

## METABOLISMUL PROTEIC

Metabolismul proteinelor este o componentă majoră în metabolismul general, deoarece proteinele realizează toate acțiunile legate de procesul vieții.

Proteinele realizează structura de bază a materiei vii (**rol plastic**), sunt principalele molecule ce realizează procesele biochimice și fiziologice (**rol funcțional**), și secundar sunt utilizate și în **scop energetic**. Aproximativ 15-20% din necesarul zilnic de energie este realizat de proteine. Catabolismul aminoacizilor produce 5,5 kcal/mol.

Din punct de vedere chimic, proteinele sunt macromolecule organice rezultate prin policondensarea unui mare număr de aminoacizi într-o catenă polipeptidică. În procesele metabolice sinteza proteică constă în condensarea aminoacizilor, în timp ce prin hidroliza proteinelor se obțin aminoacizi.

**Necesarul de proteine al organismului pe unitatea de timp** se determină pe plan cantitativ și calitativ.

**Pe plan cantitativ** prin cunoașterea cantității de aminoacizi ce se pierde în unitatea de timp, prin procese biochimice de transformare ireversibilă, cu pierderea azotului din moleculă. Azotul reprezintă 16,5 % din masa proteinelor.

Acest azot se elimină prin urină (95% ca uree), transpirație, fecale. Prin măsurarea continutului de azot al alimentelor ingerate se obține N de aport alimentar, în timp ce prin măsurarea continutului de azot al produsilor de excreție (uree și amoniac din urina și transpirație, proteine nedigerate din fecale) se obține N excretat.

**Diferența** dintre N de aport alimentar și N excretat = **BILANȚ AZOTAT**

Acesta poate avea următoarele valori :

- 0 (zero) - organism sănătos, adult;
- + (pozitiv) - creștere, gestație, lactație, convalescență;
- - (negativ) - boli consumptive, hemoragii, nutriție dezechilibrată.

**Pe plan calitativ**, necesarul de proteine depinde de tipul de aminoacizi conținut de acestea, din punct de vedere al posibilității organismului de a-i putea sintetiza. Astfel, dintre cei 21 aminoacizi proteinogeni:

- 11 sunt **biosintetizabili** (pot fi sintetizați de către organism);
- 2 (Arg, His) sunt **parțial biosintetizabili** (aportul exogen este necesar doar în perioada de creștere, în stare adultă organismul sintetizându-și în întregime necesarul de aminoacid);
- 8 (Val, Leu, Ile, Met, Liz, Phe, Trp, Tre) sunt **nesintetizabili (esențiali)**, aportul lor exogen fiind obligatoriu.

Dacă numai unul din aminoacizii nesintetizabili este deficitar, unele proteine nu pot fi sintetizate și în aceste condiții bilanțul azotat se negativează, indiferent de conținutul celorlalți aminoacizi. În acest tip de deficit, are loc hidroliza proteinelor de structură din mușchi pentru a elibera aminoacidul esențial deficitar, iar restul de aminoacizi rezultați prin hidroliza se catabolizează cu eliminarea azotului.

**Valoarea biologică a proteinelor alimentare** se măsoară prin compararea proporției de aminoacizi esențiali din hrană cu proporția necesară pentru o bună nutriție. Valoarea biologică a proteinelor (V.B.) este un indicator al calității acestora și reprezintă cantitatea de azot proteic reținută de organism dintr-o anumită proteină ingerată.

$$V.B. = (N_{\text{reținut}}/N_{\text{ingerat}}) \times 100$$

O valoare biologică de 100 semnifică faptul că o anumită proteină ingerată este complet utilizată de organism, fără a exista pierderi. Valoarea biologică a proteinelor diferă în funcție de aliment și depinde de o serie de factori, cum ar fi aportul caloric, efortul fizic, cantitatea de proteină ingerată.

### Valoarea biologică a principalelor proteine alimentare

Sursă de proteine	Valoare biologică
Ouă ( albusul de ou )	100
Lapte	93
Pește, carne de vită	75
Porumb	72
Grâu	44

Cantitatea de proteină ingerată este în relație de proporționalitate inversă cu valoarea biologică. Astfel, un aport proteic din preparate lactate în ratie de 0,2 g/kg este asociat cu o valoare biologică de aproape 100, în timp ce creșterea ratiei acestuia la 0,5 g/kg duce la scăderea V.B. la 70.

Pentru aprecierea valorii biologice a proteinelor este utilizată balanța azotată calculată la subiecți a căror dietă, o anumită perioadă de timp, nu conține nici o proteină și cărora, apoi, li se administrează diferite cantități de proteine.

**Valoarea biologică reprezintă practic raportul dintre bilanțul azotat și asimilarea de N proteic.** Un regim alimentar normal, mediu, cu amestec de proteine vegetale și animale are valoarea biologică globală de 70, fiind necesar 1 g proteine/kg corp/zi pentru un adult cu bilanț azotat nul. Dacă valoarea biologică a proteinei este mai mică, necesarul va fi proporțional mai mare. În general, proteinele animale (cu excepția collagenului) au o valoare biologică mai mare decât proteinele vegetale.

În cazul persoanelor vegetariene, pentru ca disponibilitatea aminoacizilor esențiali să fie optimă, este necesar ca dieta acestor persoane să cuprindă simultan, atât cereale, cât și legume, deoarece au un conținut diferit de aminoacizi esențiali. Atât legumele cât și cerealele conțin valină, treonină, fenilalanină, leucină. Cereale, spre deosebire de legume, au un conținut scăzut de izoleucină și lizină, dar sunt surse excelente de metionină și triptofan.

### Digestia și absorbția proteinelor

Proteinele alimentare sunt hidrolizate enzimatic în tubul digestiv până la aminoacizi care sunt absorbiți prin mucoasa intestinală.

Enzimele proteolitice (peptidaze) acționează asupra legăturilor peptidice din proteine și pot fi împărțite în:

- **endopeptidaze** – scindează catena polipeptidică în interior;
- **exopeptidaze (aminopeptidaze și carboxipeptidaze)** – scindează aminoacizii N-sau C - terminali.

Majoritatea acestor enzime se sintetizează sub formă catalitic inactivă, numită **proenzimă** sau **zimogen**, pentru a preveni hidroliza propriilor structuri. Din acest motiv procesul de activare are loc doar în cavitatea gastrică sau lumenul intestinal, pentru ca enzimele activate să acționeze doar asupra proteinelor alimentare. Activarea proenzimelor este un proces de înlăturare a unor capete polipeptidice blocante sau care asigură pliarea lanțului polipeptidic, proces în urma căruia are loc demascarea centrului activ al enzimei proteolitice, ce devine activă catalitic.

Enzimele proteolitice (peptidazele) se găsesc în cele 3 sucuri digestive: gastric, pancreatic și intestinal.

## I. Digestia gastrică

Prima acțiune în procesul de digestie al proteinelor o constituie contactul acestora cu acidul clorhidric din sucul gastric, fapt ce duce la denaturarea lor. Are loc distrugerea structurii terțiare, deplierea catenelor polipeptidice, proteinele denaturate devenind accesibile atacului enzimatic al endopeptidazelor din stomac.

În sucul gastric se găsesc următoarele endopeptidaze: pepsina, gastricsina și chimozina.

- a) **Pepsina** – este secretată de mucoasa gastrică sub formă inactivă de pepsinogen, care la contactul cu HCl sau autocatalitic pierde un fragment polipeptidic de 44 aminoacizi (N terminal) activându-se la pepsină. Acțiunea catalitică a pepsinei constă în scindarea legăturilor peptidice la nivelul grupării amino a aminoacizilor Phe sau Tyr.
- b) **Gastricsina** – reprezintă 1/3 – 1/2 din acțiunea peptidică gastrică la adult, iar la sugar aproape integral. Enzima acționează la un pH optim de 3.
- c) **Chimozina (labfermentul)** – este o enzimă specifică sugarului, acționează la un pH de 4-5 și are rolul de a coagula laptele matern, reținându-l în stomac circa 2 ore. În acest timp are loc hidroliza parțială sub acțiunea gastricsinei a proteinelor din lapte, iar peptidele rezultate pot traversa peretele stomacal, ajungând în circulație.

Enzimele sucului gastric fiind endopeptidaze scindează 1/10 – 1/5 din totalul legăturilor peptidice din proteinele alimentare, rezultând polipeptide scurte.

Poliipeptidele, generate de acțiunea pepsinei stimulează secreția colecistokinazei în duoden, proces ce induce secreția biliară și intestinală.

## II. Digestia intestinală

În lumenul intestinal, produșii digestiei gastrice, polipeptidele, sunt supuse acțiunii enzimelor din sucul pancreatic și a enzimelor mucoasei intestinale, ultimele acționând la nivelul vilozităților intestinale sau chiar în celulele mucoasei intestinale.

### Enzimele sucului pancreatic

**Tripsina** - secretată în pancreas sub forma inactivă de tripsinogen se activează în intestin, pierzând un hexapeptid N terminal sub acțiunea unei enterokinaze intestinale și apoi autocatalitic. Ca acțiune catalitică este o endopeptidază ce acționează la nivelul grupărilor carboxil ale aminoacizilor bazici, Liz și Arg. Pentru a evita leziunile ce pot fi produse de o eventuală activare a tripsinogenului pe traseul pancreas-intestin, sucul pancreatic conține inhibitori (antitripsina) care inactivează tripsina activată accidental în pancreas sau canalele pancreatice.

**Chimotripsina** - secretată în pancreas ca chimiotripsinogen, se activează în intestin sub acțiunea tripsinei ce îndepartează 2 dipeptide (4 aminoacizi) din structura chimiotripsinogenului. Ca acțiune catalitică este o endopeptidază ce acționează la nivelul grupărilor carboxil ale aminoacizilor Phe, Tyr, Trp.

**Elastaza** - secretată ca proelastază, este activată de tripsină în intestin ca elastază. Ca acțiune catalitică este o endopeptidaza care acționează asupra elastinelor și a proteinelor ce conțin aminoacizi neutri hidrofobi Gli, Ala.

**Carboxipeptidaza** - este o exopeptidază produsă prin activarea formei inactive, procarboxipeptidaza și activată la nivel intestinal de tripsină. Ca acțiune catalitică este o exopeptidază ce detașează aminoacidul de la capatul C - terminal al peptidelor.

Produșii finali ai acțiunii sucului pancreatic sunt aminoacizi, di- și tripeptide.

### Sucul intestinal

Aminoacizii, di- și tripeptidele pot traversa peretele intestinal prin sistemul de transport al aminoacizilor și din acest motiv acțiunea peptidazelor intestinale se desfășoară atât la suprafața cât și în interiorul celulelor mucoasei intestinale. S-a stabilit că o mare parte din proteinele alimentare sunt absorbite sub forma unor peptide mici care în interiorul enterocitelor sunt hidrolizate la aminoacizi.

Principalele peptidaze ce acționează la acest nivel sunt :

**Aminopeptidazele** - sunt enzime ce hidrolizează legătura peptidică a aminoacizilor N-terminali, detașându-i de catena peptidică.

**Dipeptidazele** - sunt peptidaze ce hidrolizează legătura peptidică din dipeptide cu formarea a doi aminoacizi.

### Absorbția aminoacizilor

Se realizează la nivelul intestinului subțire, fiind absorbiți doar L-aminoacizii. Procesul de absorbție are loc prin transport activ, dependent de energie și temperatură (transportul se mai poate desfășura și prin mecanism pasiv, prin difuziune, dar acesta este minoritar). S-au identificat 7 sisteme de transport a aminoacizilor, diferențiate după natura aminoacizilor. Prin absorbție, aminoacizii trec în vena portă, ficat, circulația sistemică; concentrația aminoacizilor liberi în sânge variază între 20-30 mg%.

Din mediul extracelular aminoacizii trec în celule printr-un proces de transport activ contra gradientului de concentrație, deoarece concentrația intracelulară a aminoacizilor este de 10 ori mai mare decât în circulație.

Aminoacizii sunt reabsorbiți din urina primară în tubul renal printr-un proces activ. La făt și nou născut pot fi absorbite peptide și prin peretele stomacal, iar prin peretele intestinal (intestin subțire) pot fi absorbite proteine intacte prin pinocitoză. Acest proces este important pentru transferul anticorpilor de la mamă la făt, proces răspunzător de imunitatea nou-născutului în perioada 0 – 6 luni.

### Prelucrarea metabolică a aminoacizilor

Rezerva totală de aminoacizi care se găsesc sub formă liberă în mediul intern și intracelular – 50 g reprezintă **fondul comun al aminoacizilor**.

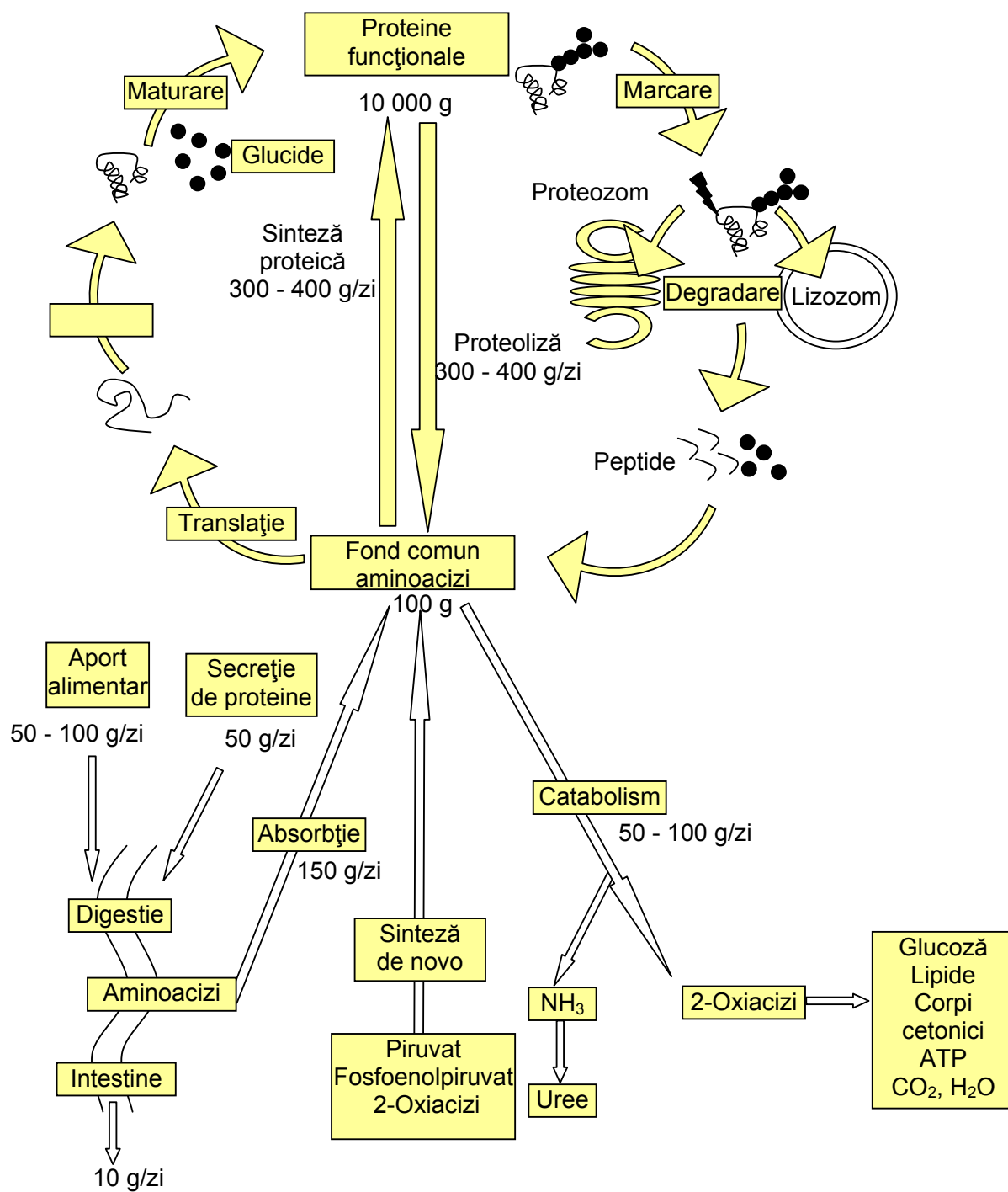
Un aminoacid individual trece de 5-6 ori prin fondul comun până când este degradat ireversibil.

Principalele surse de alimentare cu aminoacizi a fondului comun sunt: aportul alimentar (absorbție intestinală), biosinteza endogenă și catabolismul proteinelor endogene.

Principalele utilizări ale aminoacizilor sunt: sinteza proteinelor și peptidelor – proces prioritar și majoritar, sinteze de compusi nonproteici importanți: hem, baze purinice, baze pirimidinice, coenzime, amine biogene, etc. și secundar substrat energetic (capacitate calorică - 5,5 kcal/g).

Astfel, sinteza zilnică de proteine este de 200-400 g (și aceeași cantitate este degradată), în timp ce aportul alimentar necesar este <100 g. Hormonii de stress (cortizolul, adrenalina) sau citokinele, a căror concentrație crește în diferite condiții de stress, stimulează catabolismul proteic în dauna sintezei.

Aminoacizii sunt catabolizați în principal prin dezaminare și secundar prin decarboxilare.



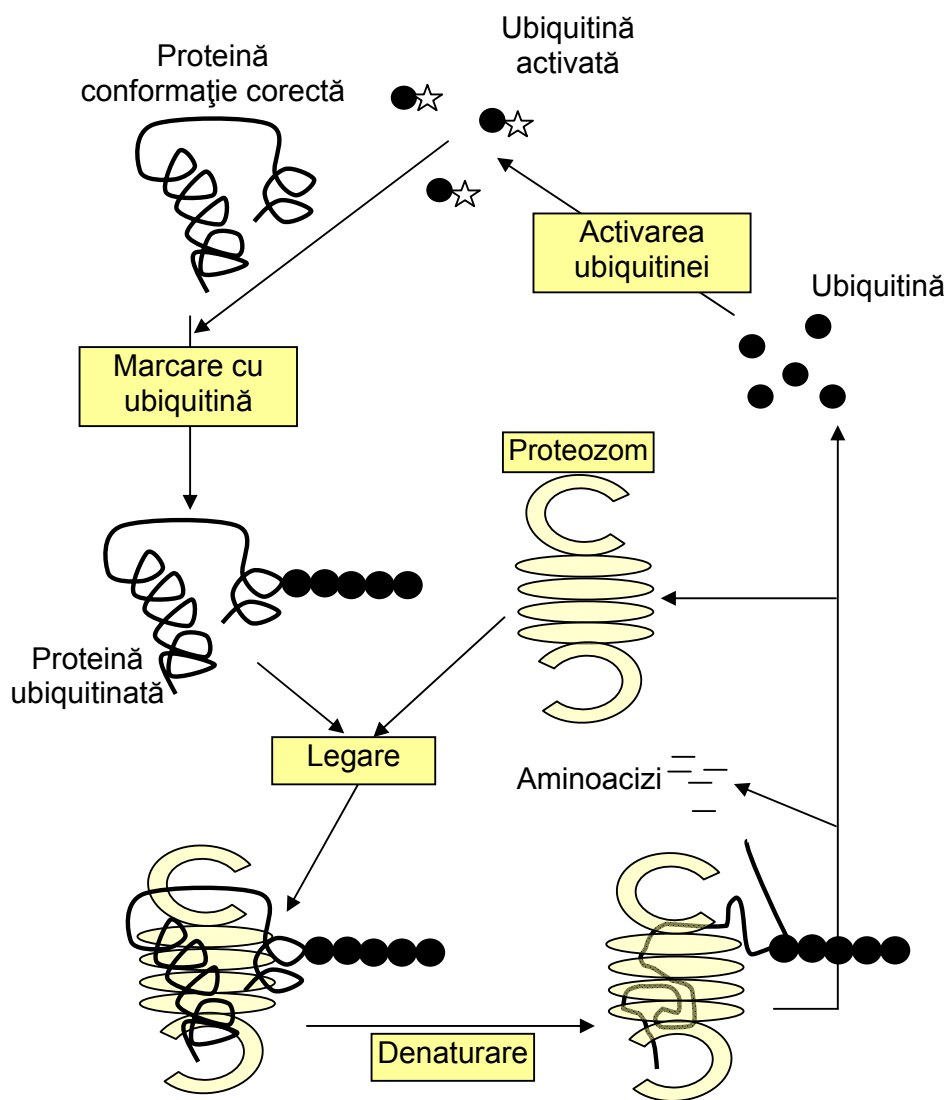
### Sursele fondului comun de aminoacizi

## Regenerarea proteinelor

În cadrul procesului general de regenerare continuă a structurilor celulare, celulele mor și sunt distruse pe baza unui proces de moarte programată (apoptoză), și odată cu ele sunt metabolizate și moleculele componente, inclusiv proteinele.

Moleculele proteice se reînnoiesc continuu, în așa numita **stare dinamică a proteinelor** stabilită cu ajutorul izotopului  $^{15}\text{N}$  ( **$N15$  turnover**): Timpul de reînnoire este diferit (4 zile–fibrinogenul, 10 zile–proteinele din ficat, intestin, pancreas, plasmă, 100 zile–proteinele musculare, Hb, citocromii, 300 zile–colagenul).

Regenerarea proteinelor se bazează pe un proces de catabolism rapid al proteinelor menit să îndepărteze proteinele a căror structură a fost afectată pe parcursul funcționării lor normale, proteinele ce conțin în structura primară aminoacizi incorect inserați, sau enzime ce acționează în punctele de control al căilor metabolice. La eucariote, acest proces are la bază un mecanism ATP-dependent în care este implicată o proteină mică (8,5 kd), globulară numită **ubiquitină**.



## Catabolismul intracelular al proteinelor prin sistemul ubiquitină- proteozom

Ubiquitina se găsește în toate celulele eucariote (de aici îi provine și numele), iar structura sa este aceeași la majoritatea speciilor. Ubiquitina izolată de la drojdie diferă de

cea umană prin doar 3 aminoacizi din totalul de 76. Rolul său este acela de a marca proteinele ce urmează a fi catabolizate, legându-se covalent, prin glicina de la capătul C-terminal, de grupările  $\epsilon$ -amino ale resturilor de lizină din proteina ce urmează a fi catabolizată. Legatura izopeptidică astfel formată necesită un aport energetic, furnizat de ATP. Atașarea ubiquitinei de proteina țintă presupune intervenția a trei enzime numite E1 (enzima activatoare a ubiquitinei), E2 (enzima de conjugare a ubiquitinei), E3 (ubiquitin-protein ligaza) și se desfășoară în trei etape:

1. legarea tioesterică a grupării carboxil C-terminală a ubiquitinei de gruparea sulfhidril a unui rest cisteinic din E1, cu hidroliza a două legături macroergice dintr-un ATP
2. transferul ubiquitinei activate pe o grupare sulfhidril din E2
3. transferul ubiquitinei de la E2 la gruparea  $\epsilon$ -amino a proteinei țintă, catalizat E3.

În degradarea unei proteine nu intervine doar o singură moleculă de ubiquitină, ci patru sau chiar mai multe molecule. Ele formează adevărate lanțuri prin atașarea grupării  $\epsilon$ -amino a unui rest de lizină dintr-o moleculă de ubiquitină de carboxilul terminal al alteia. Intervenția mai multor molecule de ubiquitină este mai eficientă din două motive. Pe de o parte, interacțiunea moleculelor de ubiquitină generează suprafețe de legare, iar pe de altă parte, detașarea uneia dintre molecule nu este urmată de pierderea semnalului ce indică degradarea proteinei.

Degradarea propriu-zisă a proteinelor marcate de ubiquitină este realizată de un complex proteazic numit **proteozom** sau **proteozom 26S**. El este alcătuit din două componente: o componentă cu activitate catalitică cu masa 20S și o componentă cu acțiune reglatoare cu masa 19S. Componenta 20S are o greutate de 700 kDa și este formată din 28 subunități omologe, dispuse în 4 inele, fiecare a câte 7 subunități, dispuse astfel încât să formeze o structură cu aspect de butoi. Cele două inele dispuse la capete sunt numite subunități  $\alpha$  iar cele două inele centrale se numesc subunități  $\beta$ . Siturile active ale proteazei sunt localizate la nivelul capătului N-terminal al unor subunități  $\beta$ , și anume, acele subunități  $\beta$  ce conțin la capătul N-terminal treonină sau serină. Grupările hidroxil ale acestor aminoacizi constituie, alături de grupările amino, grupări nucleofile ce atacă grupările carbonil implicate în legăturile peptidice ale proteinelor degradate, cu formarea unor intermediari acil-enzimă. Proteinele sunt catabolizate progresiv, fără eliberare de compuși intermediari, până la peptide formate din 7-9 aminoacizi.

Componenta 19S are rolul de a controla accesul în interiorul structurii. Are o greutate de 700 kDa și este formată din 20 subunități. Ea se găsește dispusă la ambele capete ale componentei 20S și are proprietatea de a se atașa de lanțurile de poliubiquitină. Componentele cele mai importante ale complexului 19S sunt reprezentate de 6 ATPaze asociate cu reglarea ciclului celular și biosinteza organitelor celulare. Deși nu se cunoaște exact rolul ATPazei, se pare că prin hidroliza ATP-ului, complexul 19S induce modificări conformaționale ale proteozomului 20S ce sunt urmate de pătrunderea proteinei în interiorul complexului. Totodată, complexul 19S prezintă și activitate izopeptidazică ce face ca moleculele de ubiquitină să poată fie detașate și reutilizate, iar proteinele catabolizate până la aminoacizi, sub acțiunea altor proteaze celulare.

Deși nu au fost identificate încă toate semnalele ce declanșează procesul de ubiquitinare a proteinelor, s-a reușit totuși să se evidențieze o parte dintre ele. În acest sens, s-a constatat că timpul de viață ( $t_{1/2}$ ) al proteinelor citosolice este puternic influențat de tipul de aminoacizi de la capătul N-terminal (regula N-terminală). De exemplu, o proteină ce conține la capătul N-terminal metionină are un timp de înjumătățire de peste 20 ore, în timp ce o proteină cu arginină în această poziție are un timp de înjumătățire de aproximativ 2 minute.

## Timpul de viață ( $t_{1/2}$ ) al proteinelor în funcție de aminoacizii de la capătul N-terminal

Aminoacid N-terminal	( $t_{1/2}$ ) proteină
Metionina, glicina, serina, valina, alanina, treonina	>20 ore
Izoleucina, glutamina	30 minute
Tirozina, acid glutamic	10 minute
Prolina	7 minute
Leucina, fenilalanina, asparagina, lizina	3 minute
Arginina	2 minute

Se constată că o serie de aminoacizi, numiți **aminoacizide stabilizatori**, cum ar fi arginina sau lizina, favorizează o ubiquitinilare rapidă, în timp ce alții, numiți **aminoacizistabilizatori** (metionina, prolina) măresc durata de viață a proteinei.

Există și alte tipuri de semnale care marchează proteinele ce urmează a fi catabolizate și care sunt reprezentate de așa numitele casete de distrucție (secvența N-terminală de tipul Arg-Thr-Ala-Leu-Gly-Asp-Ile-Gly-Asn) din structura ciclinelor mitotice, sau de conținutul crescut de prolină, acid glutamic, serină și treonină (secvențele PEST) al unor proteine.

### Semnificații medicale ale regenerării proteice

O serie de procese normale și patologice sunt controlate parțial prin catabolizarea unor proteine: transcripția genelor, ciclul celular, organogeneza, răspunsul inflamator, supresia tumorală, metabolismul colesterolului și procesarea antigenelor.

De exemplu, în cadrul răspunsului inflamator, factorul de transcripție numit NF- $\kappa$ B inițiază expresia genelor specifice după ce este activat. Activarea sa este realizată prin catabolizarea unei proteine inhibitoare, numită I- $\kappa$ B. Această proteină inhibitoare se atașează de NF- $\kappa$ B citoplasmatic și îl menține în stare inactivă. Ca răspuns la semnalele inflamatorii, I- $\kappa$ B este fosforilat la nivelul a două resturi de serină, creându-se astfel un situs de legare pentru E3. Prin atașarea enzimei E3 este inițiată ubiquitinilarea și catabolizarea I- $\kappa$ B, fapt ce duce la eliberarea NF- $\kappa$ B și, implicit, la transcripția genelor țintă.

Un alt exemplu este cel al virusul papiloma uman ce codează o proteină activatoare a enzimei E3. Enzima inițiază ubiquitinilarea factorului supresor tumoral p53, cât și a altor proteine ce controlează repararea ADN, care, în acest mod, sunt distruse. Activarea enzimei E3 a fost evidențiată în peste 90% din cancerle cervicale. Astfel, marcarea necorespunzătoare a unei proteine cu rol reglator important, urmată de distrugerea sa, poate sta la baza tumorigenezei. Nu numai catabolismul rapid al unor factori ce acționează ca și supresori tumoral, ci și incapacitatea de catabolizare a unor proteine implicate în activarea diviziunii celulare (produșii oncogenelor) poate declanșa tumorigeneza.

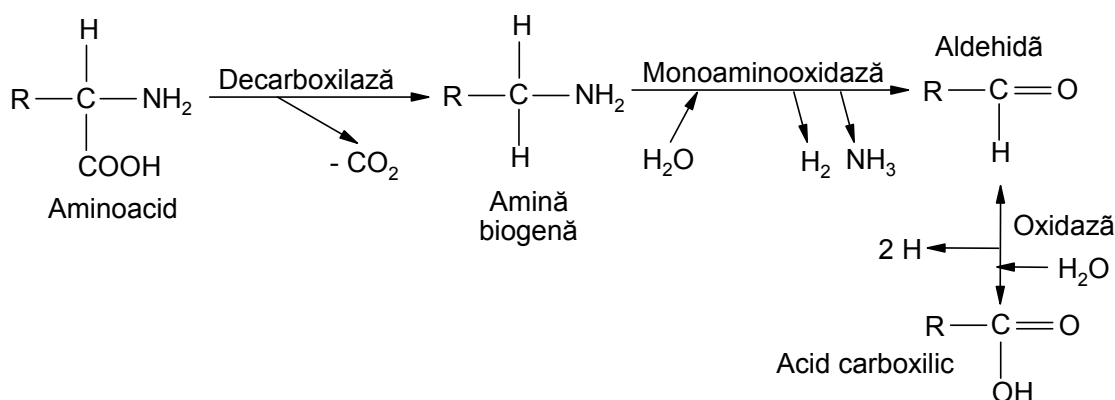
În afara proceselor canceroase, și alte afecțiuni implică distrugerea rapidă sau ineficientă a unor proteine: bolile renale, astmul, afecțiunile neurodegenerative (boala Alzheimer și boala Parkinson – asociate cu formarea unor structuri proteice caracteristice în neuroni), fibroza chistică (determinată în unele cazuri de distrugerea rapidă a canalelor ionice de clor), sindromul Liddle (caracterizat prin lipsa distrugerii canalelor de sodiu în rinichi, fapt ce duce la o absorbție crescută a  $\text{Na}^+$  și instalarea HTA). În prezent, se are în vedere dezvoltarea unor tratamente care să aibă efect inhibitor asupra proteozomilor. Un astfel de medicament este bortezomibul, utilizat în tratamentul mielomului multiplu refractar, al cărui mecanism de acțiune are bază inhibarea NF- $\kappa$ B prin stabilizarea I- $\kappa$ B.



## Catabolismul aminoacizilor

### Decarboxilarea

Deși procesul este redus cantitativ, produșii rezultați sunt amine primare, compuși foarte activi din punct de vedere biologic. Este decarboxilat doar carbonul din poziția  $C_{\alpha}$ . Enzima se numește **decarboxilaza aminoacizi piridoxal-fosfat dependentă**. Excepție face metionin decarboxilaza, care are drept cofactor piruvatul, metionina fiind mai întâi activată la S-adenozil metionină. **Aminele biogene** formate sunt degradate rapid.

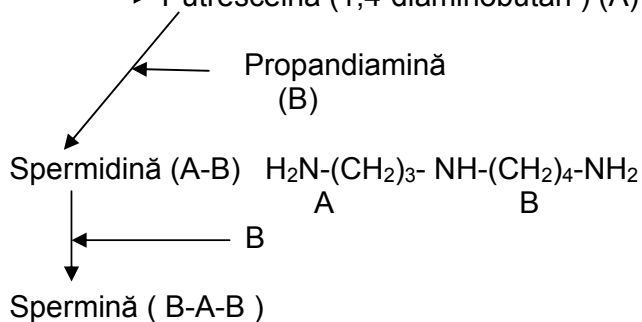


Aminele biogene rezultate de la diferiți aminoacizi sunt :

1. Tyr  $\longrightarrow$  Tiramină – hormon tisular  
 $\longrightarrow$  Catecolamine: Dopamină, Noradrenalină, Adrenalină
2. Trp  $\longrightarrow$  Triptamină – hormon tisular  
 $\longrightarrow$  Serotonină (5'-hidroxitriptamină) – transmițător de influx nervos  
 $\longrightarrow$  Melatonină (5-metoxi-N-acetilriptamină) – hormon tisular
3. His  $\longrightarrow$  Histamină – hormon tisular
4. Ser  $\longrightarrow$  Etanolamină  $\longrightarrow$  Fosfatidilcolamină (fosfatidă)  
(Colamină) (cefalină)
5. Cys  $\longrightarrow$  Cisteamină – componenta activă SH a CoA  
 $\longrightarrow$  Taurină – acizi biliari conjugați
6. Asp  $\longrightarrow$   $\beta$  - alanină  $\longrightarrow$  ac. pantotenic  $\longrightarrow$  CoA  
 $\longrightarrow$  componentă peptide – carnozină, anserină
7. Glu  $\longrightarrow$  GABA ( acid  $\gamma$ -aminobutiric ) – neurotransmițător

8. Liz  $\longrightarrow$  Cadaverina

9. Ornitina  $\xrightarrow{\text{decarboxilază}}$  Putresceina (1,4-diaminobutan) (A)

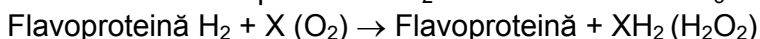
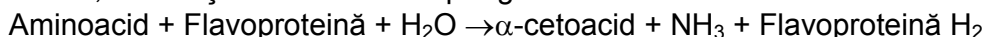


Spermidina și spermina au rol de factori de transcripție la nivel nuclear, participând la procese de diviziune celulară.

### Dezaminarea

Este principala cale de metabolizare a aminoacizilor. Au fost identificate mai multe mecanisme de dezaminare oxidativă, toate formând **cetoacizi și amoniac**.

1. **D-Aminoacid oxidaze flavinice (FAD)** acționează în țesutul renal. Sunt specifice D-aminoacizilor, deci acționează doar asupra glicocolului.



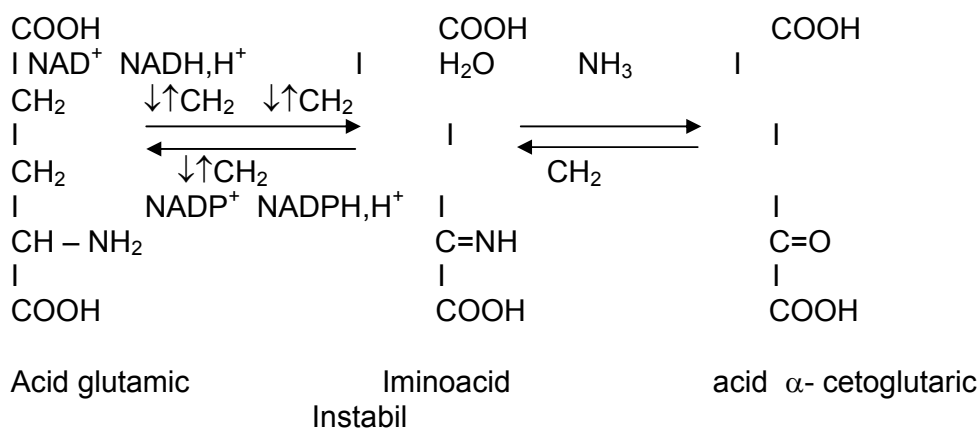
2. **L-Aminoacid oxidaza flavinică (FMN)** acționează în țesutul renal, hepatic. Este legată de matricea celulară; are acțiune slabă.

- Nu acționează asupra aminoacizilor: Gli,  $\beta$  - hidroxilați, diacizi, diamine.

3. **L-Aminoacid oxidaze NAD<sup>+</sup> dependente** sunt foarte active, fiind prezente în toate celulele, cu excepția celulei musculare. Mai importantă este **Glutamat dehidrogenaza NAD<sup>+</sup> dependentă**. Este reglată alosteric astfel:

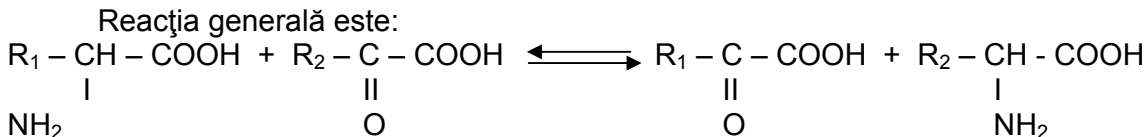
- factori inhibitori sunt: ATP, GTP, NADH
- factori stimulatori sunt: ADP.

Enzima catalizează următoarea reacție :



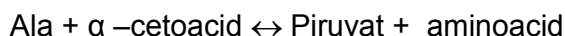
Datorită faptului că glutamat dehidrogenaza este forma cea mai activă, dezaminarea a 70% din aminoacizi se realizează printr-o acțiune cuplată a transaminazelor cu L-glutamat dehidrogenaza.

**Transaminazele** catalizează transferul grupării amino a unui aminoacid asupra unui  $\alpha$ -cetoacid. Enzima are **cofactor piridoxal fosfatul**.



Transaminazele se găsesc în toate celulele, cele mai răspândite fiind:

**a. alanin transaminaza (ALAT, ALT, GPT, TGP)**, care catalizează reacția :



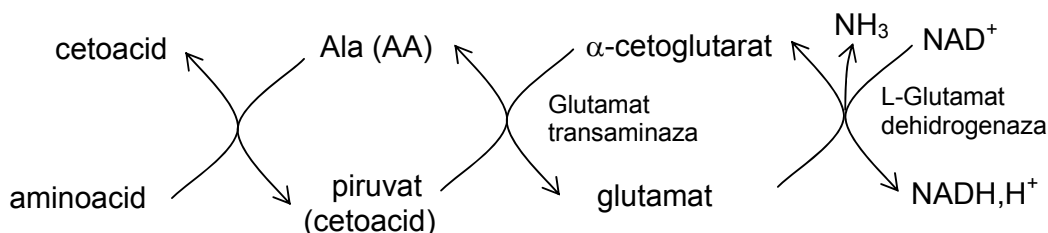
**b. glutamat transaminază (ASAT, AST, GOT, TGO)**, catalizează reacția :



Specificitatea este mare pentru cuplurile: alanină + piruvat, acid glutamic +  $\alpha$ -cetoglutarat și relativă pentru alți aminoacizi .

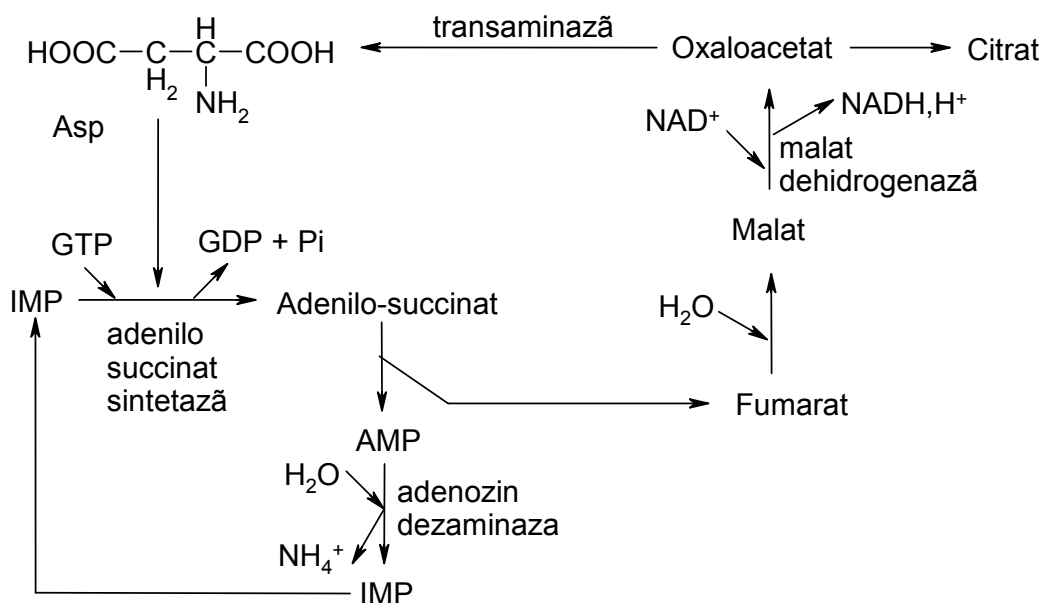
Afinitatea aminoacizilor, în afara acidului glutamic, pentru glutamat transaminază este diferită. 14 aminoacizi au afinitate descrescătoare în ordinea: Asp, Ala, Val, Leu, Ile, Tir, Phe, Met, Trp, Arg, Cis, Gli, His, Ser iar 4 aminoacizi: Thr, Pro, Ho-Pro, Liz nu se pot transamina decât foarte greu.

Deoarece glutamat transaminaza are cea mai mare răspândire și vitezele cele mai mari de reacție, dezaminarea majorității aminoacizilor se realizează în cadrul procesului cuplat.



Deoarece cei 14 aminoacizi au afinitate pentru glutamat dehidrogenază, 14/20 = 70% din aminoacizi sunt dezaminați prin acest procedeu. Pentru restul există mecanisme particulare (acțiune scăzută).

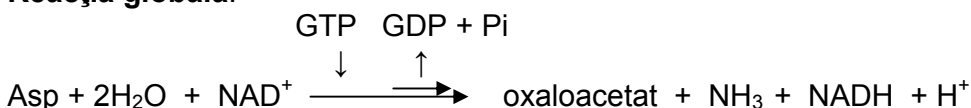
În celula musculară, unde nu există glutamat dehidrogenază, dezaminarea se realizează prin ciclul "purin nucleotidelor". De reținut este faptul că Asp este primul partener al transaminazei glutamice, fiind în echilibru cu Glu.



### Ciclul purin nucleotidelor

( IMP-inozinmonofosfat, AMP-adenozinmonofosfat )

Reacția globală:



### Semnificația medicală a transaminazelor

În clinică, uzual se dozează primele două transaminaze în ordinea afinității pentru substrat, GOT (ASAT) și GPT (ALAT). Enzimele sunt legate de structurile celulare, fiind în concentrație de 10000 ori mai mare în celule decât în ser. Prezența lor în concentrație mare în ser indică:

A ) **Leziuni celulare** – fie de natură inflamatorie fie de natură ischemică (necroză)

B ) **Localizarea țesutului lezat** –ASAT – preferențial celula musculară miocardică  
–ALAT – preferențial celula hepatică.

**Valori normale:** ASAT (GOT): 0 - 19 U/L  
ALAT (GPT): 0 - 23 U/L

### Posibilități de catabolizare a scheletului hidrocarbonat

În procesul de catabolizare al aminoacizilor, fie prin dezaminare, fie prin decarboxilare, rezultă cetoacizi (schelet hidrocarbonat). Aceștia sunt catabolizați în mod specific pentru fiecare aminoacid, cu formarea de diferiți compuși. Cercetările pe animale de experiență supuse unor diete restrictive cu un singur tip de aminoacid, au evidențiat faptul că aminoacizii investigați astfel au produs 3 tipuri de efecte :

1. **Hiperglicemie** – acest tip de aminoacizi a fost inclus în categoria **aminoacizi glucoplastici puri** și cuprinde Ala, Gli, Cis, Ser, His, Tre, Asp, Asn, Glu, Gln, Met, Val, Arg, Pro .

2. **Cetonemie** - acest tip de aminoacizi a fost inclus în categoria **aminoacizi cetoplastici puri** și cuprinde Leu, Liz.

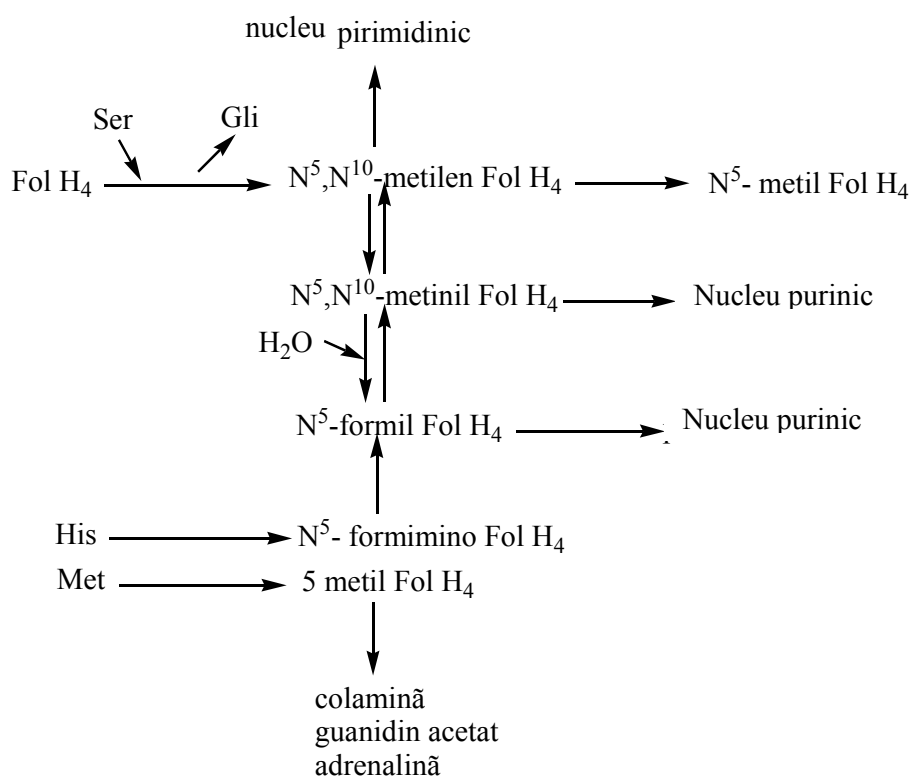
**3. Hiperglicemie și cetonemie** - acest tip de aminoacizi a fost inclus în categoria **aminoacizi micști** = glucoplastici + cetoplastici și cuprinde Trp, Ile, Phe, Tyr.

Descoperirea ulterioară a căilor metabolice a permis explicarea biochimică a fenomenului

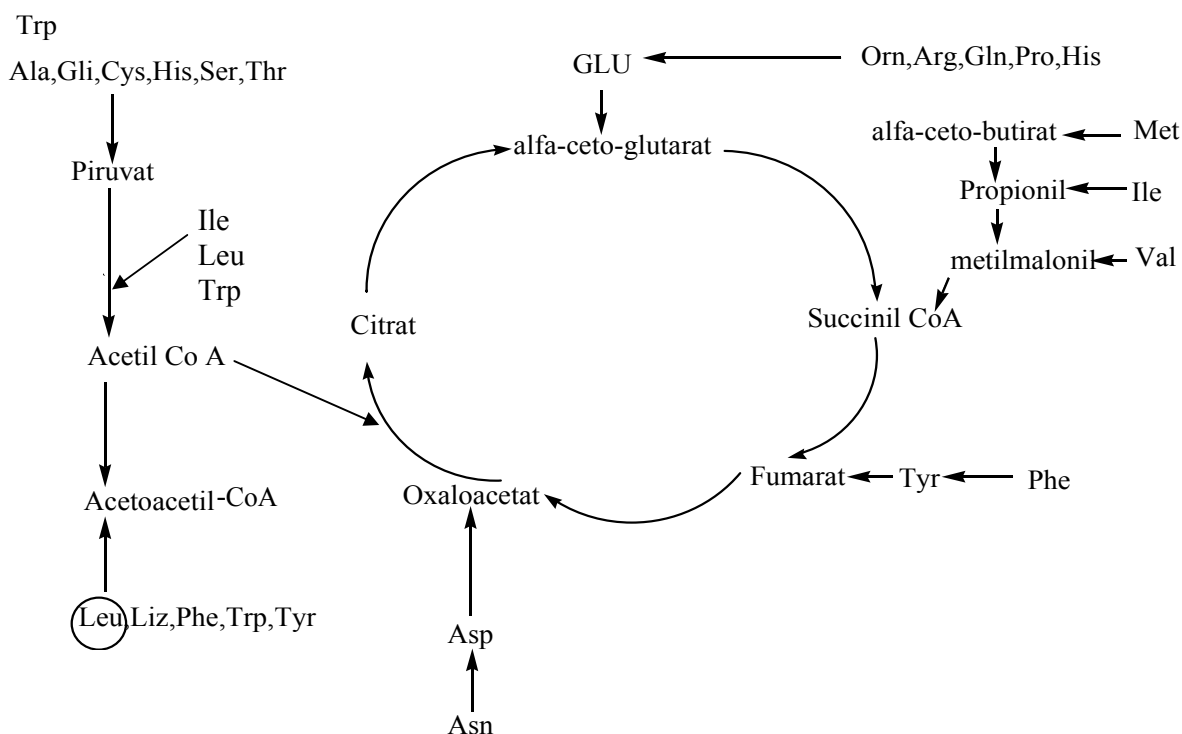
- aminoacizii glucoplastici puri produc prin cataboliza scheletului hidrocarbonat intermediari ai gluconeogenezei (acid piruvic, acid alfa-cetoglutaric, acid fumaric, succinil CoA, acid oxalacetic)
- aminoacizii cetoplastici puri produc prin cataboliza scheletului hidrocarbonat acetilCoA sau acetoacetilCoA
- aminoacizii micști produc prin cataboliza scheletului hidrocarbonat atât intermediari ai gluconeogenezei cât și acetilCoA sau acetoacetilCoA.

Scheletele hidrocarbonate rezultate în urma dezaminării mai pot elibera unități monocarbon (formil, formimino, metil, metilen) în cursul procesului de catabolizare, unități transferate prin intermediul coenzimei FolH<sub>4</sub>.

Unitățile monocarbon au un rol esențial în sinteza bazelor purinice și pirimidinice, deci a acizilor nucleici, în reconstituirea Met, în diferite metilări (colamina, noradrenalina).



**Unitățile monocarbon (formil, formimino, metil, metilen) și rolul lor în sinteza bazelor purinice și pirimidinice și unele reacții de metilare**



### Posibilități de catabolizare a scheletului hidrocarbonat al aminoacizilor

#### Metabolismul amoniacului

Amoniacul este o **substanță toxică (mai ales neurotoxică)**, chiar în concentrații sanguine mici; intoxicația cu amoniac se manifestă prin tremor, pronunția ștearsă a cuvintelor, vedere estompată, apoi în cazurile grave, comă și moarte.

Producția de amoniac este apreciabilă, ținând seama de faptul că, în 24 de ore prin urină se elimină circa 30-50 mmoli amoniac, dar mai ales de faptul că o bună parte din azotul proteic se elimină sub formă de uree (zilnic se elimină 300-600 mmol uree), aceasta provenind de asemenea din amoniac.

Totuși, concentrația amoniacului în plasmă, la om, este în mod normal foarte mică (10–80  $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ , 5–50  $\mu\text{mol}/\text{litru}$ ), deoarece datorită toxicității amoniacul circulă sub formă de glutamină.

Cea mai mare parte a amoniacului este vehiculată sub formă de glutamină care se obține din **acid glutamic** și **amoniac** în prezența **glutaminsintetazei**, enzimă ubicuitară (reacția necesită ATP).

Ficatul și rinichiul captează glutamina din sânge, ele dispunând în mod specific de **glutaminază**, care catalizează hidroliza ireversibilă a glutaminei cu formare de **amoniac** și **acid glutamic**. La nivel renal, amoniacul astfel format în celulele tubulare renale difuzează prin membrana zonei tubulare, unde acceptând protoni dă naștere **ionului amoniu**, care se elimină prin urină. Eliminarea sub această formă a unei părți a amoniacului prezintă importanță în legătură cu menținerea rezervei alcaline a plasmei. **Producția de amoniac crește în acidoza metabolică și descrește în alcaloza metabolică.**

#### Sursele de amoniac ale organismului.

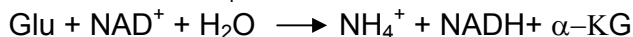
Principala sursă de amoniac o reprezintă procesele biochimice de dezaminare a aminoacizilor. Toți aminoacizii sunt dezaminați prin sistemul  $\alpha$ -cetoglutarat–glutamat, cu excepția glicinei care se dezaminează cu eliberarea directă de amoniac sub acțiunea enzimei glicin oxidaza (cofactor FolH<sub>4</sub>). Pe lângă aceasta se mai generează cantități de

amoniac în catabolismul nucleotidelor pirimidinice și purinice, prin oxidarea aminelor (sub acțiunea monoamino- și diaminooxidazelor), precum și într-o măsură oarecare, prin descompunerea ureei eventual prezente în lumenul intestinal (sub acțiunea ureazei bacteriene, cu eliberare de amoniac, care se absoarbe portal, sângele acestei vene având o concentrație de amoniac, în mod normal, superioară concentrației din sânge). O sursă secundară de amoniac este reprezentată de glutamină (și asparagină), formată din acid glutamic și amoniac (respectiv acid aspartic și amoniac) care, sub acțiunea glutaminazei (respectiv asparaginazei) se poate descompune hidrolitic din nou la amoniac și GLU (respectiv ASP).

### Ureogeneza

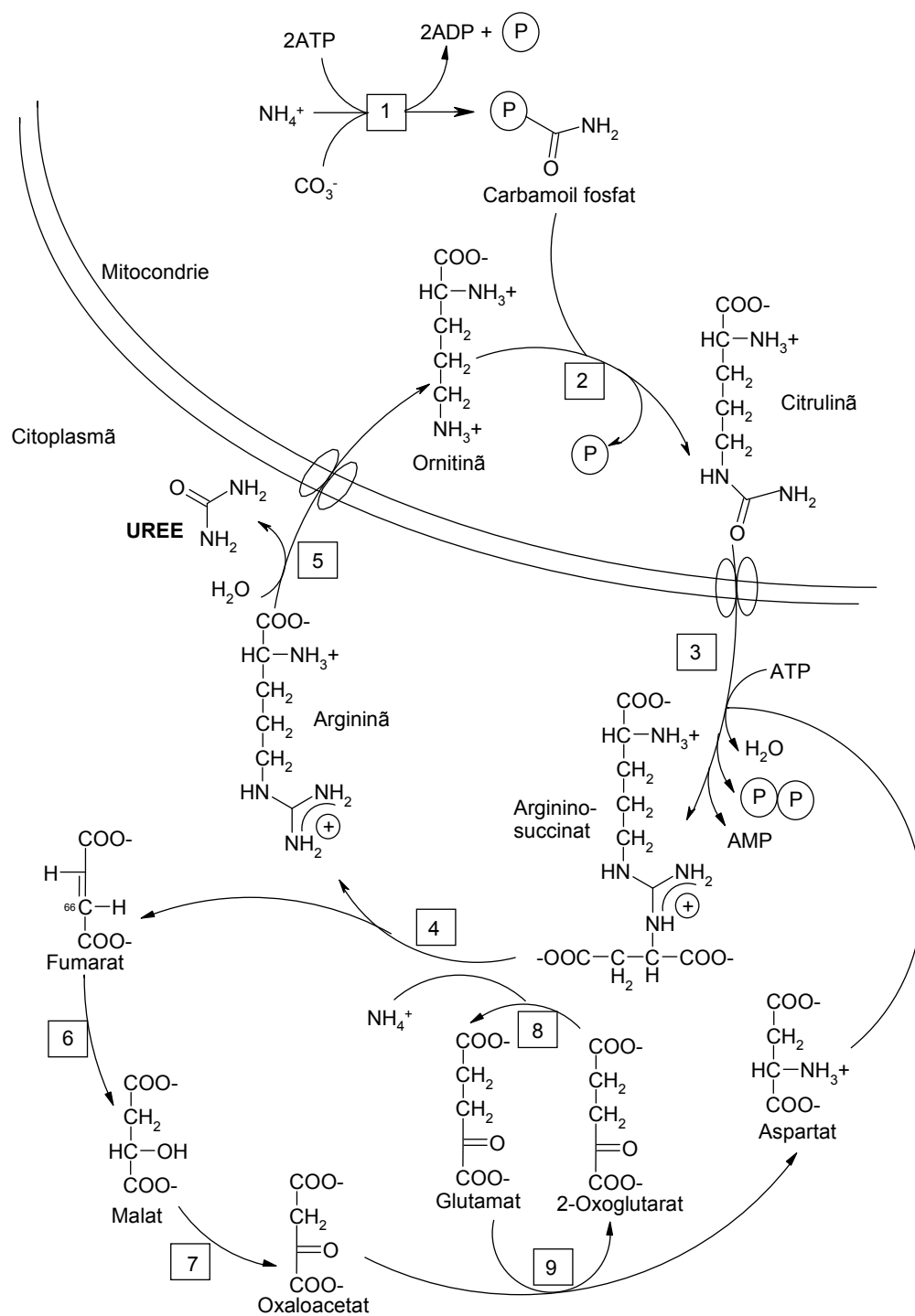
Este primul ciclu biochimic descris de KREBS-HENSELEIT în 1932. Reprezintă mecanismul care asigură eliminarea permanentă a  $\text{NH}_3$  din organism prin transformarea în uree, o substanță solubilă și practic netoxică, care se elimină prin urină, sudoare, sucuri digestive.

Ureogeneza se desfășoară în ficat, realizându-se 0,3-0,6 moli (20-40 g uree)/zi. Cuprinde 5 reacții: primele două se desfășoară în mitocondrie, iar următoarele trei în citoplasmă. Pentru fiecare moleculă de amoniac transformată în uree se consumă energia a 4 legături macroergice de ATP. Sursa de amoniac în mitocondrie este dată de glutamină, care poate elibera 2 molecule de  $\text{NH}_3$ , sub acțiunea succesivă a 2 enzime: glutaminaza și glutamat dehidrogenaza.



Semnificația funcțională a reacției de sinteză a ureii  $2\text{NH}_3 + \text{CO}_2 \longrightarrow \text{UREE} + \text{H}_2\text{O}$  este:

1. Transformarea  $\text{NH}_3$  toxic în uree cu eliminare urinară. Cei doi atomi de N ai ureei provin de la Glu.
2. Obținerea argininei, aminoacid relativ esențial prin reacțiile 2,3,4.



1. Carbamoylphosphate synthetase
2. Ornithine carbamoyl transferase
3. Argininosuccinate synthetase
4. Argininosuccinate lyase
5. Arginase
6. Fumarate dehydrogenase
7. Malate dehydrogenase
8. Glutamate dehydrogenase
9. Aspartate transaminase

### Ciclu ureogenetic



### Semnificația medicală

Nivelul ureei în sânge depinde de:

- producția hepatică
- eliminarea renală

Concentrația serică normală este cuprinsă între 15-45 mg/dL.

Creșterea concentrației de uree poate avea următoarele cauze:

1. **Intensificarea catabolismului proteic**, datorat fie unui **exces proteic alimentar** (1 g uree corespunde catabolizării a 6,25 g proteine), fie **înfometării**, când are loc proteoliză musculară accentuată.
2. **Hemoragii digestive**, urmate de absorbție intestinală intensă a aminoacizilor, catabolismul acestora urmat de ureogeneză intensificată.
3. **Insuficiența renală**. Pentru a verifica acest diagnostic, se determină concentrația altor metaboliți în sânge, de exemplu creatinina, și numai în cazul în care și aceștia au un nivel crescut, se confirmă diagnosticul de insuficiență renală.

### Patologie

Funcționarea defectuoasă a ureogenezei poate avea cauze genetice sau alterarea generală a funcției hepatice, cum ar fi de exemplu în ciroză. În toate aceste cazuri, efectul este o hiperamonemie severă, generatoare de encefalopatie. Aceste boli metabolice datorate funcționării anormale a enzimelor ureogenezei, sunt potențial fatale, producând comă la concentrații mari de amoniac. Un simptom caracteristic este pierderea cunoștinței, consecință a epuizării ATP. Concentrația mare de amoniac consumă acidul  $\alpha$ -cetoglutaric, reducând astfel activitatea ciclului Krebs și implicit producția de ATP.

### Defectele enzimatice de cauză genetică

S-au descris mai multe defecte enzimatice care afectează una sau mai multe enzime ale ciclului ureogenetic. Fiecare defect enzimatic se manifestă prin hiperamonemie și creșterea precursorului enzimei defecte.

- defectul ornitin-carbamoi-P-transferazei  $\rightarrow$  hiperamonemie
- defectul carbamoi- fosfat –sintetazei  $\rightarrow$  hiperamonemie
- defectul arginino-succinat – sintetazei  $\rightarrow$  hiperamonemie + citrulinemie
- defectul argininosuccinazei  $\rightarrow$  hiperamonemie + argininosuccinat
- defectul arginazei  $\rightarrow$  hiperamonemie + hiperargininemie

### Terapia

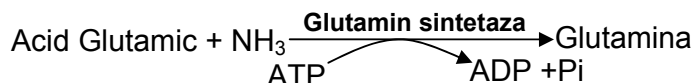
1. Limitarea aportului proteic și înlocuirea aminoacizilor cu  $\alpha$ -cetoacizii corespunzători.
2. Eliminarea excesului de  $\text{NH}_4^+$ , blocând activitatea bacteriilor din colon fie cu antibiotice fie prin administrare de lactuloză ce induce fermentație acidă. Aceasta produce  $\text{H}^+$ , ce se combină cu  $\text{NH}_3$  și se formează  $\text{NH}_4^+$ , împiedicând astfel absorbția portală a  $\text{NH}_3$ .
3. Administrarea de intermediari deficitari în ciclul citric. De exemplu:  $\alpha$ -cetoglutaratul.

### Infecția cu *Proteus mirabilis*

Hidroliza ureei cu urează are loc în corpul uman doar în colon. În infecția urinară cu *Proteus mirabilis*, microorganism ce secretă urează, are loc formarea  $\text{NH}_3$  în urină, ducând la alcalinizarea acesteia. Reacția alcalină a urinei precipită fosfatul de magneziu, cu formarea de calculi renali. Mirosul ascuțit de amoniac din WC publice se datorează activității ureazei microbiene.

## Transportul și metabolizarea $\text{NH}_3$ în organism

Catabolismul aminoacizilor are loc în toate țesuturile, în schimb,  $\text{NH}_3$  rezultat este transformat în uree doar în ficat sau eliminat ca  $\text{NH}_4^+$  doar la nivelul rinichilor. Știind că  $\text{NH}_3$  este neurotoxic, se pune problema transportului  $\text{NH}_3$  din țesuturi în ficat și rinichi. Acest transport este realizat prin intermediul glutaminei.

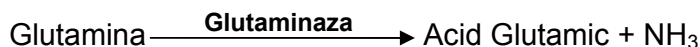


Această reacție permite atât fixarea  $\text{NH}_3$ , din celule, (proces esențial în țesutul nervos) cât și transportul  $\text{NH}_3$  prin intermediul Gln din sânge). În acest sens concentrația plasmatică a Gln este de departe cea mai ridicată (8 mg%) dintre toți aminoacizii din sânge (0,2-0,3 mg %).

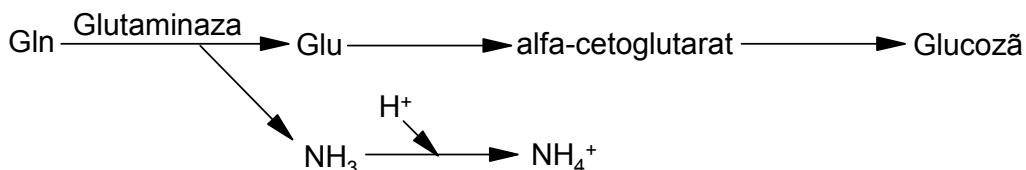
$\text{NH}_3$  transportat de Gln va fi pus la dispoziția țesuturilor pentru:

- ureogeneză - în ficat
- amoniogeneză - în rinichi
- sinteze de baze purinice și pirimidinice, sinteze de aminoglucide, aminoacizi în toate țesuturile.

Majoritatea  $\text{NH}_3$  va fi utilizat în ficat și în rinichi. Gln este captată de ficat, care în zona periportală are concentrate enzima glutaminaza și enzimele ureogenezei.



Cantitatea de  $\text{NH}_3$  ce va fi transformată în uree în ficat depinde de echilibrul acido-bazic al organismului. În caz de acidoză, o mare parte de  $\text{NH}_3$  din ficat este fixat din nou ca Gln (zona perivenoasă a ficatului este bogată în glutamin sintetază) și sub această formă ajunge în rinichi. În rinichi, sub acțiunea glutaminazei, Gln se transformă în Glu și  $\text{NH}_3$ , care va fixa  $\text{H}^+$ , transformându-se în  $\text{NH}_4^+$ , eliminat pe cale urinară. Eliminarea  $\text{NH}_4^+$  substituie eliminarea de  $\text{Na}^+$  și  $\text{K}^+$  protejând astfel rezerva alcalină a organismului.



În caz de acidoză, mai mult de 50% din totalul  $\text{NH}_3$  ajunge în rinichi. În acidoză, scade astfel ureogeneză, scăzând și consumul de  $\text{HCO}_3^-$ . Astfel creșterea  $\text{HCO}_3^-$  va reduce de asemenea acidoza. În concluzie, utilizarea  $\text{NH}_3$  în organism depinde în primul rând de echilibrul acido-bazic al organismului.

## Relații tisulare în metabolizarea aminoacizilor

Ca și în cazul altor metaboliți, nivelul aminoacizilor în sânge este menținut la valori relativ constante prin acțiunea conjugată a mai multor țesuturi, dintre care țesutul hepatic și cel muscular joacă rolurile principale. Ficatul este organul ce realizează toate operațiunile de prelucrare a aminoacizilor. Dintre acestea, ureogeneză și gluconeogeneza sunt localizate exclusiv în ficat. Mușchii reprezintă țesutul de depozit al aminoacizilor sub forma proteinelor musculare. Alte țesuturi implicate sunt: țesutul renal cu rol în amoniogeneză și metabolismul Gln și țesutul intestinal, poarta de intrare a aminoacizilor din surse alimentare. Metabolizarea aminoacizilor în organism urmează, ca și în cazul

glucidelor și lipidelor, cele 2 etape fiziologice importante: postprandial precoce și postprandial tardiv.

### A. Postprandial precoce

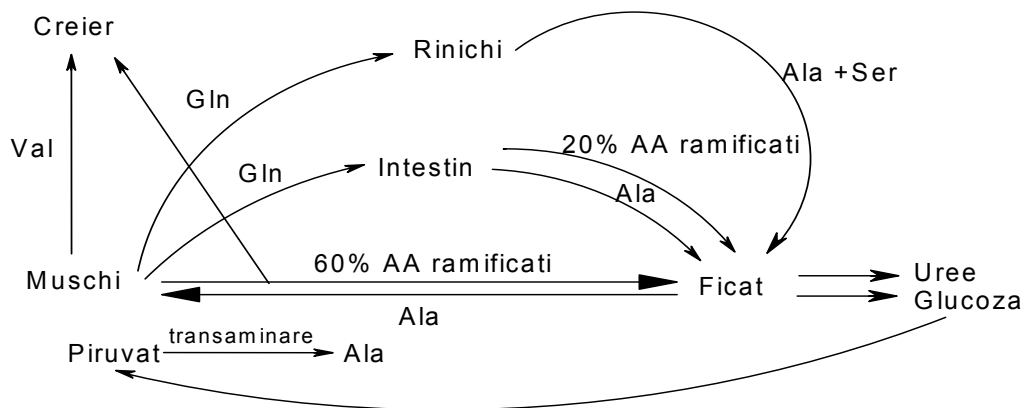
În urma aportului alimentar, a digestiei proteice și a absorbției intestinale a aminoacizilor, în vena portă crește cantitatea de aminoacizi, dintre care aproximativ 20% sunt aminoacizi ramificați. Pe această cale ajung în ficat, care acționează ca un filtru, reținând cea mai mare parte a aminoacizilor și lăsând să treacă în circulație excesul de aminoacizi. Ficatul nu reține aminoacizi ramificați, astfel că aceștia vor reprezenta peste 60% din aminoacizii eliberați în circulație. Din sânge, aminoacizii sunt captați de țesuturi, dintre care cel mai activ este țesutul muscular. Într-o perioadă de 1-3 ore de la aportul alimentar, țesutul muscular extrage întreaga cantitate de aminoacizi excedentari din sânge. Aceștia sunt dezaminați sau prelucrați pentru obținerea de proteine musculare de depozit specifice. Excepție fac aminoacizii ramificați, al căror schelet hidrocarbonat nu va fi modificat. Explicația constă în faptul că aminoacizii ramificați trebuie să aibă o concentrație constantă în sânge, deoarece constituie o sursă energetică importantă a țesutului cerebral. Din acest motiv, țesutul muscular va asigura permanent menținerea acestei concentrații în sânge, indiferent de etapa fiziologică.

### B. Postprandial tardiv

În perioada de înfometare are loc metabolizarea rezervelor. Astfel, în mușchi se desfășoară un proces de proteoliză intensă, în urma căruia rezultă aminoacizi ce vor fi eliberați în circulație. Majoritatea acestora (peste 50%) este reprezentată de Gln și Ala.

Ala – este captată în special de țesutul hepatic, deoarece constituie un precursor pentru gluconeogeneză. Afinitatea ficatului pentru Ala este dată de faptul că nivelul de saturație al Ala din ficat este de 20-30 ori mai mare decât nivelul seric al Ala.

Gln – este și un transportor al grupărilor amino rezultate din catabolismul muscular al altor aminoacizi. Gln este captată de intestin și rinichi, unde, după dezaminare, se transformă în Ala și Ser, aminoacizi ce vor fi eliberați în circulație. De aici, datorită afinității deosebite a ficatului pentru aceștia, vor fi captați de ficat și utilizați în gluconeogeneză sau în ureogeneză.



**Metabolizarea aminoacizilor postprandial precoce și postprandial tardiv**