

Reazioni di fase 2 (coniugazione)

- **Glucuronazione**
- **Solfatazione**
- **Acetilazione**
- **Metilazione**
- **Coniugazione con glutatione (formazione di acidi mercapturici)**
- **Coniugazione con aminoacidi (glicina, taurina, acido glutammico)**

- Le reazioni di coniugazione sono in genere molto più veloci di quelle di biotrasformazione.
- Quindi, la velocità di eliminazione è determinata dalle reazioni di biotrasformazione.
- I composti idrofili, sono in genere metabolizzati direttamente attraverso le reazioni di coniugazione, mentre i composti lipofili richiedono una reazione preventiva di biotrasformazione che crei gruppi nucleofili.
- Le reazioni di coniugazione richiedono energia

La coniugazione con l'acido glucuronico

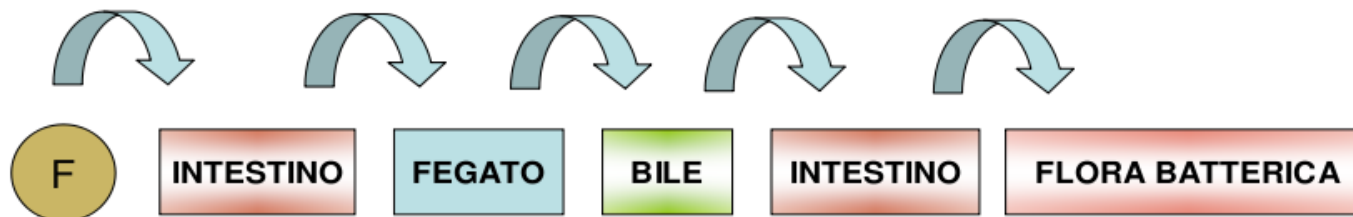
La Glucuronazione | *caratteristiche*

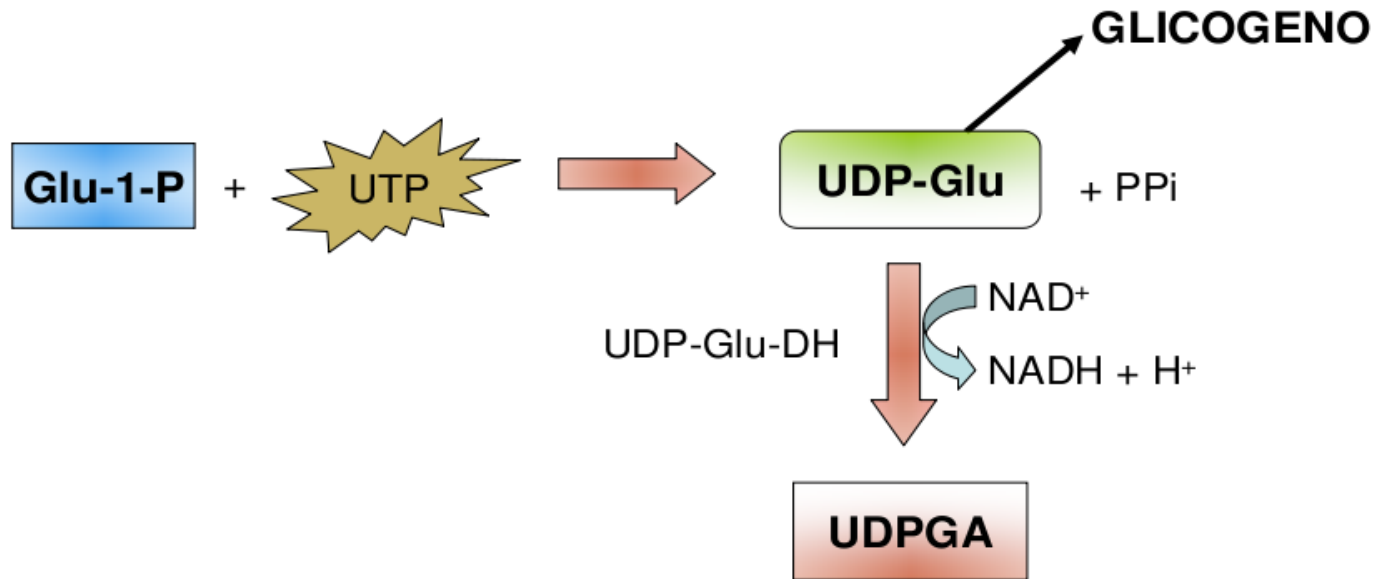
- Coniugazione con acido glucuronico \Rightarrow formazione di β -glucuronidi, altamente idrofili.
- I glucuronidi possono essere escreti con la bile, ma anche dai sistemi di trasporto tubulari renali.
- Si forma un legame covalente tra un atomo nucleofilo dello xenobiotico (O, N, S) e l'atomo di Carbonio 1 della molecola di acido glucuronico

Eliminazione

- I glucuronidi formati nel fegato possono essere escreti con la bile oppure passare nel sangue ed essere escreti dai reni
- Il modo di escrezione è determinato dalle dimensioni molecolari del glucuronide:
 - i glucuronidi più grandi sono eliminati per via biliare
 - quelli più piccoli per via renale

prodotti della glucuronazione → substrato per le β -glucuronidasi nella flora intestinale





- L'acido glucuronico è prima 'attivato' con formazione di uridin-difosfato-acido glucuronico (UDP-acido glucuronico)
- L'enzima che catalizza la reazione tra lo xenobiotico e l'Ac. glucuronico è l'UDP-glucuronosiltransferasi

- Esistono diverse isoforme di UDP-glucurunitransferasi, ciascuna con una relativa specificità.
- Alcune isoforme sono inducibili.
- Diversi composti endogeni (ormoni steroidei, ormoni tiroidei, bilirubina ecc.) sono escreti come glucuronidi.
- Gli induttori, somministrati cronicamente, possono causare tumori tiroidei in ratti e topi (ma probabilmente non nell'uomo); l'aumento dell'attività enzimatica aumenta infatti la formazione del glucuronide della tiroxina, accelerandone l'eliminazione \Rightarrow aumento dei livelli di TSH (ormone tireotropo) \Rightarrow neoplasia.

- La glucuronazione è una reazione detossificante
- Tuttavia i β -glucuronidi formati possono essere idrolizzati dalla β -glucuronidasi della flora intestinale
 - ⇒ liberazione dello xenobiotico (o del suo metabolita)
 - ⇒ ri-assorbimento
 - ⇒ circolo entero-epatico.
- Gli xenobiotici possono inoltre essere ulteriormente metabolizzati con formazione, in alcuni casi, di metaboliti reattivi tossici.
- I β -glucuronidi possono anche idrolizzarsi spontaneamente al pH acido urinario ed essere metabolizzati a composti reattivi tossici a livello della vescica urinaria (es. 2-naftilammina)

Il metabolismo della bilirubina e gli itteri congeniti



Hijmans van den Bergh

patologo e clinico olandese
(1869-1943)

La bilirubina

La bilirubina è un pigmento di colore giallo-rossastro, contenuto nella bile ed è un prodotto del catabolismo dell'emoglobina nei vertebrati.

La parola deriva dal latino bilis, bile, e ruber, rosso.

Le fonti di origine della bilirubina

Possono essere distinte in:

-*quota emocateretica*:

proviene dalla distruzione fisiologica dei globuli rossi

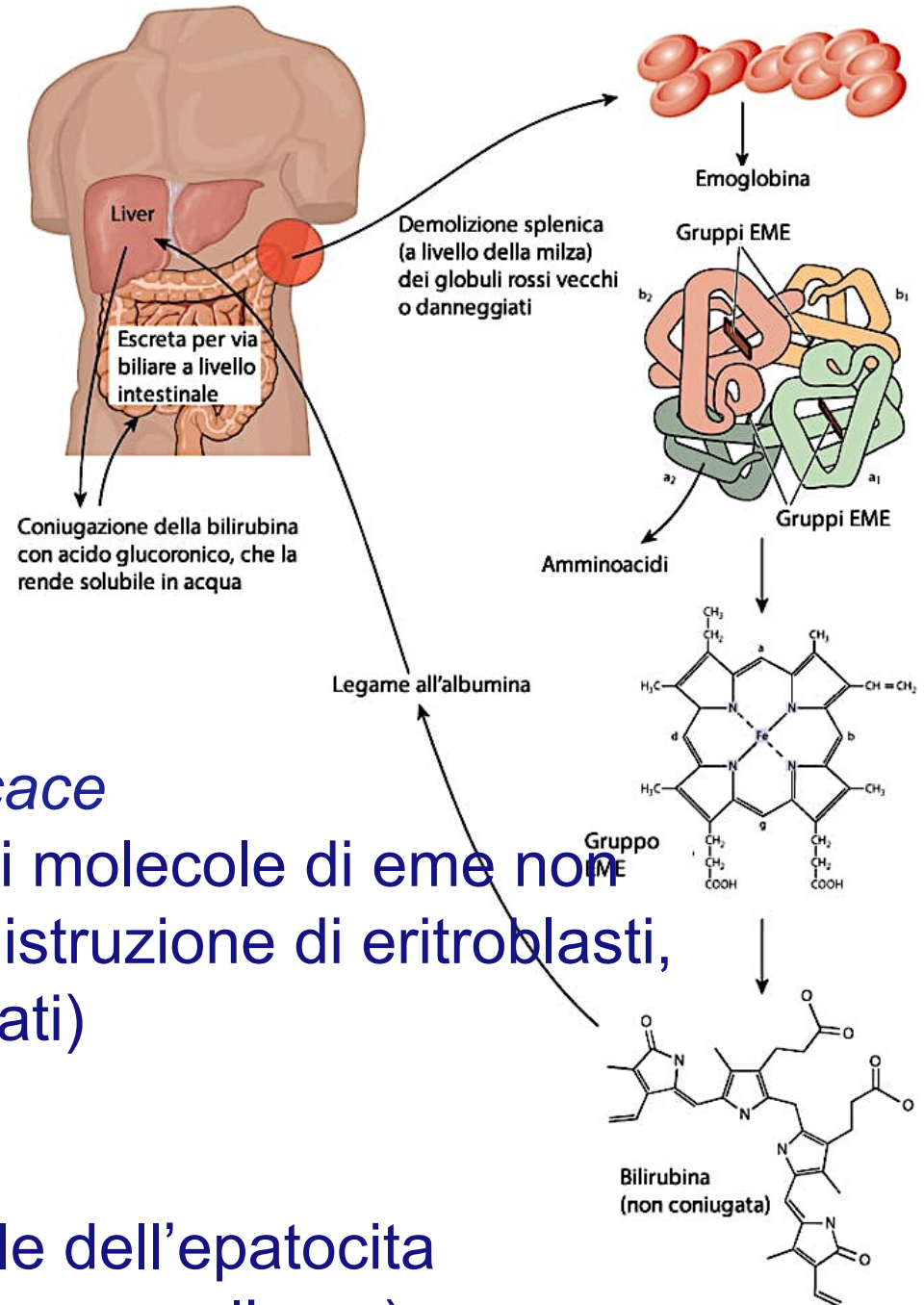
-*quota eritropoietica*:

- proviene dalla *eritropoiesi inefficace*

(cioè dal catabolismo midollare di molecole di eme non utilizzate nell'eritropoiesi e dalla distruzione di eritroblasti, reticolociti e globuli rossi neoformati)

-*quota epatica*:

deriva dal catabolismo di molecole dell'epatocita
-(essenzialmente enzimi che contengono l'eme)

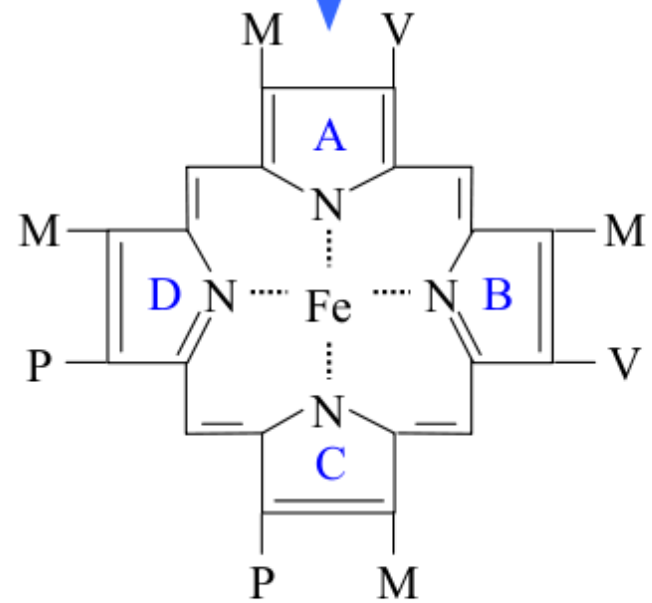


Milza:

M = metile
V = vinile
P = propionato

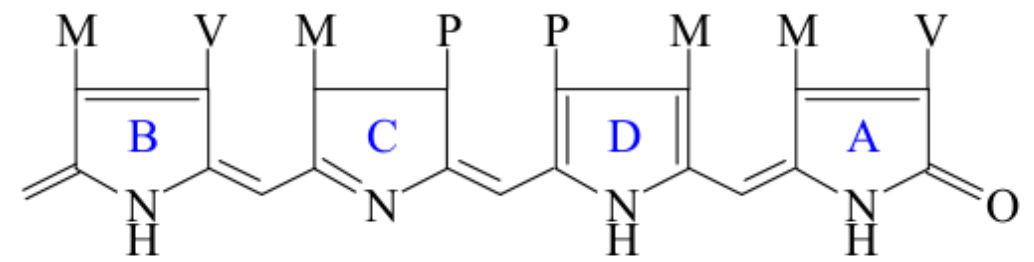
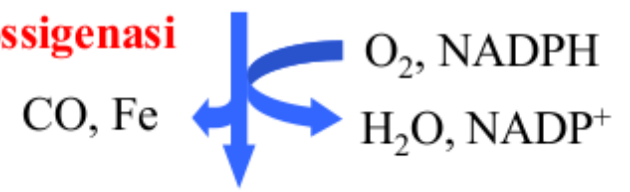
10⁸ eritrociti/h
6 g Hb/die

emoglobina



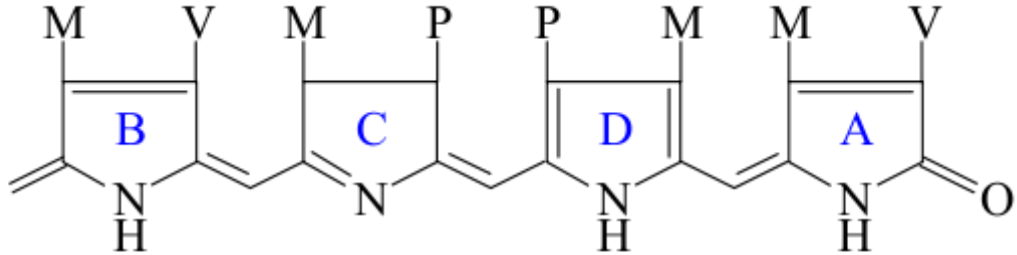
eme

eme ossigenasi



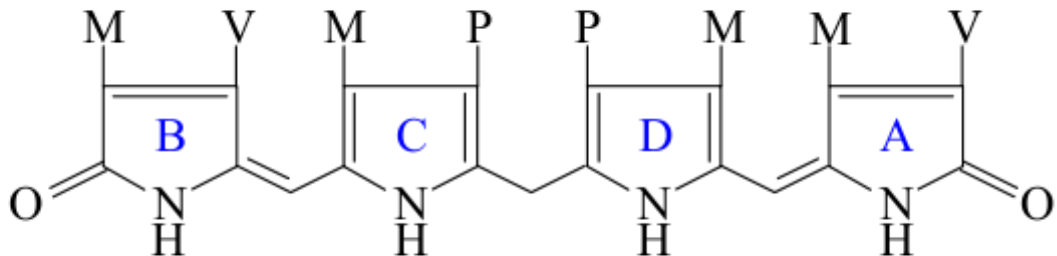
biliverdina

Milza:



biliverdina

biliverdina reduttasi NADH
NAD⁺

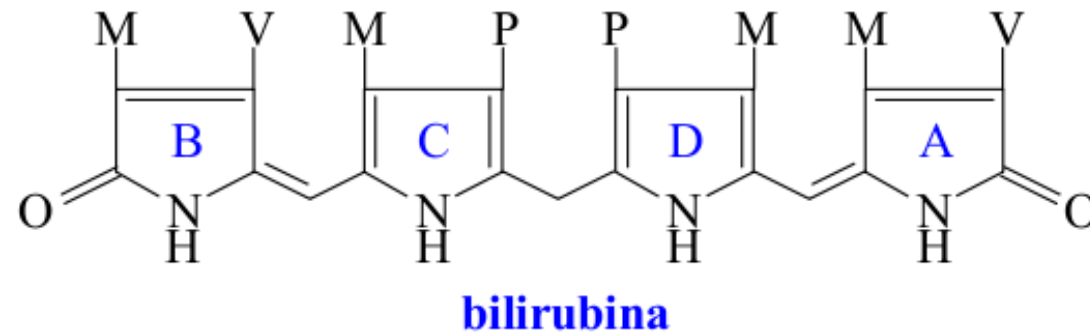


bilirubina

250 mg/die

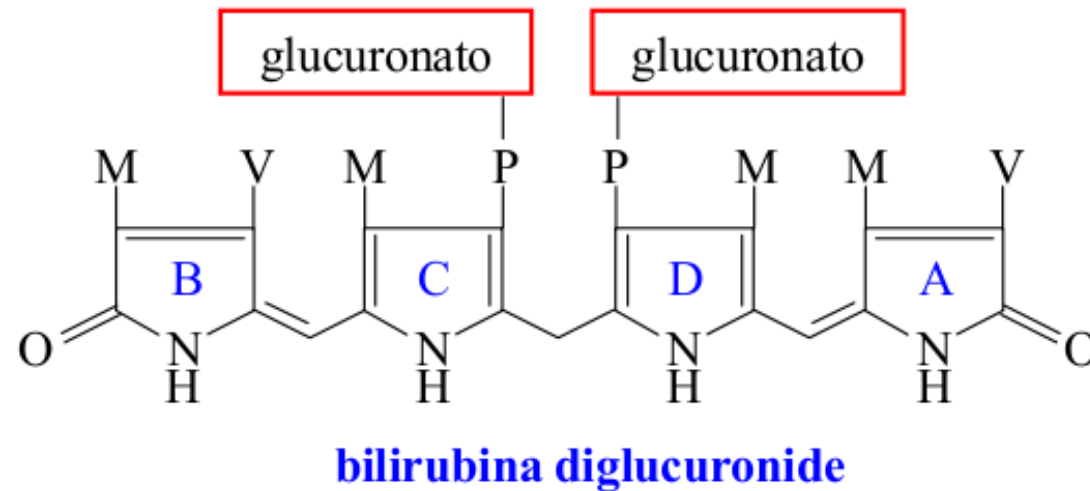
Fegato:

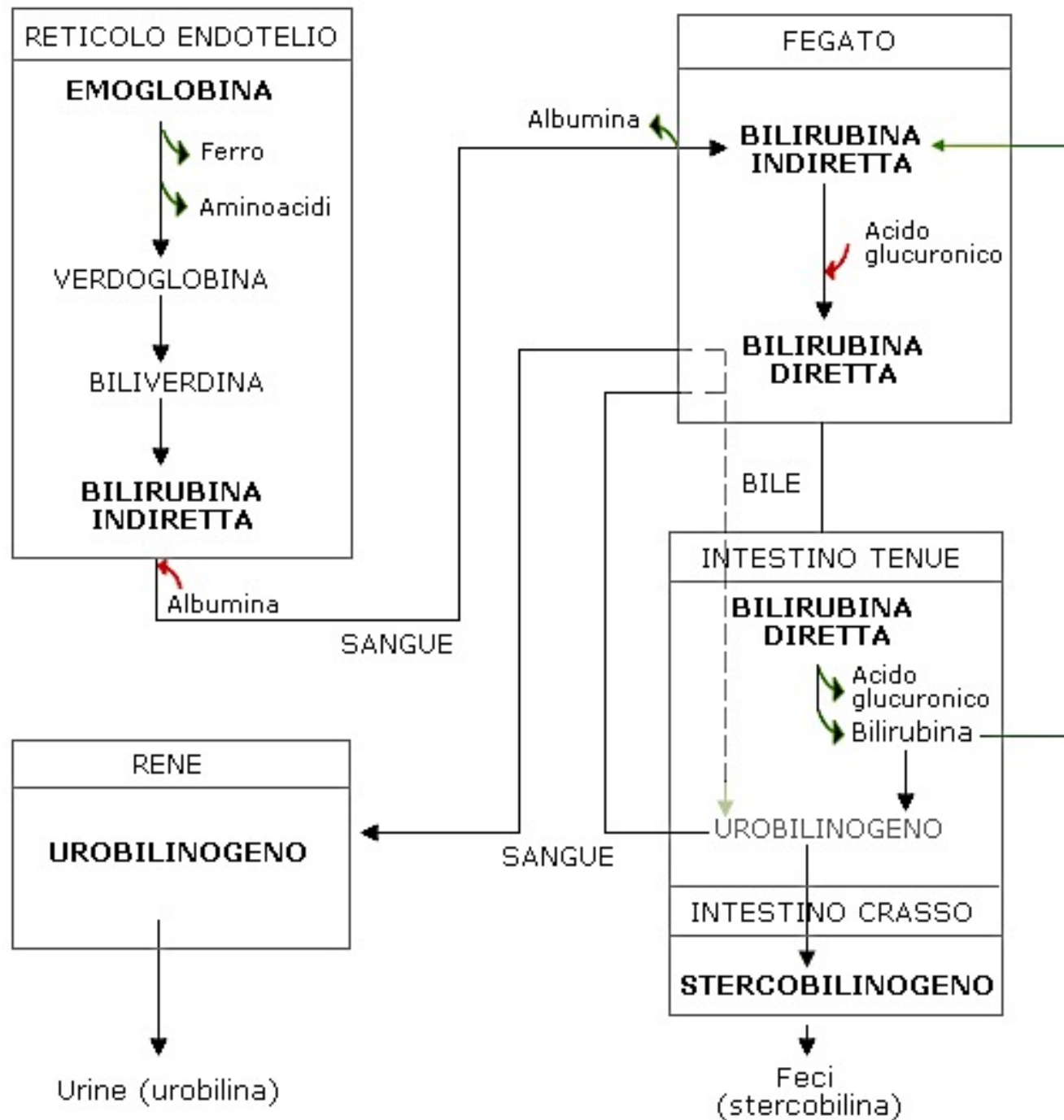
albumina



glucuroniltransferasi

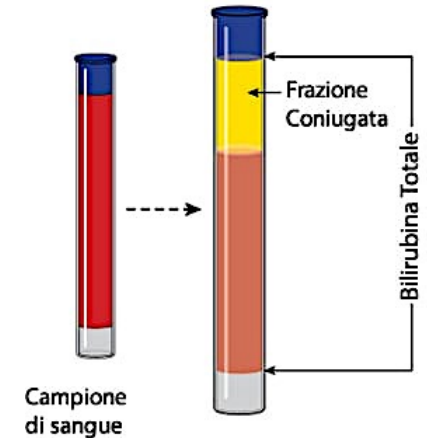
2 UDPglucuronato
2 UDP





Bilirubinemia totale e frazionata

(Reazione di van den Bergh)



Bilirubina totale

Valori di riferimento: 0,4-1 mg/dl

coniugata
0-0,4 mg/dl

legata all'albumina
0,4-1 mg/dl

Bilirubina diretta

Reazione diretta di van den Bergh

Sali di diazonio + bilirubina



composti azoici colorati

Bilirubina indiretta

Reazione indiretta di van den Bergh

Solvente organico

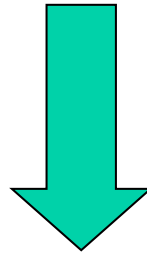


Sali di diazonio + bilirubina



composti azoici colorati

Quando la concentrazione di bilirubina
nel sangue supera 1mg/dl



Iperbilirubinemia

Ittero

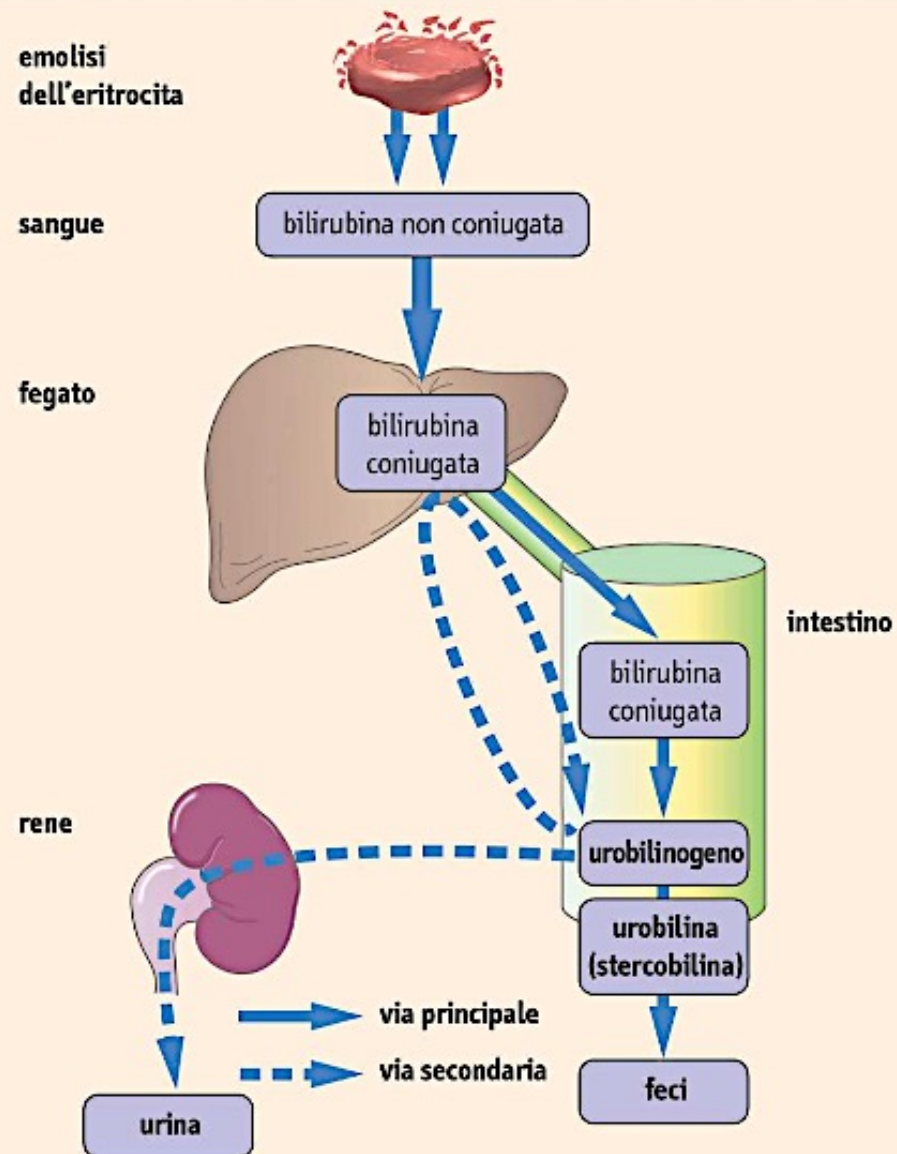
(dal greco *icter* giallo)

Si definisce ittero una sindrome caratterizzata da **colorazione gialla**:

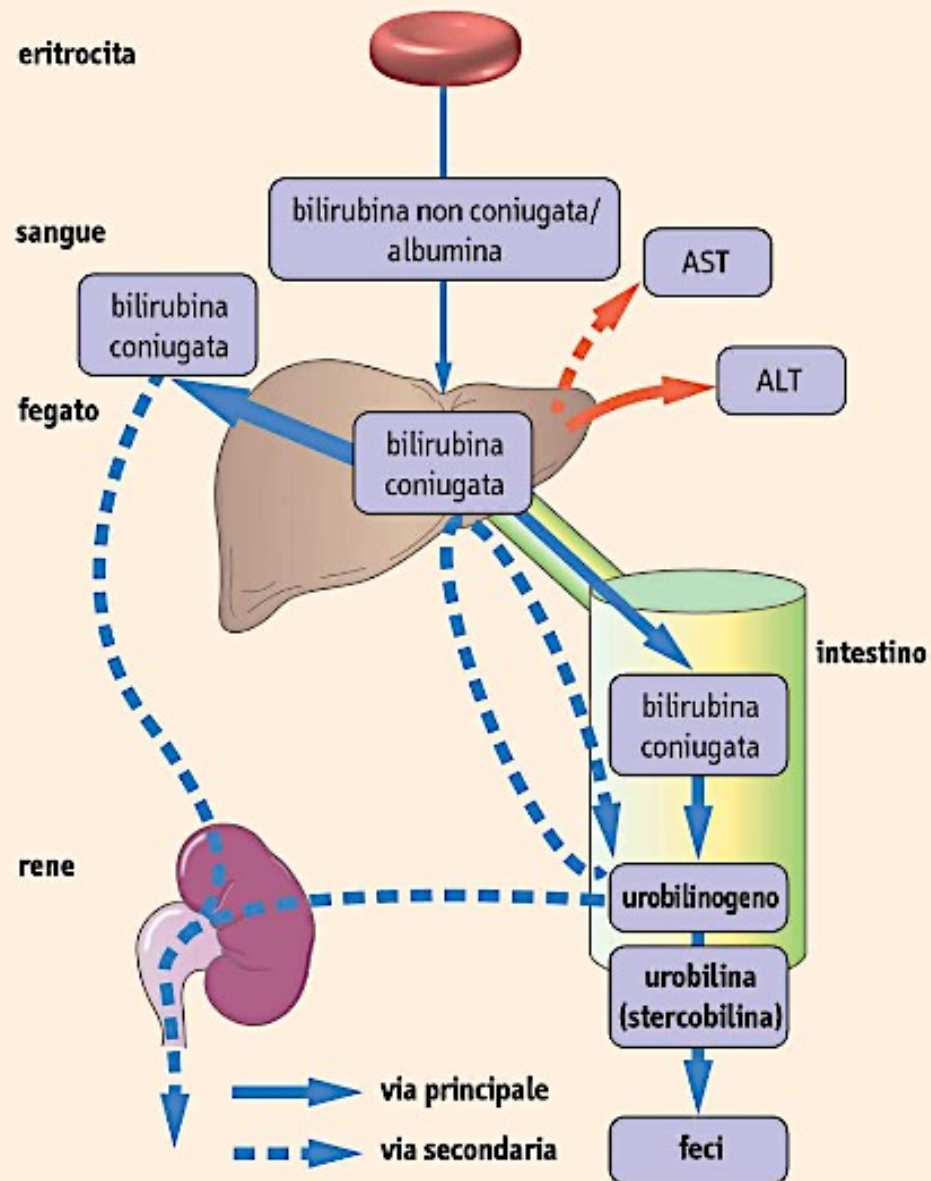
- ♣ **della cute**
- ♣ **delle sclere**
- ♣ **altri tessuti**

**causata da un eccesso
di bilirubina circolante**

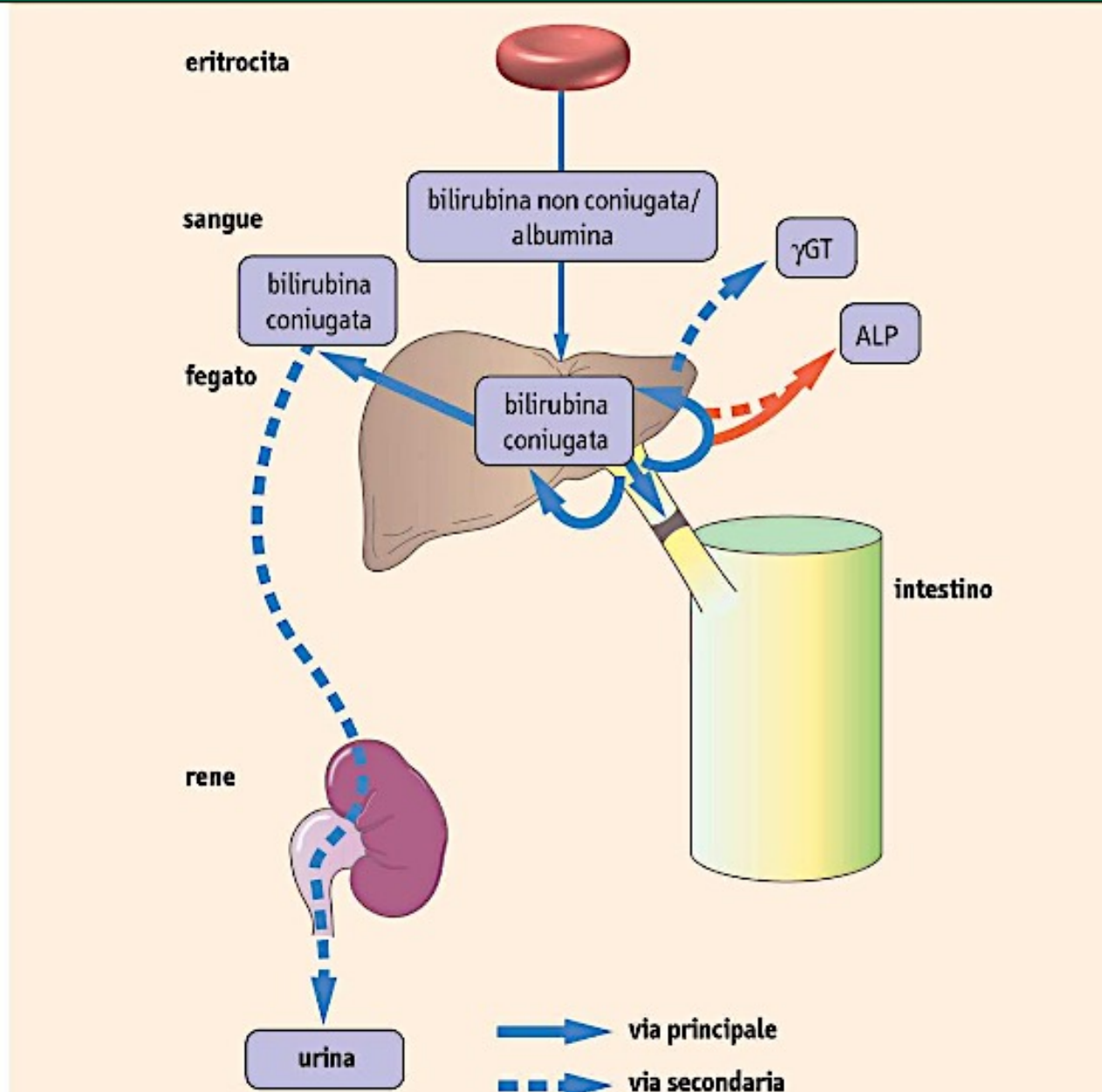
ITTERO EMOLITICO (pre-epatico)



ITTERO INTRA-EPATICO



ITTERO POST-EPATICO



Sindrome di Gilbert

Aumento della bilirubina non coniugata
con valori compresi tra 1,5 e 6 mg/dL, ma generalmente non superiori ai 3 mg/dL

Ne soffre circa l'8% della popolazione adulta, più frequentemente gli uomini

- Difetto della captazione e coniugazione della bilirubina
- Frequenti alterazioni del metabolismo epatico di farmaci (es., paracetamolo)
- Si manifesta soprattutto nella II o III decade per poi diminuire o scomparire.
- Valori normali degli enzimi indici di citolisi

Autosomica recessiva

Carenza della *bilirubin-uridin-glucuronosil transferasi* (UGT-1) causata da mutazioni del gene *UGT-1A1*

Sindrome di Dubin-Johnson

Bilirubinemia totale fra 2 e 5 mg/dL e coniugata: 60-70 % del totale

Si manifesta nella II-III decade e spesso si manifesta in caso di interventi chirurgici, in gravidanza ed in corso di terapia con estroprogestinici

Prognosi buona

Autosomica recessiva

Alterazione dell'escrezione della bilirubina coniugata nel canalicolo biliare per mutazioni del gene MRP2, che causano inattivazione o assenza della proteina canalicolare di trasporto MRP2 (multidrug resistance-associated protein 2) (cMOAT)

La malattia di Crigler-Najjar è distinta in:

tipo I

- deficit completo dell'enzima bilirubina UDP-glucuronosil transferasi
- i valori di bilirubina, nel paziente affetto, superano i 20 mg/dl
- la bile contiene appena tracce di bilirubina coniugata

tipo II

- deficit parziale dell'enzima bilirubina UDP-glucuronosil transferasi
- la bilirubina sierica di solito non supera i 20 mg/dl ed è ridotta di almeno il 30% dalla somministrazione di fenobarbital

La famiglia delle Uridine diphosphoglucuronate glucuronosyltrasferase (UGTs)

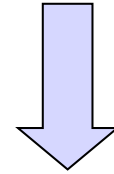
- comprende enzimi localizzati nel Reticolo Endoplasmatico e nella membrana nucleare di molte cellule
- catalizzano la glucuronazione di molte sostanze endogene ed esogene
- nei mammiferi, 47 diversi geni sono classificati in tre famiglie, UGT1, UGT2 and UGT8; alcune isoforme, appartenenti alla subfamiglia UGT1, nominata UGT1A, sono codificate da un unico complesso genico localizzato sul cromosoma 2q37

	Tipo I	Tipo II
Concentrazione di bilirubina nel siero	20-50 mg/dl	Inferiore a 20 mg/dl
Attività dell'enzima B-UDPGT	Assente	Fortemente ridotta
Risposta al fenobarbitale	Assente	Presente
Prognosi	Kernicterus	Generalmente benigna
Modello Animale	Ratto Gunn	Assente

Il ratto Gunn



Non possiede nessuno degli enzimi di coniugazione della famiglia UGT1A

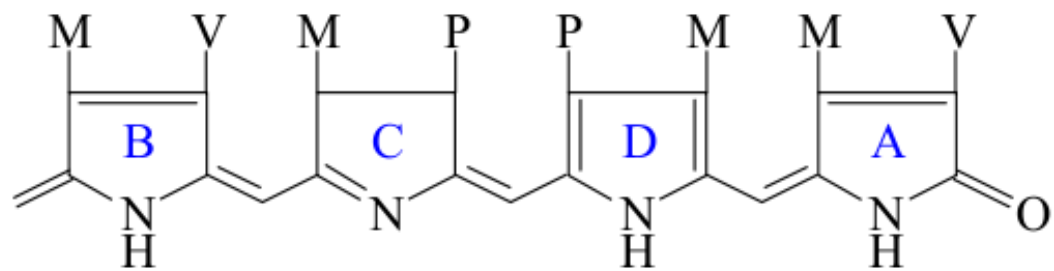


Per questo si può valutare il trasferimento di materiale genetico tramite vettori virali

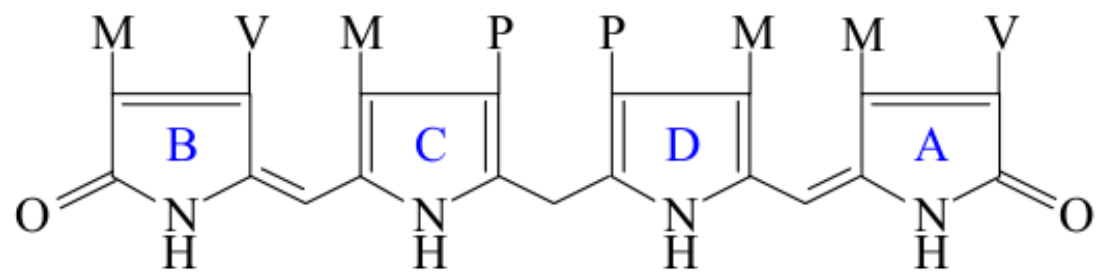
Domanda

- La **bilirubina** è tossica: inibisce la sintesi delle proteine, degli acidi nucleici, il metabolismo dei carboidrati, la respirazione mitocondriale, e diversi enzimi (idrolasi, deidrogenasi, chinasi).
- Nei rettili e negli uccelli viene escreta la **biliverdina**, che è più solubile della bilirubina.
- Ma allora perché nei mammiferi la biliverdina è ridotta alla meno solubile e più tossica bilirubina?





biliverdina



bilirubina

Risposta

- Perché la **bilirubina**, a differenza della **biliverdina**, è un potente antiossidante e protegge le membrane insieme alla Vitamina E.



“Nessun effetto è in natura senza ragione; intendi la ragione e non ti bisogna sperienza”

Leonardo da Vinci