dire che siano collegati tra loro, ma che siano comunque indipendenti l'uno dall'altro.

DESTINO DELLO SCHELETRO CARBONIOSO DEGLI AMMINOACIDI

Una volta che i gruppi amminici sono stati eliminati dall'amminoacido, non rimane che lo scheletro carbonioso. Lo scheletro carbonioso è una fonte energetica importante perché può dar vita, per esempio, ad alcune classi di neurotrasmettitori.

Le vie del catabolismo degli amminoacidi considerate nel loro insieme sono in grado di produrre solo il 10-15% dell'energia totale necessaria all'uomo. Sotto questo punto di vista, le vie di degradazione degli amminoacidi non sono quindi paragonabili alla glicolisi o alla β -ossidazione. Il catabolismo di tutti gli amminoacidi converge verso la formazione di sei prodotti principali, tutti in grado di entrare nel ciclo dell'acido citrico, mediante cui è possibile produrre ATP ed equivalenti riducenti. Gli scheletri carboniosi sono quindi indirizzati alla gluconeogenesi o alla chetogenesi o sono completamente ossidati a CO_2 o H_2O . Per questo motivo, una dieta iperproteica è una dieta da cui può derivare sia energia diretta, mediante la produzione di intermedi del Ciclo di Krebs, ma anche indiretta, mediante la produzione di intermedi, quali piruvato ed ossalacetato, che possono andare verso la produzione di glucosio.

Gli amminoacidi si suddividono in:

- **Chetogenici**: amminoacidi che sono degradati completamente o in parte in acetil-CoA o in acetoacetil-CoA, che possono produrre corpi chetonici nel fegato.
- **Glucogenici**: amminoacidi che sono degradati in piruvato, α -chetoglutarato, succinil-CoA, fumarato e ossalacetato, che possono produrre glucosio e quindi glicogeno nel fegato.

Tetraidrofolato

Il **tetraidrofolato** è un coenzima in grado di trasportare unità monocarboniose, come CH_3 o CH_2OH , a livello di altre molecole per consentirne l'allungamento o la produzione di una nuova molecola. Questo trasportatore è in grado di trasportare ogni tipo di unità monocarboniosa ad eccezione della CO_2 , la quale viene trasportata solo ed esclusivamente dalla **biotina**. Queste unità monocarboniose vengono trasportate mediante dei legami con il gruppo NH in N-5 o in posizione N-10. Tendenzialmente, se si hanno delle unità monocarboniose con valenza singola (es. CH_3) vengono trasportate indistintamente da uno o dall'altro gruppo NH, mentre invece se si devono trasportare unità monocarboniose con due valenze (es. CH_2), che necessita di un doppio legame, questo verrà trasportato a cavallo dei due gruppi NH, ossia si forma un legame singolo con uno e con l'altro.

Trasformazione degli amminoacidi

Ci sono delle trasformazioni a cui possono andare incontro gli aminoacidi.

La **tirosina**, prima porta alla formazione della diidrossifenilalanina, mediante l'aggiunta di un ossidrile, successivamente, mediante una reazione di decarbossilazione, porta alla formazione della dopamina. Dalla **dopamina** si può sintetizzare **noradrenalina**, la quale sintetizza **adrenalina**. La noradrenalina, un neurotrasmettitore, e l'adrenalina, un ormone, svolgono le stesse funzioni, in quanto agiscono entrambe a livello delle terminazioni nervose simpatiche.

L'**istidina**, mediante decarbossilazione, porta alla formazione dell'**istamina**, ossia un neurotrasmettitore che agisce in risposta alle reazioni allergiche, come nel caso del raffreddore da fieno.

Il **triptofano**, mediante l'inserimento di un ossidrile, diventa idrossitriptofano, che viene decarbossilato, trasformandosi in **serotonina**, la quale svolge un compito molto importante, in quanto fa in modo che vengano messi in moto dei meccanismi che mantengono l'equilibrio

funzionale del neurone. Molti farmaci (es. Prozac), che agiscono sulla funzionalità neuronale, tendono a mantenere, o ripristinare, il livello corretto di serotonina.

Patologie

- **Calcoli renali:** la formazione di calcoli renali è una delle più comuni patologie dovute all'accumulo di acido urico, un intermedio della via del catabolismo delle basi puriniche. Come il colesterolo, anche l'acido urico non può essere demolito ed è per questo che può andare incontro ad accumulo. L'acido urico si accumula, perché, quando supera un certo livello ematico, precipita nell'urina e dà origine a calcolosi renale.
- **Fenilchetonuria:** è una malattia mortale, perché i soggetti affetti da questa patologia presentano un difetto genico che provoca la mancanza dell'enzima che sintetizza tirosina a partire dalla fenilalanina, quindi si ha un alto livello di fenilalanina nel sangue.
- **Albinismo:** è una malattia in cui è inesistente la sintesi di melanina. Non ci sono gli enzimi che portano la formazione di melanina dalla tirosina.
- **Urine a sciroppo d'acero:** è una malattia genetica rara, caratterizzata da un accumulo nel sangue dei tre chetoacidi ramificati, che si riversano nelle urine. Questa condizione, a causa del caratteristico odore conferito alle urine, è causata da un difetto del complesso della deidrogenasi degli amminoacidi a catena ramificata.