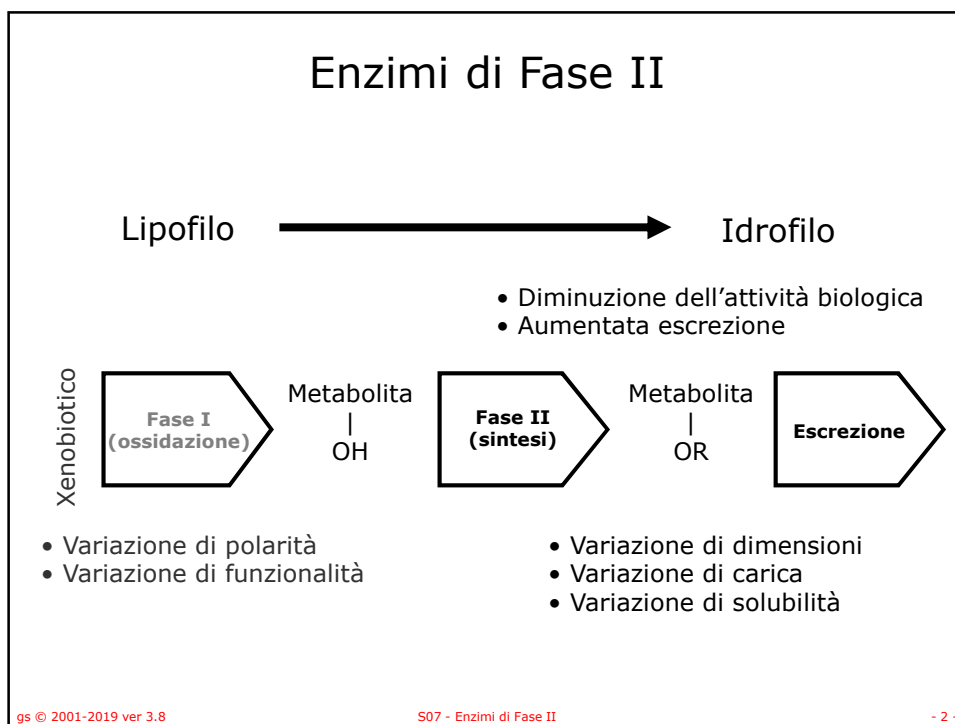




1



2

Gli enzimi di fase II catalizzano reazioni di:

- Coniugazione con
 - Acido glucuronico - glucuronazione
 - Glutazione
 - Solfato
 - Acetile - acetilazione
 - Aminoacidi
- Metilazione
- **Metallotioneine**
 - Vedere: Biotrasformazione dei metalli

gs © 2001-2019 ver 3.8

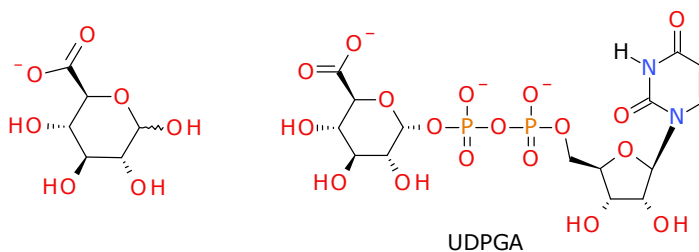
S07 - Enzimi di Fase II

- 3 -

3

Glucuronazione

- Coniugazione di xenobiotici con un H labile con acido glucuronico da acido uridindifosfoglicerico (UDPGA)



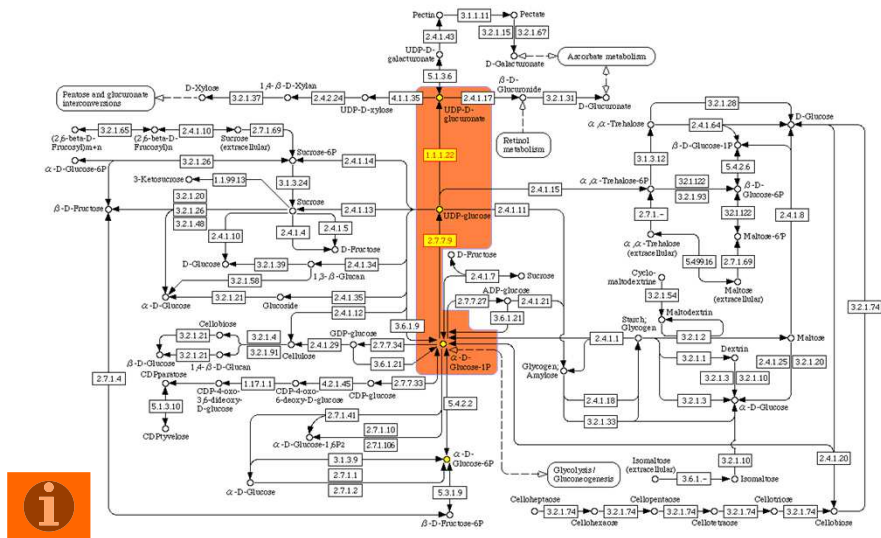
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 4 -

4

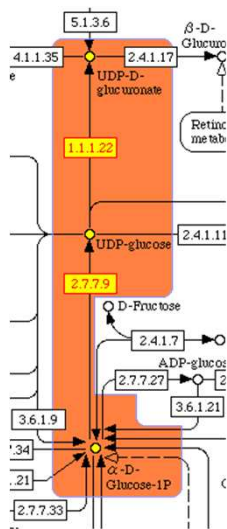
Formazione di UDPGA



- 5 -

5

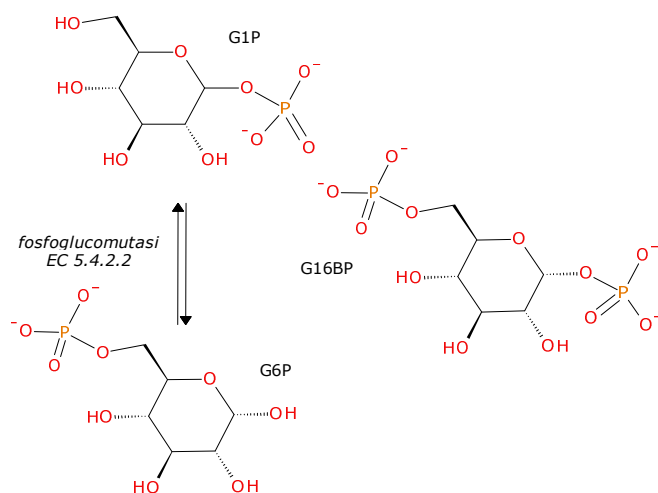
Formazione di UDPGA



- 6 -

6

Glucosio-1-fosfato



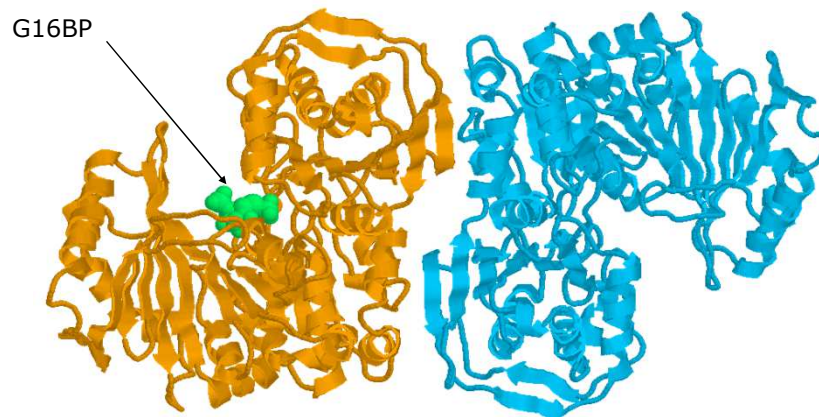
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 7 -

7

Fosfoglucomutasi EC 5.4.2.2 (1C47)



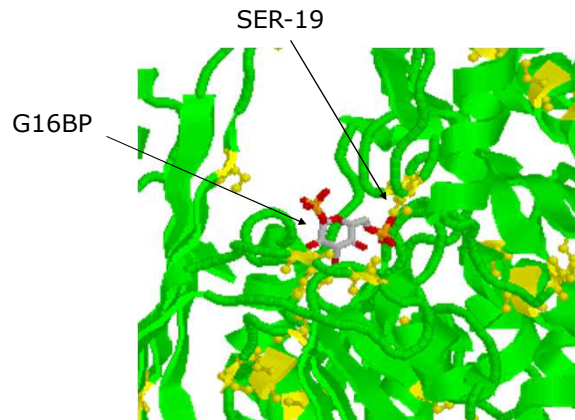
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 8 -

8

Fosfoglucomutasi EC 5.4.2.2 (1C47)



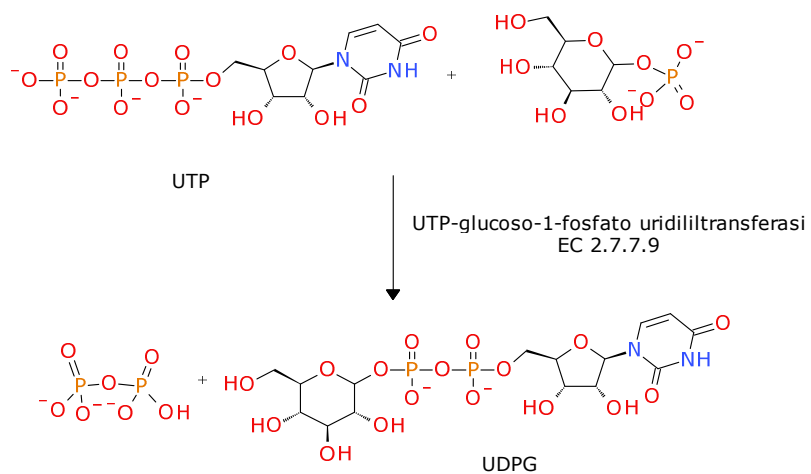
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 9 -

9

Formazione di UDPG



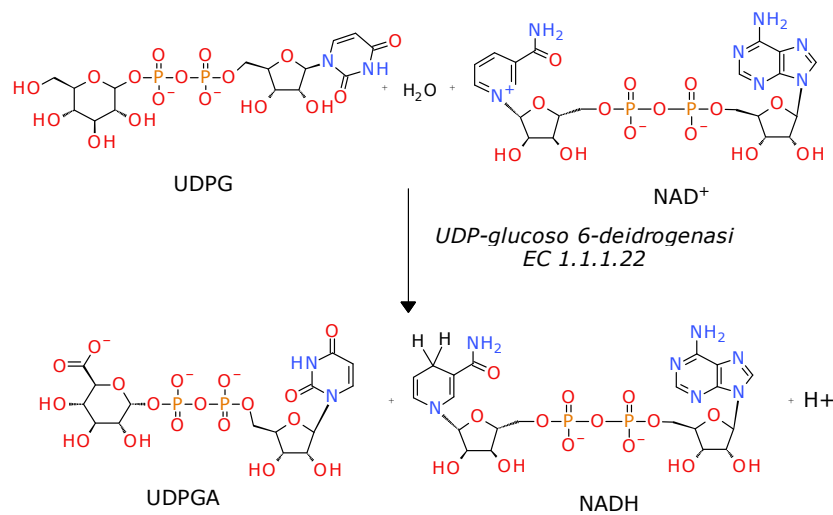
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 10 -

10

Formazione di UDPGA



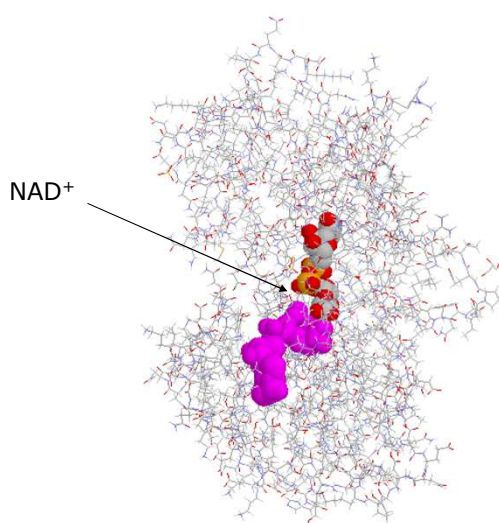
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 11 -

11

UDP-glucoso-6-deidrogenasi



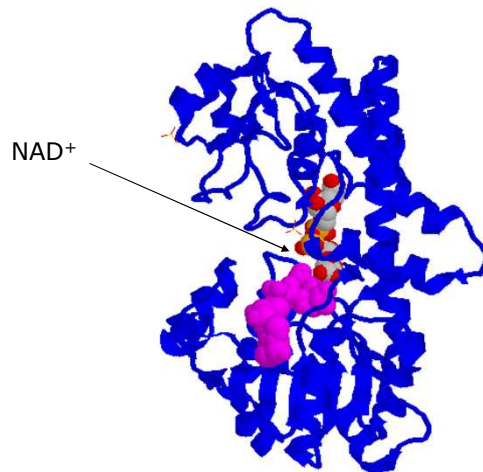
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 12 -

12

UDP-glucoso-6-deidrogenasi



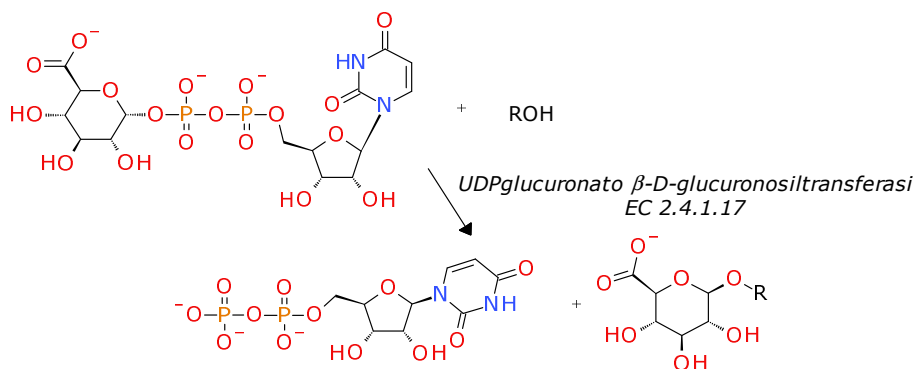
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 13 -

13

Coniugazione con acido glucuronico



gs © 2001-2019 ver 3.8

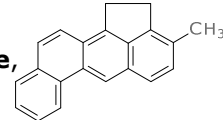
S07 - Enzimi di Fase II

- 14 -

14

β-UDP-glucuroniltransferasi

- L'enzima β-UDP-glucuroniltransferasi forma *O*-, *N*-, *S*-, *C*- glucuronati;
 - Sei forme nel fegato umano
 - Il cofattore è UDP-glucuronato
 - Induttori: fenobarbital, indoli, **3-metilcolantrene**, (fumo di sigarette).
 - Substrati: destrofano, metadone, morfina, *p*-nitrofenolo, acido valproico, **ormoni steroidei**, **bilirubina**.



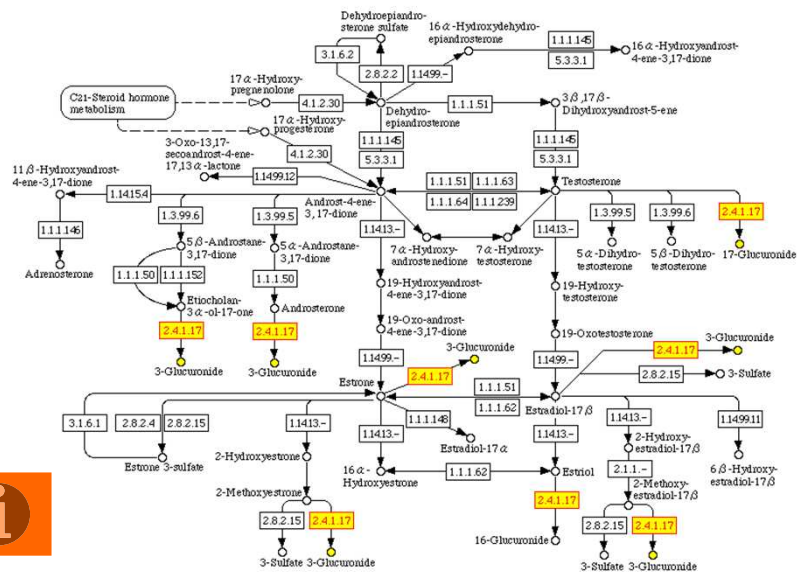
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 15 -

15

Metabolismo degli androgeni ed estrogeni



gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 16 -

16

[illegible]

- 17 -



- Sindrome di Crigler-Nijar (grave): enzima inattivato; grave iperbilirubinemia; gli induttori non hanno effetto.
- Sindrome di Gilbert (lieve): ridotta attività enzimatica; lieve iperbilirubinemia; il fenobarbital porta la glucuronazione della bilirubina alla normalità
- I pazienti possono glucuronidare *p*-nitrofenolo, morfina, cloroamfenicolo.

- 18 -

9

Glucuronazione e glucuronidasi

- I coniugati vengono escreti con la bile o con le urine.
- La glucuronidasi della microflora intestinale taglia il legame con l'acido glucuronico.
- La parte agliconica può essere riassorbita ed andare incontro ad un riciclo enteroepatico.

gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 19 -

19

Glucuronazione e glucuronidasi

- Attivazione metabolica di 2,6-dinitrotoluene da parte della glucuronidasi.
 - La glucuronidasi rimuove l'acido glucuronico da *N*-glucuronide;
 - Il nitro gruppo viene ridotto da *N*-reduttasi microbiche;
 - Il risultante metabolita epatocarcinogeno è riassorbito.

gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 20 -

20

Gli enzimi di fase II catalizzano reazioni di:

- Coniugazione con
 - Acido glucuronico
 - Solfato
 - Glutathione
 - Acetile
 - Aminoacidi
- Metilazione
 - Metallotioneina

gs © 2001-2019 ver 3.8

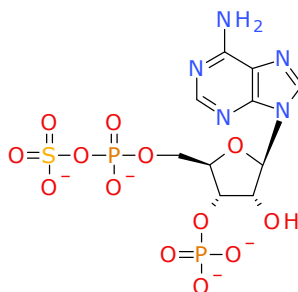
S07 - Enzimi di Fase II

- 21 -

21

Coniugazione con il gruppo solfato

- Coniugazione di:
 - xenobiotici con un OH libero con solfato da fosfoadeninafosfosolfonato (PAPS)



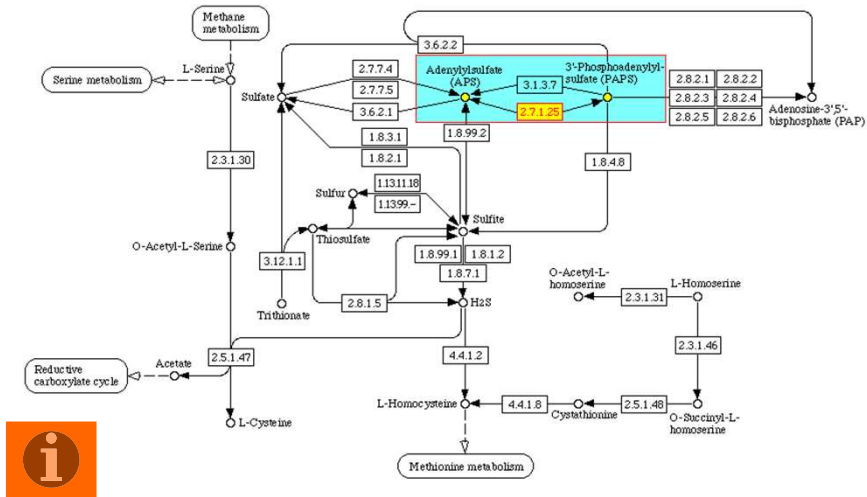
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 22 -

22

Formazione di PAPS



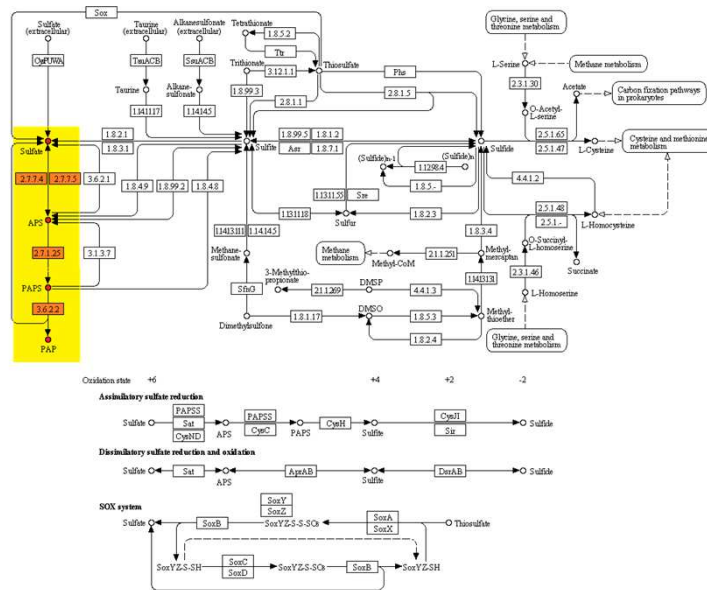
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 23 -

23

Formazione di PAPS



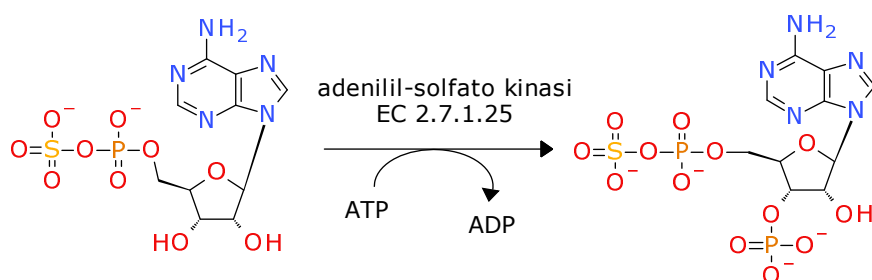
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 24 -

24

Formazione di PAPS



gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 25 -

25

Formazione di solfati

- Le solfotransferasi sono enzimi ubiquitari
- Cofattore è 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosolfato (PAPS)
- Produce esteri solfati altamente idrosolubili
- Eliminati con urine e bile
- Xenobiotici e composti endogeni sono solfonati (fenoli, catecoli, amine, idrossilamine)

gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 26 -

26

Formazione di solfati

- La formazione di solfati è una via metabolica ad alta affinità e bassa capacità.
 - La glucuronazione ha bassa affinità ed alta capacità.
 - La capacità è limitata dai bassi livelli di PAPS.
 - A bassi dosaggi prevale la formazione di solfati.
 - Ad alti dosaggi prevale la glucuronazione.

gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 29 -

29

Formazione di solfati

- Esistono quattro solfotransferasi nel citosol degli epatociti umani
- Le arilsolfatasi nella flora intestinale rimuovono il solfato promuovendo il riciclo enteroepatico
- Possono attivare xenobiotici a carcinogenici se il composto coniugato è chimicamente instabile
 - I solfonati delle idrossilammine sono instabili.

gs © 2001-2019 ver 3.8

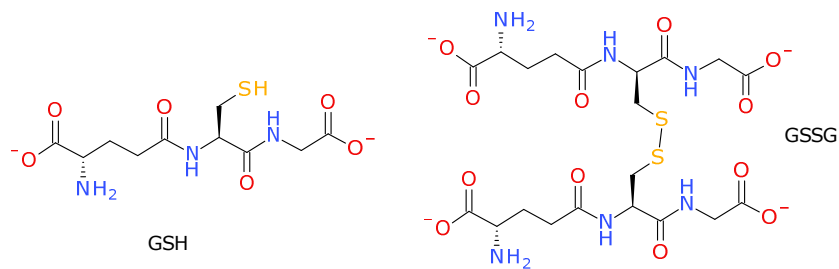
S07 - Enzimi di Fase II

- 30 -

30

Coniugazione con glutatione

- Coniugazione di xenobiotici (numerosissimi substrati) con una regione elettrofila (epossido) con glutatione ridotto (GSH)
 - glutatione-S-transferasi



gs © 2001-2019 ver 3.8

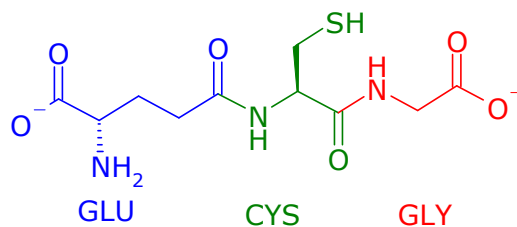
S07 - Enzimi di Fase II

- 31 -

31

GSH

- Il glutatione è un tripeptide formato da glicina, cisteina, acido glutamico
 - Formato da γ -glutamylcisteina sintetasi (EC 6.3.2.3)



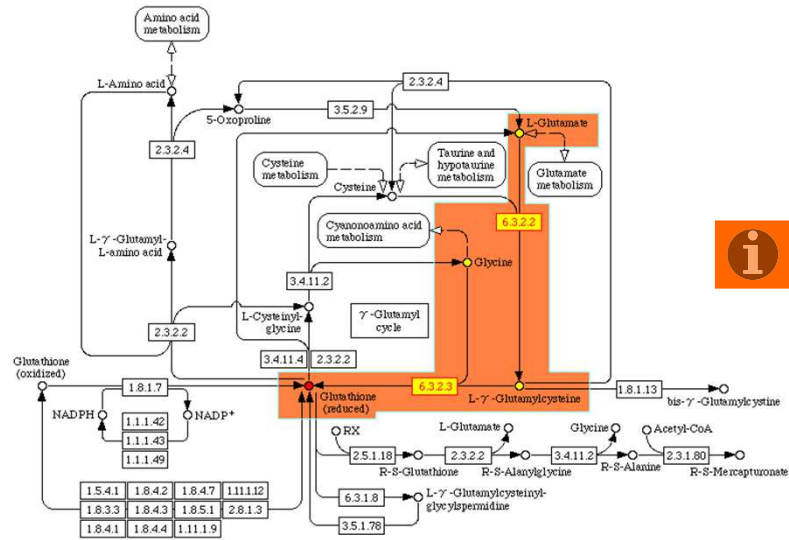
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 32 -

32

Sintesi del GSH



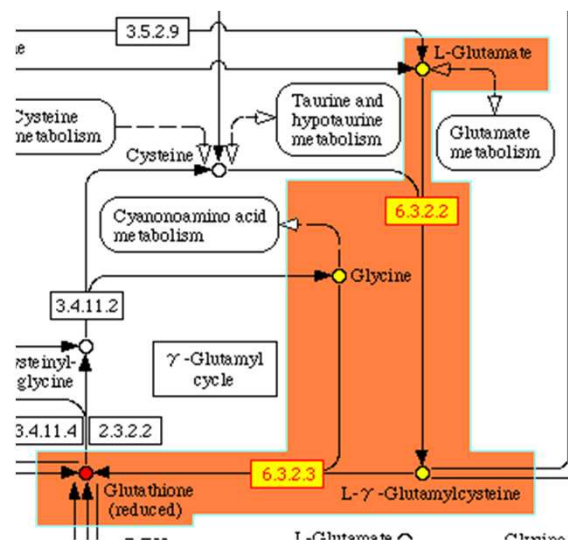
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 33 -

33

Sintesi del GSH



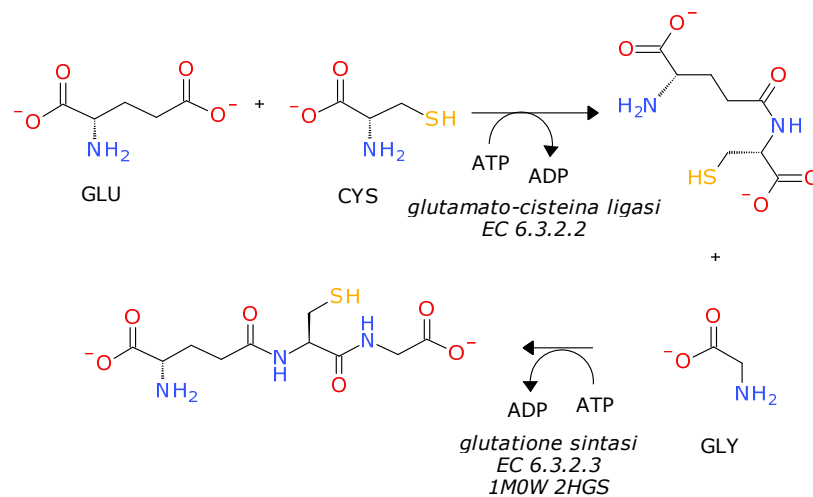
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 34 -

34

Sintesi del GSH



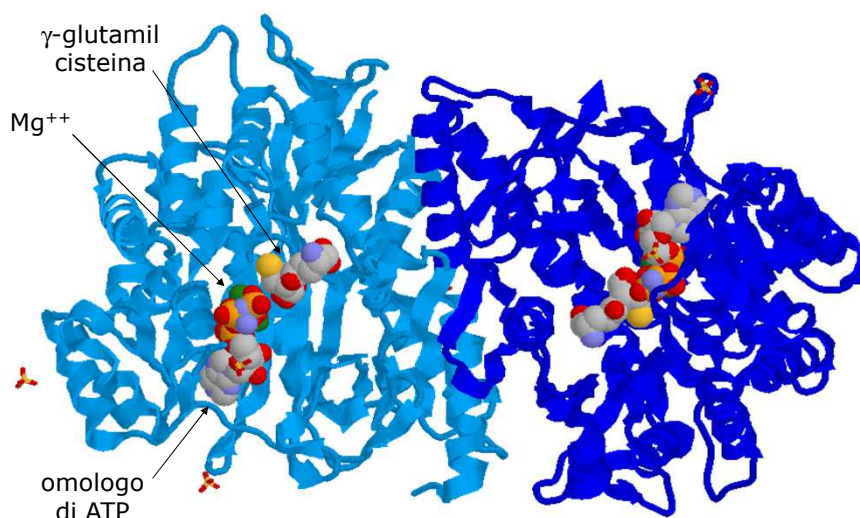
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 35 -

35

Glutathione sintasi (1M0W)



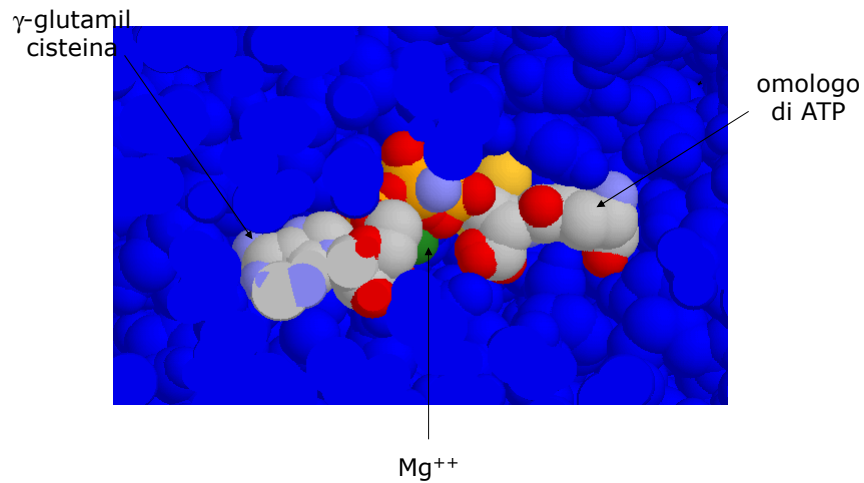
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 36 -

36

Glutathione sintasi (1M0W)



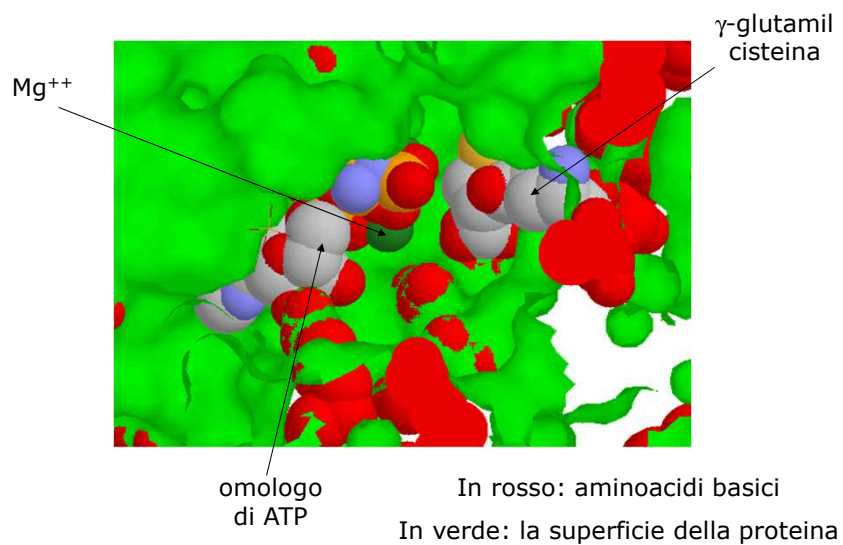
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 37 -

37

Glutathione sintasi (1M0W)



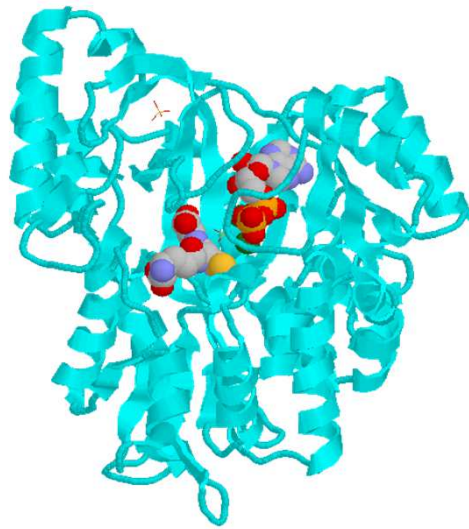
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 38 -

38

Glutatione sintasi (2HGS)



gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 39 -

39

Coniugazione con GSH

- O-demetilazione di organofosfati
- Attivazione della trinitroglicerina
 - I prodotti sono glutatione ossidato (GSSG), dinitroglicerina, NO (vasodilatatore)
- Riduzione di idroperossidi
 - Metabolismo delle prostaglandine

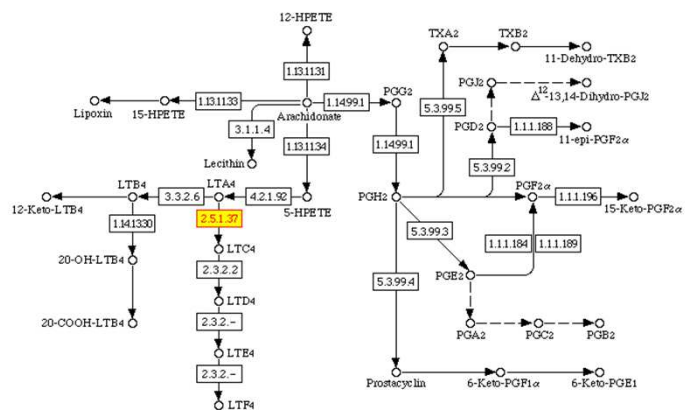
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 40 -

40

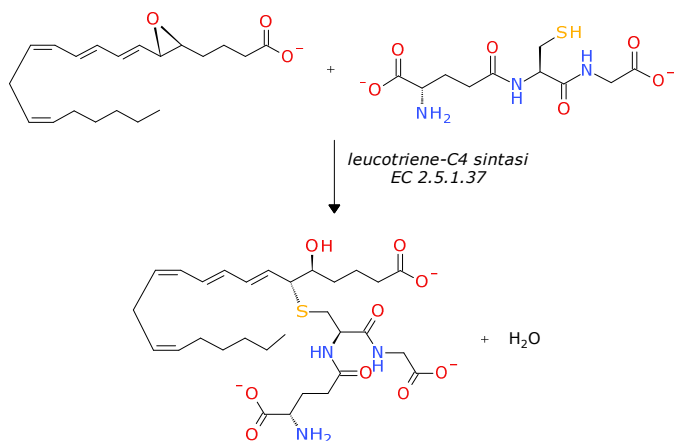
Metabolismo delle prostaglandine



- 41 -

41

Metabolismo delle prostaglandine



- 42 -

42

Coniugazione con il GSH

- Due tipi di reazione con il GSH
 - Spiazzamento di alogeni, solfati, solfonati, fosfati, nitrogruppi
 - Il glutathione viene addizionato a doppi legami attivati (epossidi) come nella sintesi delle prostaglandine.
- Substrati:
 - Idrofobici che contengono un elettrofilo
 - Possono reagire non enzimaticamente

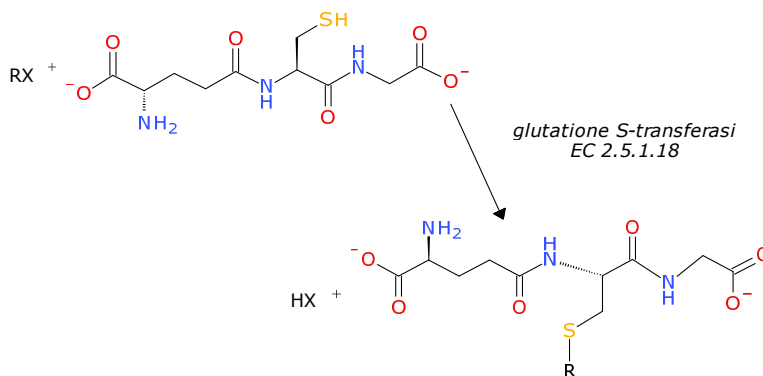
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 43 -

43

Coniugazione



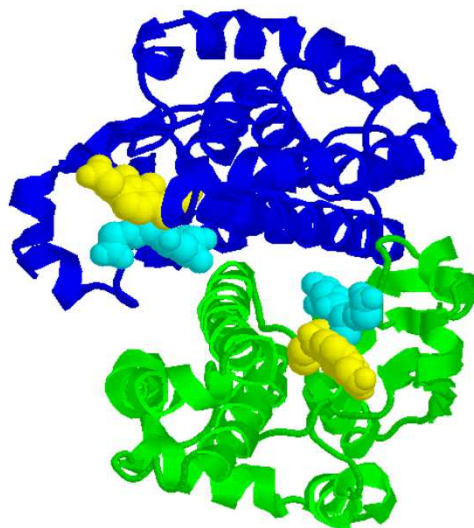
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 44 -

44

Glutathione S-transferasi – EC 2.5.1.18



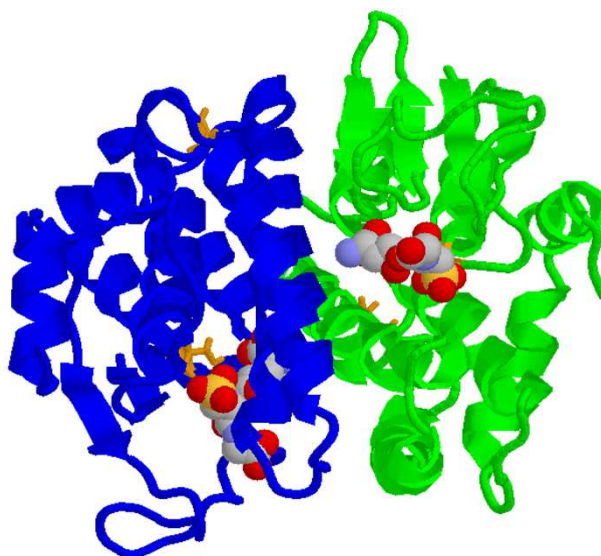
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 45 -

45

Glutathione S-transferasi EC 2.5.1.18 (1A0F)



gs © 2001-2019 ver 3.8

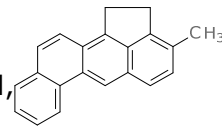
S07 - Enzimi di Fase II

- 46 -

46

Glutathione S-transferasi

- Glutathione-S-transferasi microsomiale e citosolica
- Almeno quattro classi di glutathione-S-transferasi (α , β , γ , δ), diversi isoenzimi inducibili.
 - Induttori (**3-metilcolantrene**, fenobarbital, corticosteroidi, anti-ossidanti)
 - La sovraespressione porta a resistenza (insetti DDT resistenti, piante resistenti all'atrazina, cellule tumorali resistenti alla chemioterapia)



gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 47 -

47

Eliminazione dei composti coniugati con il GSH

- Escrezione dei glutathione-coniugati:
 - Intatti nella bile
 - Convertiti in acido mercapturico nei reni ed escreti nelle urine
 - γ -glutamyltransferasi, aminopeptidasi M

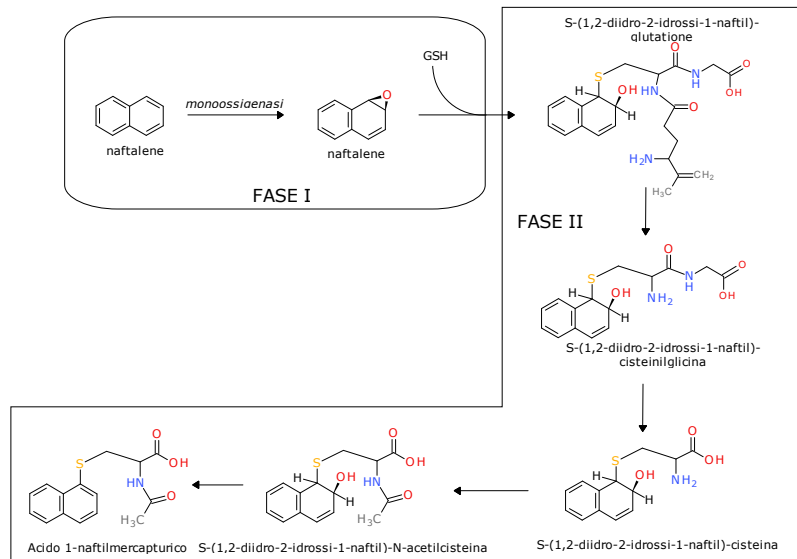
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 48 -

48

Metabolismo del naftalene



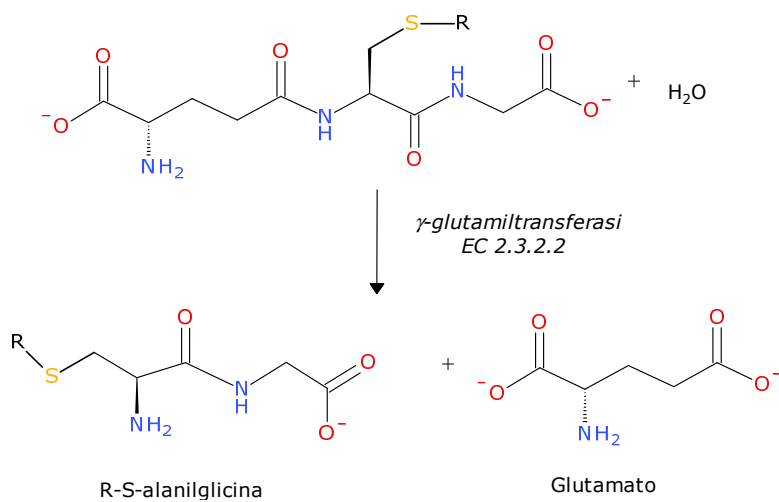
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 49 -

49

γ -glutamyltransferasi



gs © 2001-2019 ver 3.8

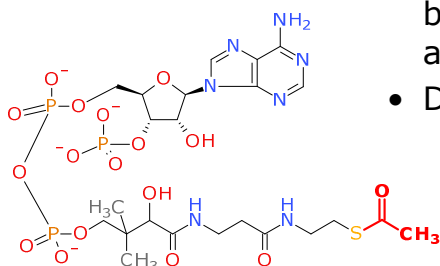
S07 - Enzimi di Fase II

- 50 -

50

Acetilazione

- Coniugazione di:
 - xenobiotici con un OH libero con gruppo acetile da acetil-CoA
- *N*-acetiltransferasi (NAT)
- Maggiore via di biotrasformazione di amine aromatiche e idrazine
- Diminuisce la solubilità



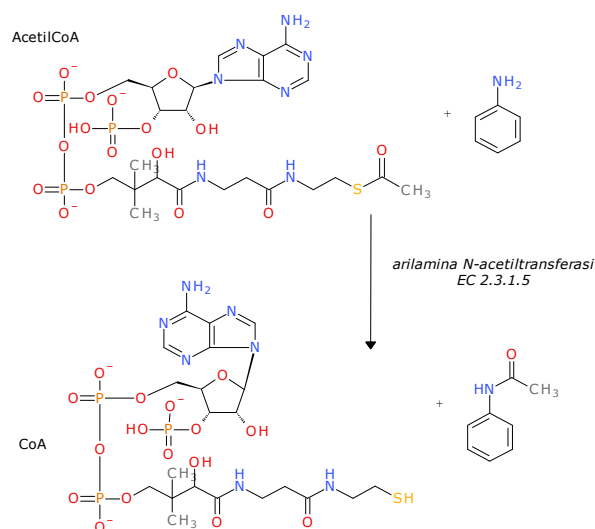
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 51 -

51

Meccanismo della acetilazione



gs © 2001-2019 ver 3.8

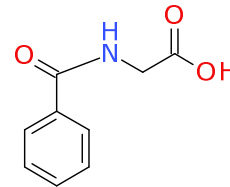
S07 - Enzimi di Fase II

- 52 -

52

Coniugazione con aminoacidi

- Alternativa alla glucuronazione
- Due vie principali
 - Gruppo -COOH del substrato coniugato con -NH₂ di glicina, serina, glutamina, richiede attivazione con CoA
 - Coniugazione dell'acido benzoico con glicina per dare l'acido ippurico
 - Gruppi -NH₂ o -NHOH aromatici coniugati con gruppi COOH di serina, prolina, richiedono attivazione con ATP



gs © 2001-2019 ver 3.8

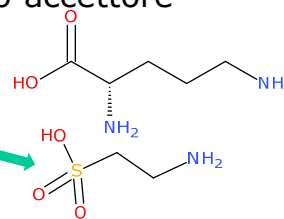
S07 - Enzimi di Fase II

- 53 -

53

Coniugazione con aminoacidi

- Specie specificità nell'aminoacido accettore
 - mammiferi: glicina
 - uccelli: ornitina
 - cani e gatti: taurina
 - primati non umani: glutamina
- Attivazione metabolica
 - Gli N-esteri di serina o prolina delle idrossilamine sono instabili e degradano a specie elettrofile reattive.



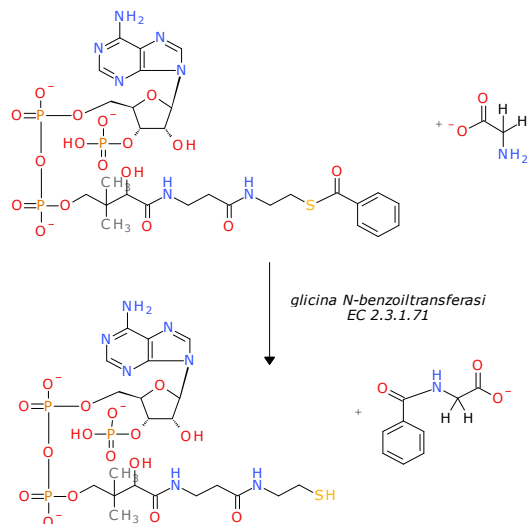
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 54 -

54

Meccanismo della coniugazione con aminoacidi



gs © 2001-2019 ver 3.8

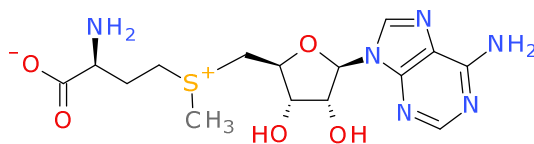
S07 - Enzimi di Fase II

- 55 -

55

Metilazione

- Via metabolica che diminuisce la solubilità
- Metiltransferasi
 - Trasferisce un gruppo $-CH_3$ a *O*, *N*, *S*, *C*
 - Cofattore: *S*-adenosilmetionina (SAM)



- Substrati sono: fenoli, catecoli, amine, metalli (Hg, As, Se)

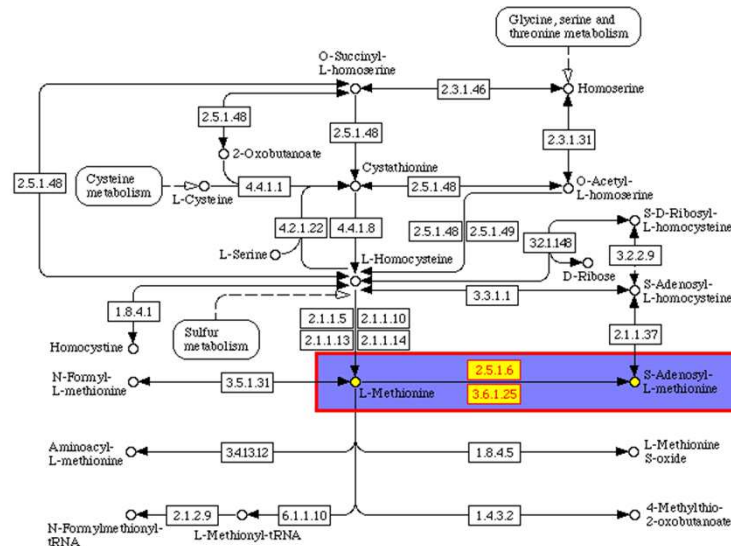
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 56 -

56

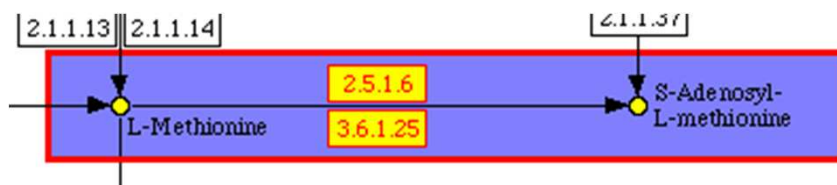
Sintesi di S-adenosilmetionina



- 57 -

57

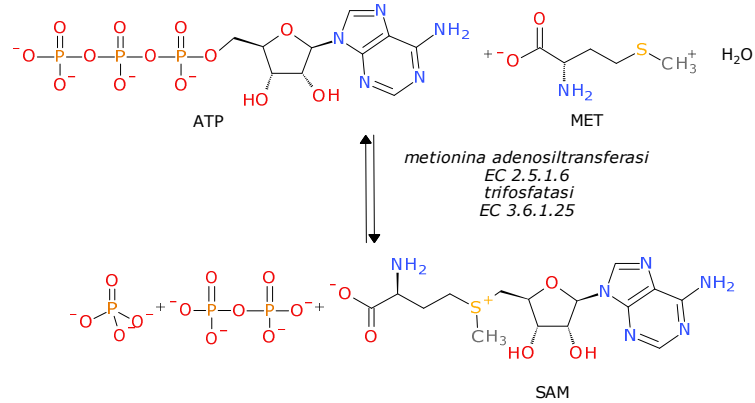
Sintesi di S-adenosilmetionina



- 58 -

58

Sintesi S-adenosilmetionina



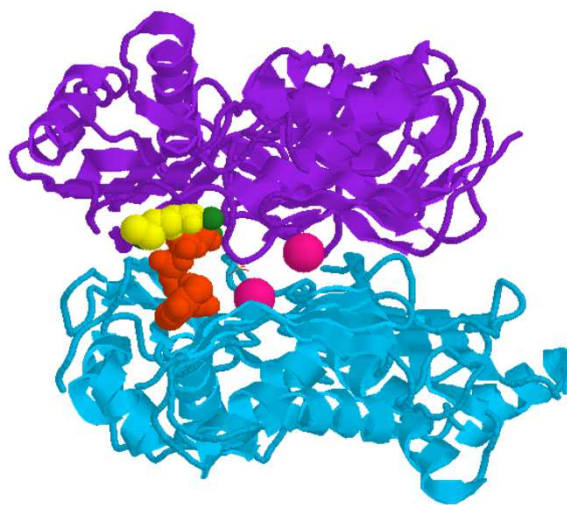
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 59 -

59

Metionina adenosiltransferasi EC 2.5.1.6 (109T)



gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

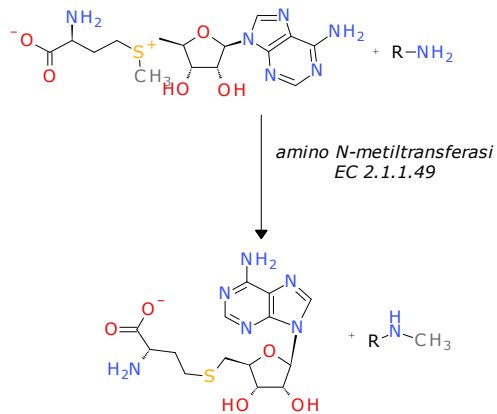
- 60 -

60

Metiltransferasi

- Varie metiltransferasi

- fenolo *O*-metiltransferasi,
- catecolo *O*-metiltransferasi,
- *N*-metiltransferasi,
- *S*-metiltransferasi



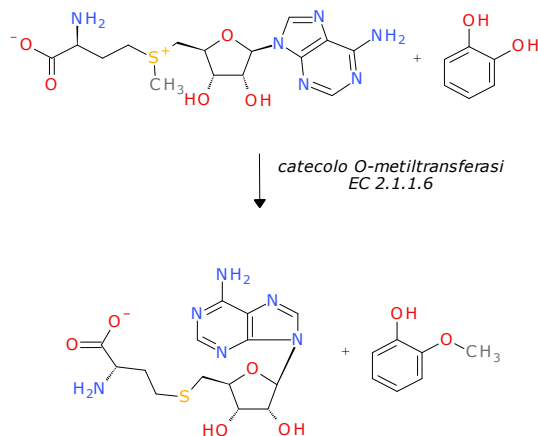
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 61 -

61

Meccanismo della metilazione



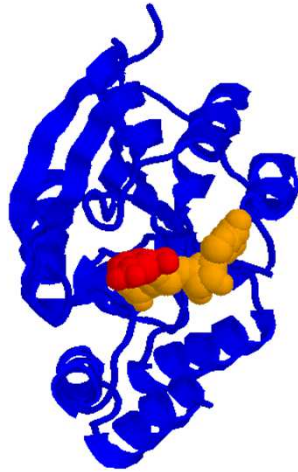
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 62 -

62

Catecolo *O*-metiltransferasi
EC 2.2.1.6 (*1VID*)



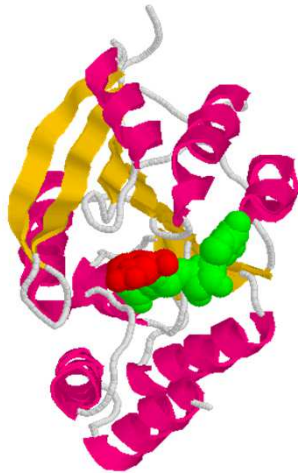
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 63 -

63

Catecolo *O*-metiltransferasi
EC 2.2.1.6 (*1VID*)



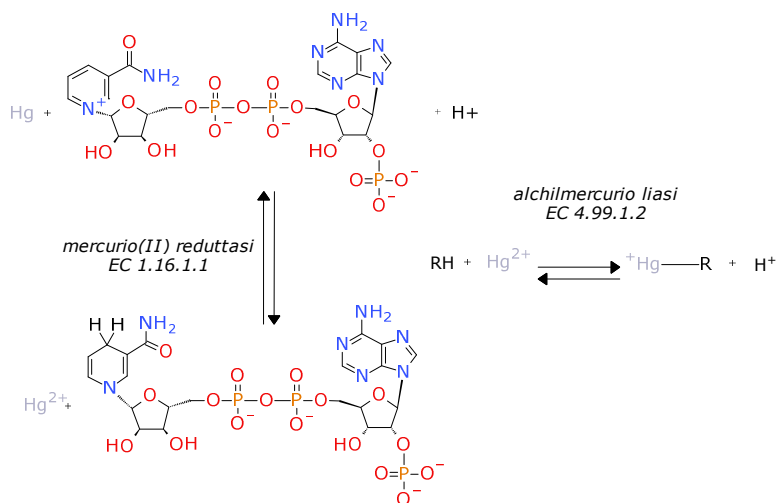
gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 64 -

64

Mercurio



gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 65 -

65

Referenze sul WEB

- Vie metaboliche
 - KEGG: <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
 - Degradazione degli xenobiotici: <http://www.genome.ad.jp/kegg/pathway/map/map01196.html>
- Struttura delle proteine:
 - Protein data bank (Brookhaven): <http://www.rcsb.org/pdb/>
 - Hexpasy
 - Expert Protein Analysis System: <http://us.expasy.org/sprot/>
 - Prosite (protein families and domains): <http://www.expasy.org/prosite/>
 - Enzyme (Enzyme nomenclature database): <http://www.expasy.org/enzyme/>
 - Scop (famiglie strutturali): <http://scop.berkeley.edu/>
- Enzimi:
 - Nomenclatura - IUBMB: <http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/>
 - Proprietà - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
 - Expasy (Enzyme nomenclature database): <http://www.expasy.org/enzyme/>
- Database di biocatalisi e biodegradazione: <http://umbbd.ahc.umn.edu/>
- Citocromo P450: <http://www.icgeb.org/~p450srv/>
- Metallotioneine: <http://www.unizh.ch/~mtpage/MT.html>
- Tossicità degli xenobiotici: Agency for Toxic Substances and Disease Registry <http://www.atsdr.cdc.gov>

gs © 2001-2019 ver 3.8

S07 - Enzimi di Fase II

- 66 -

66

Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

- Questo ed altro materiale può essere reperito a partire da:
<http://www.gsartor.org/pro/didattica>
- Il materiale di questa presentazione è di libero uso per didattica e ricerca e può essere usato senza limitazione, purché venga riconosciuto l'autore usando questa frase:

Materiale ottenuto dal Prof. Giorgio Sartor
Università di Bologna – Alma Mater

Giorgio Sartor - giorgio.sartor@unibo.it

Data ultima versione: 08/02/2019 11:26