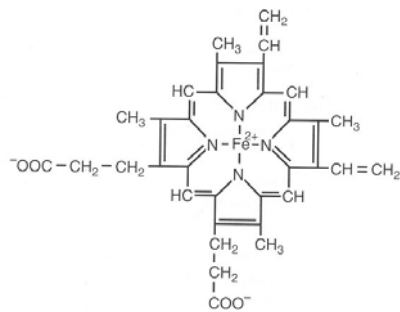


Patofisiologia della sintesi dell'eme

PROTEINE CONTENENTI L'EME

- Emoglobina-> Respirazione
- Mioglobina-> Respirazione
- Citocromi-> ormoni steroidei, vitamina D, nelle forme attive biologicamente, detossificazione (citocromo p450), induzione di apoptosi da parte di citocromo c citoplasmatico.
- Catalasi-> scavenger functions
- Alcune perossidasi

STRUTTURA DELL'EME



- Ferro ferroso (Fe^{2+})
- Protoporfirina IX: contiene 4 anelli pirrolici legati insieme da legami metenilici.

Metabolismo del ferro Ciclo del Ferro

Intestino

- Il basso Ph dello stomaco solubilizza i composti del ferro.
- I trasportatori del Fe facilitano l'assorbimento del Fe nel flusso ematico.

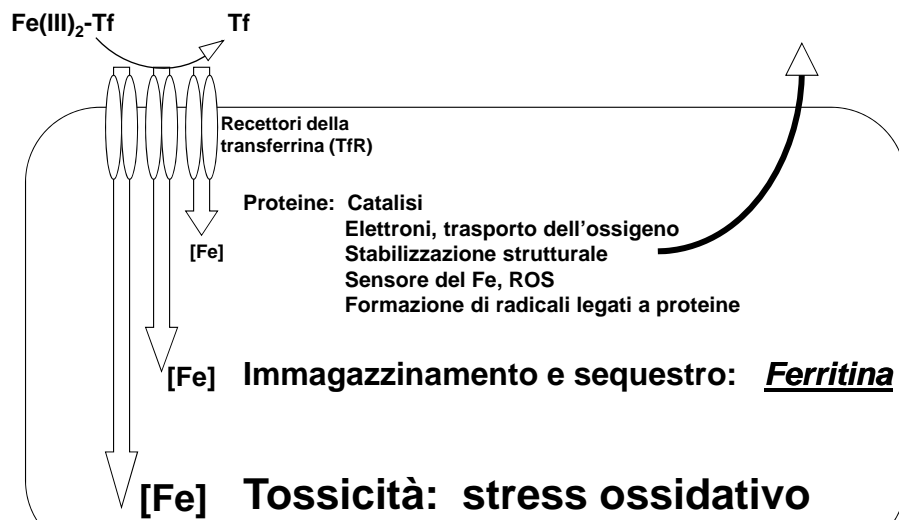
Sangue

- Gli ioni Fe^{3+} sono chelati e legati alla transferrina.
- La transferrina trasporta Fe ai tessuti
 - Mantiene la solubilità
 - Mantiene gli ioni Fe inattivi

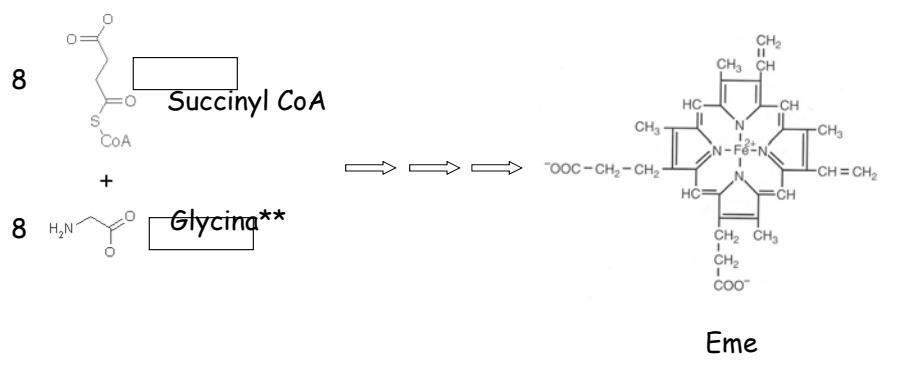
Cellula

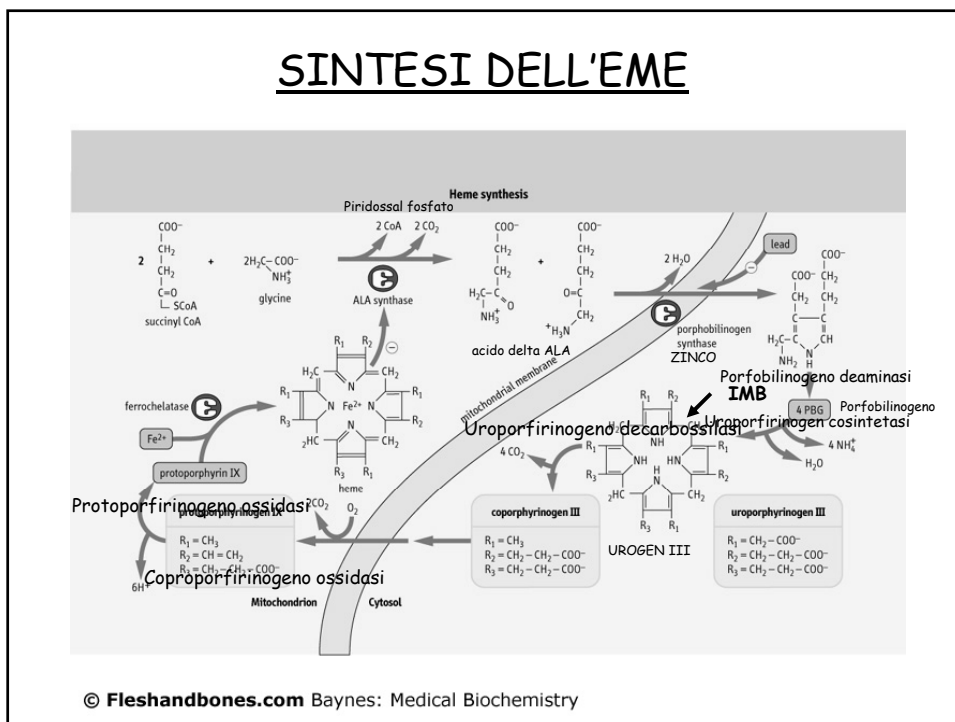
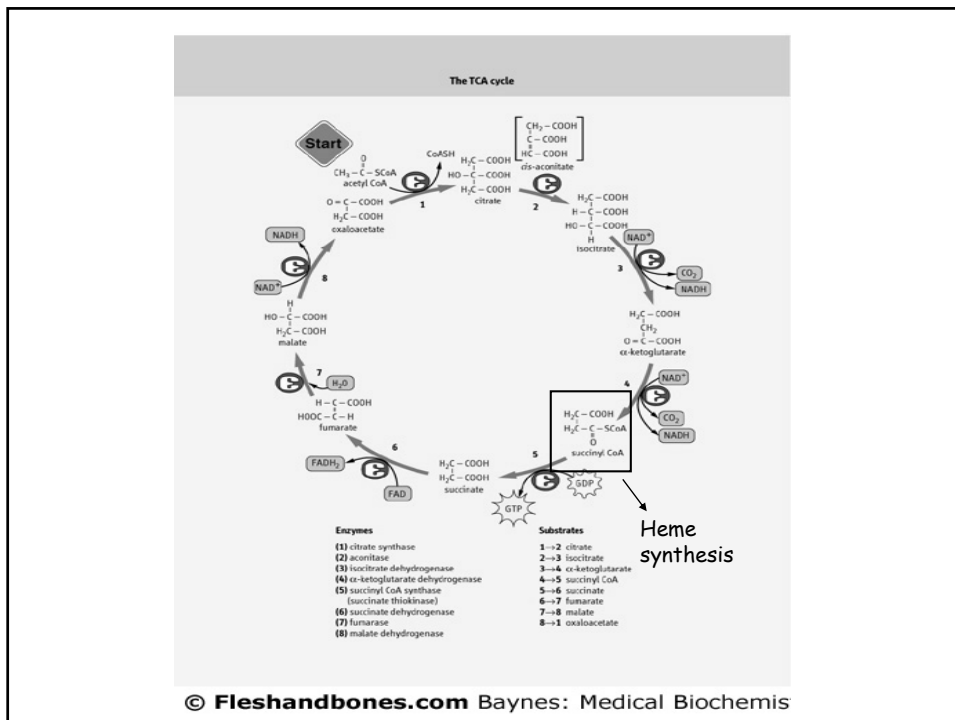
- L'endocitosi della transferrina è mediata da recettori
- L'endocitosi risulta nel rilascio del Fe^{3+} in ambiente acido lisosomiale.
- Il Fe è distribuito in diverse regioni topologiche della cellula attraverso trasportatori del Fe e/o canali (?)
 - Uso: Componenti di proteine (eme)
 - Immagazzinamento: Ferritina (Fe^{2+})
 - Tossicità

Ruoli del Fe nella cellula



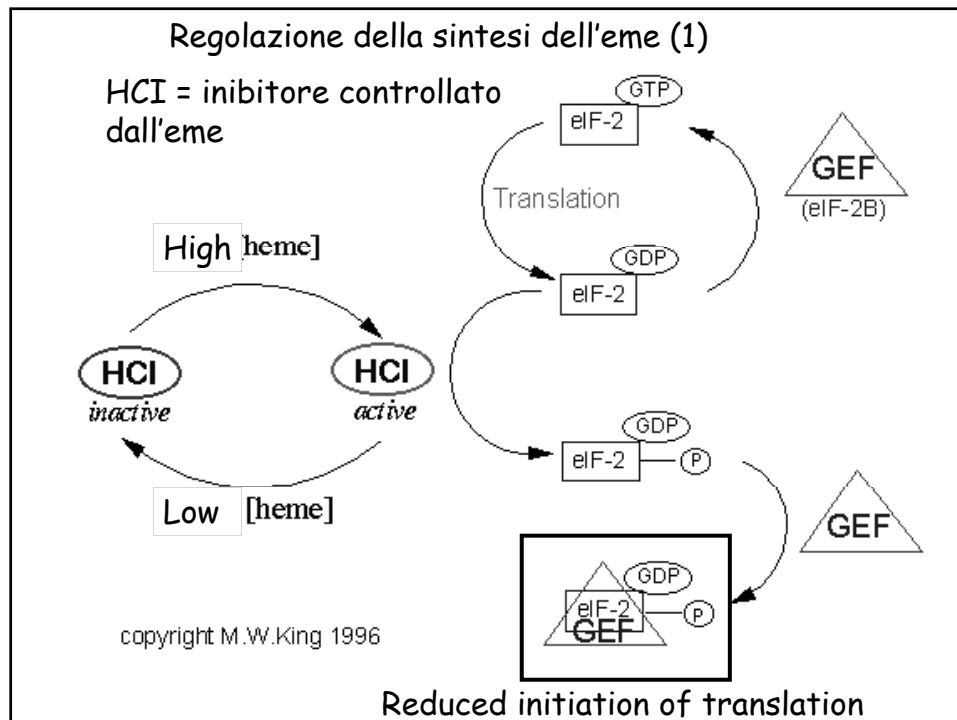
SINTESI DELL'EME





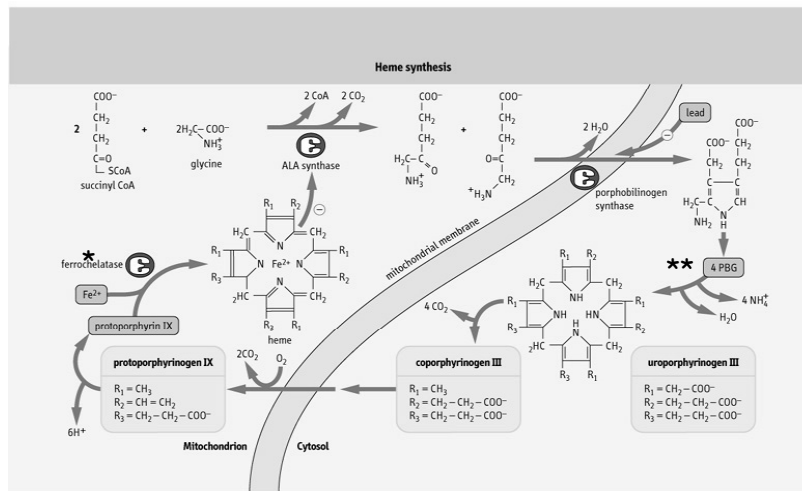
SINTESI DELL'EME: emazie

- L'85% della sintesi dell'eme avviene nelle emazie
- Cessa quando le emazie sono mature
- La ALA sintetasi specifica eritroide è regolata da un IRE nel legame dell'mRNA all' IRBP che inibisce la traduzione dell'mRNA



Regolazione della sintesi dell'eme (2)

Nelle emazie la sintesi dell'eme è regolata anche a livello degli enzimi ferrochelatasi* and porfobilino deaminasi**



© Fleshandbones.com Baynes: Medical Biochemistry

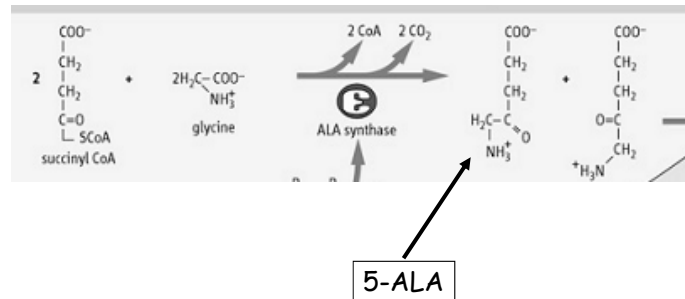
SINTESI DELL'EME: fegato

•Il fegato è la principale fonte di sintesi di eme non eritrocitaria

•L'eme prodotta nel fegato è usata principalmente per la sintesi di citocromo P₄₅₀, coinvolto nella detossificazione (glucuroconiugazione)

Regolata a livello di ALA sintetasi: la formazione di 5-ALA è lo step limitante della sintesi dell'eme nel fegato.

Formazione di acido 5 delta amino levulinico (5-ALA)



- 5-ALA è formata nei mitocondri e trasportata nel citoplasma

Regolazione della ALA sintetasi

Livelli di sintesi dell'enzima

-La sintesi dell'enzima così come il suo trasporto a livello dei mitocondri è inibito dagli alti livelli di eme ed emina, il prodotto Fe³⁺ di ossidazione dell'eme.

-La sintesi dell'enzima è incrementata da un elevato numero di farmaci tra cui barbiturici, steroidi e alcuni contraccettivi orali: questi farmaci sono metabolizzati dal *cytochrome P₄₅₀ mono-oxygenase microsomale*, una proteina contenente eme.

Livelli dell'attività dell'enzima

-L'eme e l'emina inibiscono l'attività dell'ALA sintetasi

-Richiede il piridossal fosfato come coenzima: riduzione di introito alimentare ne riduce anche l'attività

Porfirinogeni e porfirine

- **I porfirinogeni non coniugati al Fe sono incolori e non tossici**
- **Le porfirine coniugate all'eme sono molecole ossidanti e fotosensibilizzanti.**
- **Queste ultime causano le porfirie che prendono il nome dal colore rosso scuro delle urine di alcune di esse (*porphyros* in greco significa porpora).**

Catabolismo

- **Gli uroporfirinogeni sono escreti nelle urine in quanto idrofili.**
- **La protoporfirina è escreta in bile e feci in quanto idrofobica.**
- **La coproporfina ha caratteri intermedi ed è escreta sia nelle feci che nelle urine.**
- **L'eme è metabolizzato a bilirubina e biliverdina.**

Degradazione dell'eme

La maggior parte dell'eme deriva dalle emazie (85%) – il resto dai citocromi e da eritrociti immaturi

Le emazie vivono 120 giorni e di poi vengono degradate dallo SRE

Formazione di bilirubina

Eme ossigenasi macrofagica

- richiede NADPH, O₂
- idrossila i ponti metenilici
- Fe⁺² è ossidato a Fe⁺³
- la seconda reazione taglia l'anello
- CO rilasciata con Fe⁺³

produce il pigmento verde biliverdina ridotto a bilirubina (rosso-arancio): pigmenti biliari

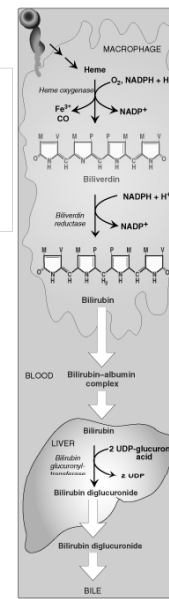


Figure 21.8 Formation of bilirubin from heme. Copyright © 2005 Lippincott Williams & Wilkins

Degradazione dell'eme

uptake di bilirubina dal fegato

idrofobica – trasportata dall'albumina
- alcuni farmaci anionici possono spiazzare la bilirubina causando danni al SNC in neonati (salicilati)

lega le proteine intracellulari epatiche
- ligandina

formazione di bilirubina diglucuronide

coniugazione di 2 molecole di glucoronato
- aumenta la solubilità
- bilirubin glucuroniltransferasi
- acid UDP-glucuronico è il donatore
- I coniugati legano anche l'albumina ma molto più debolmente

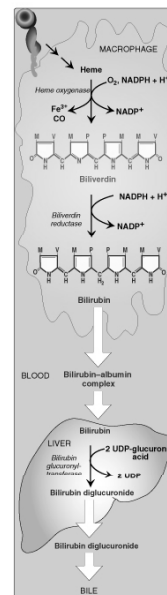


Figure 21.8 Formation of bilirubin from heme. Copyright © 2005 Lippincott Williams & Wilkins

Degradazione dell'eme

escrezione di bilirubina nella bile

attivamente trasportata nella bile

- richiede energia – suscettibile al danno epatico.
- la bilirubina non coniugata non è escreta.

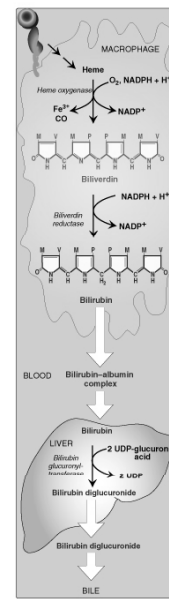


Figure 21.8
Formation of bilirubin from heme.
Copyright © 2005 Lippincott Williams & Wilkins

Circolo entero-epatico dell'urobilina

- La bilirubina glicuroconiugata è idrolizzata e ridotta dai batteri in urobilinogeno
- urobilinogeno ossidato dai batteri in stercobilina
- colore marrone alle feci
- dell'urobilinogeno è riassorbito

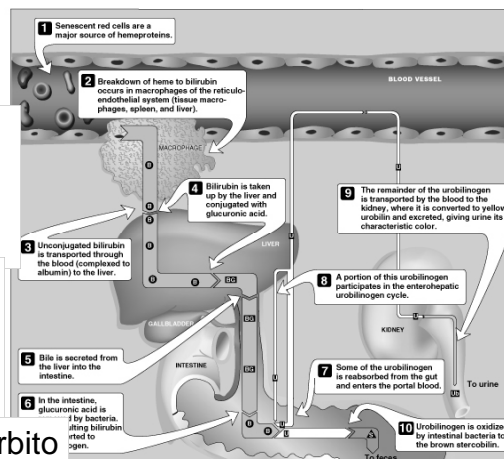


Figure 21.9

○ = bilirubin; ◻ = bilirubin diglucuronide; ◼ = urobilinogen; ◽ = urobilin; ▲ = stercobilin.
Williams & Wilkins

- ciclo entero-epatico dell'urobilinogeno (portato al fegato e ri-escreto nell'intestino)

- urobilinogeno al rene – convertita in urobilina gialla – che dà il colore caratteristico alle urine.

ITTERO

iperbilirubinemia

- causa il colore giallo alla cute, unghie e sclere



Figure 21.10
Jaundiced patient, with the sclerae of his eyes appearing yellow.
Copyright 2010, Elsevier S.P.A.

- non una malattia, ma un segno di disordini sottostanti
- Il sintomo è soggettivo (cefalea, dolore addominale etc.)
- Il segno è oggettivo (ittero, cute pallida, rash cutanei etc.)

Tipi di ittero

Ittero emolitico o pre-epatico

- fegato può smaltire fino a 3000 mg di bilirubina al giorno- normale 300
- emolisi massiva ne produce molto di più
 - non può essere coniugata
 - aumento di bilirubina escreta nella bile ed incremento di urobilina nel sangue e nelle urine
 - bilirubina non coniugata aumenta nel sangue

Ittero ostruttivo o post-epatico

- ostruzione del dotto biliare da tumore o calcolo
- dolore gastrointestinale-nausea
- feci pallide
- può indurre danno epatico e iperbilirubinemia non coniugata, ma aumenta anche la coniugata

Tipi di Ittero

Ittero epatocellulare o epatico

- danno epatico (cirrosi o epatiti) causa incremento dei livelli ematici di bilirubina dovuti a difetto di coniugazione

-la bilirubina coniugata non è trasportata attivamente nella bile e si diffonde nel sangue

-incremento dell'urobilinogeno nella circolazione enteroepatica

-le urine sono scure e le feci chiare

- AST e ALT aumentano

- nausea e anoressia

Ittero Neonatale

I bambini prematuri spesso accumulano bilirubina dovuta all'espressione tardiva di bilirubin glucuroniltransferasi – massima espressione (livelli adulti) ~ 4 settimane

- eccesso di bilirubina può causare encefalopatia tossica (kernittero)

- trattato con luce blu fluorescente

- converte la bilirubina in un composto più molare

- può essere escreto nella bile senza coniugazione

- la sindrome di Crigler - Najjar è caratterizzata da deficit di bilirubin glucuroniltransferasi ed è letale

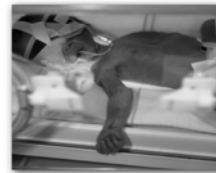


Figure 27-22
Phototherapy of neonatal jaundice.
Copyright © 2012 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

Determinazione della concentrazione di bilirubina

reazione di van den Bergh (in fase acquosa)

- la bilirubina coniugata reagisce prontamente
- la non coniugata ed idrofobica reagisce lentamente

reazione di van den Bergh (in metanolo)

- entrambi la coniugata e la non coniugata reagiscono prontamente in presenza di metanolo dando quindi il valore della bilirubina totale

- la sottrazione della diretta dalla totale dà il valore della bilirubina indiretta.

Esempio di iperbilirubinemia non coniugata: S. di Gilbert

- **Del tutto benigna.**
- **Ridotta captazione epatica di bilirubina e/o coniugazione.**
- **Test all'acido nicotinico e della deprivazione calorica.**

Esempio di iperbilirubinemia coniugata: S. Dubin-Johnson

- **Del tutto benigna.**
- **Ridotta escrezione biliare nei canalicoli della bilirubina coniugata.**
- **Reflusso di bromosultaleina nel plasma con picco secondario caratteristico.**

Disordini della sintesi dell'eme

- **Acquisito: avvelenamento da piombo**
- **Congenite: Porfirie**
- **La deficienza di eme ha effetti lontani da esser raggiunti (emoglobina, citocromi, etc.)**

TOSSICITA' DA PIOMBO

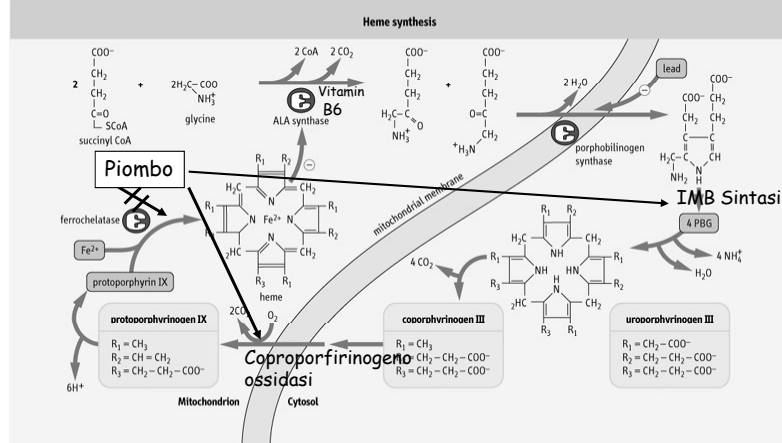
Sintomi

- Irritabilità
- Letargia
- Perdita del sonno
- Cefalee
- Scarso appetito
- Dolore addominale (con o senza vomito)
- Stipsi

Patofisiologia

- Si lega ad ogni composto con gruppi sulfidrilici
- Inibisce multiple reazioni enzimatiche tra cui quelle coinvolte nella sintesi dell'eme (PBG sintetasi & ferrochelatasi)
- Sintomi sono l'incremento della 5-ALA senza concomitante incremento di PBG

HEME SYNTHESIS (CONT.)



© Flehandbones.com Baynes: Medical Biochemistry

PORFIRIE

- Un gruppo di disordini rari causati dal deficit di enzimi coinvolti nella sintesi dell'eme.
- La maggioranza delle porfirie sono ereditate in maniera autosomica dominante e pertanto colpiscono individui che hanno il 50% degli enzimi normali e possono ancora sintetizzare dell'eme.
- Gli individui colpiti accumulano i precursori dell'eme (porfirine) che sono tossici ad elevate concentrazioni.
- Attacchi della malattia sono scatenati da certi farmaci, composti chimici e cibi e anche dall'esposizione al sole (essendo fotosensibilizzanti).
- Il trattamento è basato sulla somministrazione di emina che induce un feedback negativo per la biosintesi dell'eme e pertanto previene l'accumulo dei precursori dell'eme.



Figure 21.5
Skin eruptions in a patient with porphyria cutanea tarda.
Copyright © 2005 Lippincott Williams & Wilkins

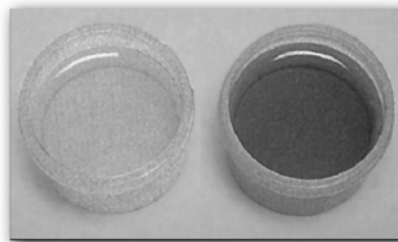


Figure 21.6
Urine from a patient with porphyria cutanea tarda (right) and from a patient with normal porphyrin excretion (left).
Copyright © 2005 Lippincott Williams & Wilkins

King George III - Mad King George



Aveva crisi acute di dolori addominali e confusione mentale

- potrebbe aver sofferto di porfiria
- complicata dai farmaci che i medici gli somministravano

VAMPIRI



Soggetti con porfiria nel Medio Evo???

- gengive e denti sanguinanti e fotosensibilità cutanea

LUPI MANNARI



Soggetti con porfiria nel Medio Evo???

- Ipertricosi e gengive sanguinanti

PORFIRIE EPATICHE

	<i>deficienza enzimatica</i>	<i>ereditarietà</i>	<i>fotosensibilità</i>	<i>sintomi neuroviscerali</i>
<i>deficienza di ALAD</i>	<i>ALA deidratasi</i>	<i>AR</i>	-	+
<i>porfiria acuta intermittente</i>	<i>PBG deaminasi</i>	<i>AD</i>	-	+
<i>coproporfiria ereditaria</i>	<i>COPRO ossidasi</i>	<i>AD</i>	+	+
<i>porfiria variegata</i>	<i>PROTO ossidasi</i>	<i>AD</i>	+	+
<i>porfiria cutanea tarda</i>	<i>URO decarbossilasi</i>	<i>AD</i>	+	-

PORFIRIE ERITROPOIETICHE

	<i>deficienza enzimatica</i>	<i>ereditarietà</i>	<i>fotosensibilità</i>	<i>sintomi neuroviscerali</i>
<i>anemia sideroblastica X-legata</i>	<i>ALA sintetasi</i>	<i>XLR</i>	-	-
<i>porfiria eritropoietica congenita</i>	<i>URO cosintasi</i>	<i>AR</i>	+++	-
<i>porfiria eritropoietica</i>	<i>Fe chelatasi</i>	<i>AD</i>	+	-

Le porfirie si classificano anche in base ai sintomi in acute e non acute

- **Porfirie acute:** si manifestano con dolori addominali con e senza vomito, stipsi (molto raramente diarrea) e sintomi neuropsichici accompagnati o meno da sintomi cutanei.
- **Porfirie non acute:** solo sintomi cutanei.

METABOLITI PORFIRINICI

PORFIRIE EPATICHE

	<i>sangue</i>	<i>urine</i>	<i>feci</i>
<i>deficienza di ALAD</i>	-	<i>ALA, COPRO III</i>	-
<i>porfiria acuta intermittente</i>	-	<i>ALA, PBG</i>	-
<i>coproporfiria ereditaria</i>	-	<i>ALA, PBG, COPRO III</i>	<i>COPRO III</i>
<i>porfiria variegata</i>	-	<i>ALA, PBG, COPRO III</i>	<i>COPRO III, PROTO IX</i>
<i>porfiria cutanea tarda (non acuta)</i>	-	<i>URO I, profirina 7-carbossilata</i>	<i>ISOCOPRO</i>

PORFIRIE ERITROPOIETICHE (tutte non acute)

	<i>sangue</i>	<i>urine</i>	<i>feci</i>
<i>anemia sideroblastica X-legata</i>	-	-	-
<i>porfiria eritropoietica congenita</i>	<i>URO I</i>	<i>URO I</i>	<i>COPRO I</i>
<i>porfiria eritropoietica</i>	<i>PROTO IX</i>	-	<i>PROTO IX</i>

Succinil CoA+Glicina		
↓ ALA-sintetasi (ALAS)		ANEMIA SIDEROBLASTICA X-COLLEGATA
Acido δ-aminolevulinico		
↓ ALA-deidratasi (ALAD)		PORFIRIA DA DEFICIT DI ALAD (Pb)
Porfobilinogeno		
↓ porfobilinogeno deaminasi		PORFIRIA ACUTA INTERMITTENTE (Pb)
Idrossimetilbilano		
↓ uroporfirinogeno sintetasi		PORFIRIA ERITROPOIETICA CONGENITA
Uroporfirinogeno III		
↓ uroporfirinogeno decarbossilasi		PORFIRIA CUTANEA TARDA PORFIRIA EPATOERITROPOIETICA
Coproporfirinogeno III		
↓ coproporfirinogeno ossidasi		COPROPORFIRIA EREDITARIA (Pb)
Protoporfirinogeno IX		
↓ protoporfirinogeno ossidasi		PORFIRIA VARIEGATA
Protoporfirina IX		
↓ EME-sintetasi (EMES)		PORFIRIA ERITROPOIETICA (Pb)
Eme		
DUAL PORFIRIA: deficit concomitante di		PROTOPORFIRINOGENO OSSIDASI UROPORFIBILINOGENO DECARBOSSILASI
CHESTER PORFIRIA: deficit concomitante di		PORFIBILINOGENO DEAMINASI PROTOPORFIRINOGENO OSSIDASI

Table 124-1 Classification of the Human Porphyrias Associated with Deficiencies of Specific Enzymes of the Heme Biosynthetic Pathway

Porphyria	Deficient enzyme	Classification	Inheritance ^a	Principal symptomatology	Biochemical Findings ^a		
					Erythrocytes	Urine	Stool
5-Aminolevulinic acid dehydratase-deficient porphyria (ADP)	5-Aminolevulinic acid dehydratase (ALAD)	Hepatic ^c	AR	Neurovisceral	Zn-protoporphyrin	ALA, coproporphyrin	
Acute intermittent porphyria (AIP)	Porphobilinogen deaminase (PBGD)	Hepatic	AD	Neurovisceral		ALA, PBG, uroporphyrin	
Congenital erythropoietic porphyria (CEP)	Uroporphyrinogen III synthase (UROS)	Erythropoietic	AR	Cutaneous photosensitivity	Uroporphyrin I; coproporphyrin I	Uroporphyrin I; Coproporphyrin I	Coproporphyrin I [§]
Porphyria cutanea tarda (PCT)	Uroporphyrinogen decarboxylase (UROD)	Hepatic	AD [¶]	Cutaneous photosensitivity		Uroporphyrin, Heptacarboxyl-porphyrin	Isocoproporphyrin
Hepatoerythropoietic porphyria (HEP)	Uroporphyrinogen decarboxylase (UROD)	Hepatic ^c	AR	Cutaneous photosensitivity	Zn-protoporphyrin	Uroporphyrin, Heptacarboxyl-porphyrin	Isocoproporphyrin
Hereditary coproporphyria (HCP)	Coproporphyrinogen oxidase (CPO)	Hepatic	AD	Neurovisceral & occasional cutaneous photosensitivity		ALA, PBG, coproporphyrin	
Variegate porphyria (VP)	Protoporphyrinogen oxidase (PPO)	Hepatic	AD	Neurovisceral & cutaneous photosensitivity		ALA, PBG, coproporphyrin	Coproporphyrin; protoporphyrin
Erythropoietic protoporphyria (EPP)	Ferrochelatase	Erythropoietic	AD	Cutaneous photosensitivity	Free protoporphyrin	coproporphyrin	Protoporphyrin

^aOnly major increases are listed.
^bAR = Autosomal recessive; AD = Autosomal dominant.
^cThese porphyrias also have erythropoietic features including increased erythrocyte porphyrins.
[§]Type isomers; ALA = 5-aminolevulinic acid; PBG = porphobilinogen.
[¶]Inherited deficiency of UROD is partially responsible for familial (type II) PCT.

Scriver et al., The Metabolic & Molecular Basis of Inherited Disease, 8th edition, 2001.

PORFIRIA ACUTA INTERMITTENTE

(1)

•Epatica, autosomica dominante

• Causata da un deficit del porfobilinogeno deaminasi, che è coinvolto nella conversione del porfobilinogeno nell'idrossimetilbilano e quindi nell'uroporfirinogeno III

•PBG e 5-ALA si accumulano nel plasma e nelle urine

•I pazienti hanno sintomi neuropsichiatrici e dolore addominale (neuroviscerale), ma non sintomi cutanei non avendo accumuli di composti a struttura ciclica.

PORFIRIA ACUTA INTERMITTENTE (2)

•E' scatenata dall'assunzione di farmaci, alcool, digiuno protratto, ormoni steroidei e stato di gravidanza limitatamente ai difetti associati di α reduttasi.

•Farmaci che possono innescare attacchi acuti di porfiria:

-Barbiturici, Carbamazepina, Clorpropamide, Dapsone, Danazolo, Griseofulvina, Fenilbutazone, Tolbutamide, Valproato, Difenilidantoina, Sulfamidici, Novobiocina.

Stimolano la ALA S causando un accumulo di metaboliti della sintesi dell'eme che è bloccata a valle.

PORFIRIA CUTANEA TARDA

- La porfiria più comune
- Epatica, autosomica dominante
- **Malattia dovuta al deficit dell'uroporfirinogeno decarbossilasi che è coinvolto nella conversione di uroporfirinogeno III a coproporfirinogeno III**
può estrinsecarsi dopo esposizione a solventi aromatici alogenati
- **I pazienti sono fotosensibili (fotosensibilità cutanea)**
L'accumulo del porfirinogeno risulta nella sua conversione dalla luce in porfirine;
Le porfirine reagiscono con l'ossigeno molecolare per formare radicali di ossigeno;
I radicali di ossigeno causano seri danni alla pelle.

Vi è il rischio di epatocarcinoma

PORFIRIA VARIEGATA

La sintomatologia, simile a quella della PAI e della CPE, si manifestano dopo la pubertà.

Dovuta a deficit di protoporfirinogeno ossidasi. Autosomica dominante. ALA, PBG e coproporfirina nelle urine.

COPROPORFIRIA EREDITARIA

Dovuta a deficit di coproporfirinogeno ossidasi. Accumulo in urine di PBG, Coproporfirina e ALA. E' scatenata dagli stessi fattori che scatenano la PAI.

E' latente durante la pubertà ed è più comune nelle donne. Sintomi viscerali si associano a sintomi presenti nella PAI e nella PV e della PCT

PORFIRIA EPATOERITROPOIETICA

Autosomica recessiva. Dovuta a deficit di Fe chelatasi. Protoporfirina nelle feci. Ricorda la porfiria eritropoietica congenita e associa lesioni cutanee, ipertricosi, urine di colore rosso nell'infanzia e nell'adolescenza.

ANEMIA SIDEROBLASTICA LEGATA AL CROMOSOMA X

E' associata ad eritropoiesi inefficace, astenia e pallore. Dovuta a deficit di ALA sintasi.

PORFIRIA ERITROPOIETICA CONGENITA

Anche nota come malattia di Gunther, presenta anemia emolitica e lesioni cutanee (fotosensibilità) molto accentuate. Dovuta a deficit di di uroporfirinogeno cosintasi. Uroporfirina I e coproporfirina I nelle urine.

PORFIRIA DA DEFICIT DI ALA-D

Clinica: variabile

4 casi al mondo:

2 in adolescenti tedeschi che presentavano dolori addominali acuti e neuropatia

1 in un neonato svedese che presentava mancato sviluppo con richiesta di trasfusioni e nutrizione parenterale

1 uomo belga (63 anni) con polineuropatia motoria acuta e policitemia

ALA-DEIDRATASI

L'enzima è controllato da un gene autosomico, localizzato sul cromosoma 9q34, con due alleli codominanti ALAD1 e ALAD2 (genotipi), la cui espressione esita in tre differenti fenotipi: ALAD1-1, ALAD1-2 e ALAD2-2.

La frequenza di genotipo è rispettivamente:

90% ALAD1

10% ALAD2

ALA-DEIDRATASI

In caso di deficienza genetica dell'enzima, gli eterozigoti mostrano una attività enzimatica pari a circa il 50% dei controlli, gli omozigoti uguale o inferiore al 5%.

Gli eterozigoti, e ancor più gli omozigoti, esposti a piombo hanno un rischio maggiore e l'intossicazione acuta può manifestarsi in assenza di esposizione rilevante.

ALA-DEIDRATASI

Il genotipo ALAD2 è stato dimostrato con maggiore frequenza nei soggetti con esposizioni più rilevanti e prolungate e probabilmente è presente una differente biodisponibilità del piombo:

- 1. Aumentato assorbimento*
- 2. Ridotta eliminazione*
- 3. Ridotta distribuzione tissutale*

Tali eventi possono favorire un maggior afflusso renale con una maggiore incidenza di nefropatie.

ALA-DEIDRATASI

Il genotipo ALAD1 dimostra invece la presenza di una maggiore concentrazione di ALA.

Tale fenomeno pare in relazione ad una maggiore suscettibilità del sistema nervoso centrale in quanto l'ALA è strutturalmente simile all'acido γ -aminobutirrico e compete con esse.