

ORMONI

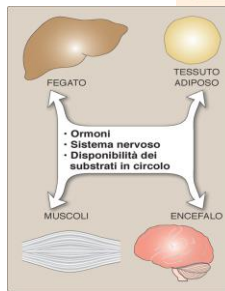
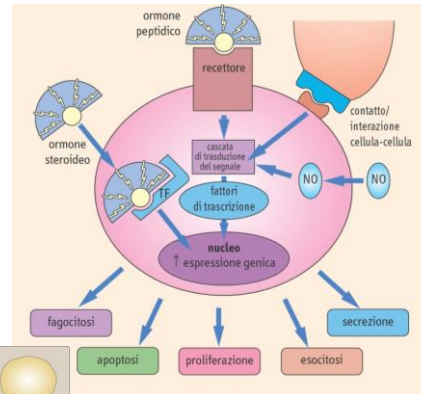
Sostanze presenti a concentrazioni molto basse (circa 10^{-9} M) che agiscono legandosi ai recettori (proteine) inducendo specifiche risposte cellulari; Legami con i recettori analoghi a quelle substrato-enzima:

Risposte saturabili (cinetica Michaelis-Menten)

Altissima affinità ($KD=10^{-6}$ - 10^{-9} M)

Specificità altissima ma non assoluta.

Cinetiche di ordine zero: la risposta dipende dalla densità dei recettori presenti e non dalla conc. di ormone.



1

Ormoni pancreatici

Il pancreas **endocrino** (isole di Langerhans) produce questi ormoni:

- **Insulina**
- **Glucagone**
- **Somatostatina**

Il pancreas **esocrino** produce gli enzimi digestivi (come zimogeni), attivati nel duodeno.

2

Insulina- Storia

1921: Dr. Frederick Banting and Charles Best isolate insulin and use it to treat diabetic dogs.

1922: At the age of 14, Leonard Thompson becomes the first human being to receive insulin.

1923: Eli Lilly and Company markets Iletin® (animal source insulin), the first commercially available insulin.

1950s: Amino acid sequences for several species of insulin are described.

1960s: Complete chemical synthesis of insulin is achieved. Proinsulin is discovered. Purity of insulin is improved. X-ray crystal structure of insulin is established.

3

INSULINA ESTRATTA DAL PANCREAS DI ANIMALI

- **Prima che fosse disponibile l'insulina ricombinante, essa era ottenuta dal pancreas di bovino o di suino (4-5 Kg di tessuto pancreatico per paziente/anno).**

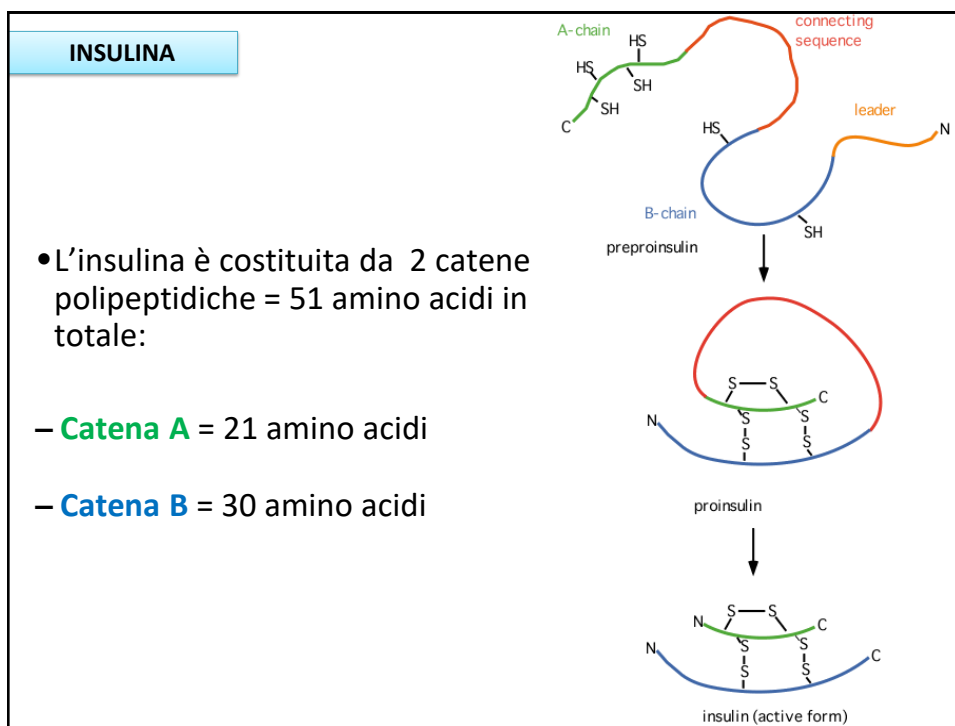
Bovino = 3 amminoacidi diversi dall'insulina umana

Maiale = 1 amminoacido diverso

Gli amminoacidi diversi possono stimolare risposte allergiche;

Per questo motivo è da preferire assolutamente l'insulina umana

4



5

DA PREPROINSULINA A INSULINA

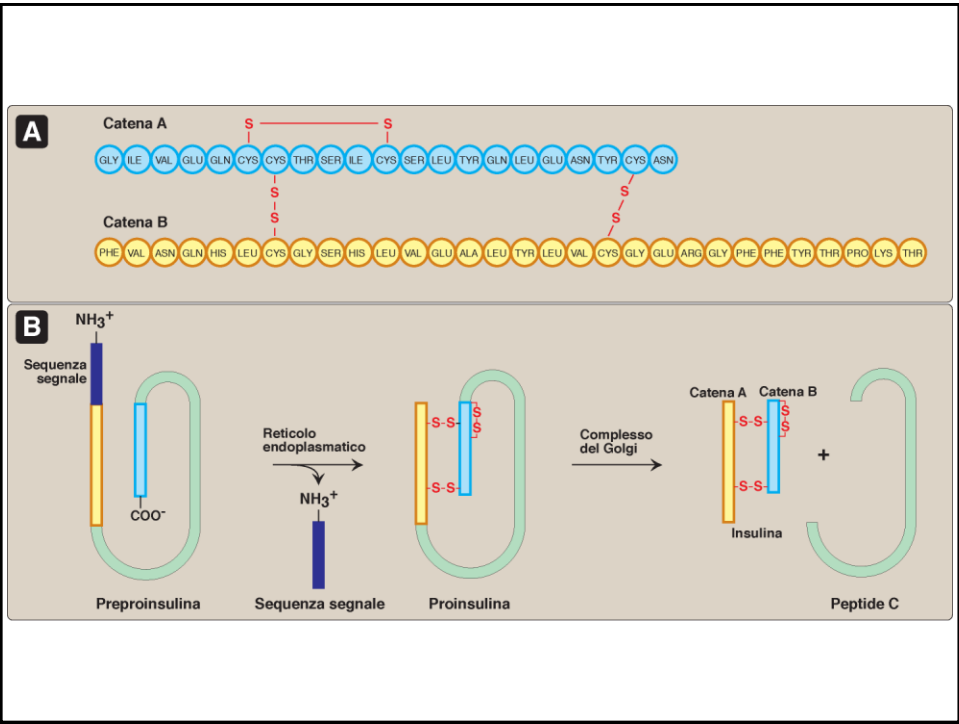
Preproinsulina:

- Contiene un segnale di presequenza
- Il segnale di presequenza è rimosso dopo il legame al RER
- La rimozione di 33 amino acidi nell' Apparato del Golgi e l'unione delle catene A e B formano l'insulina

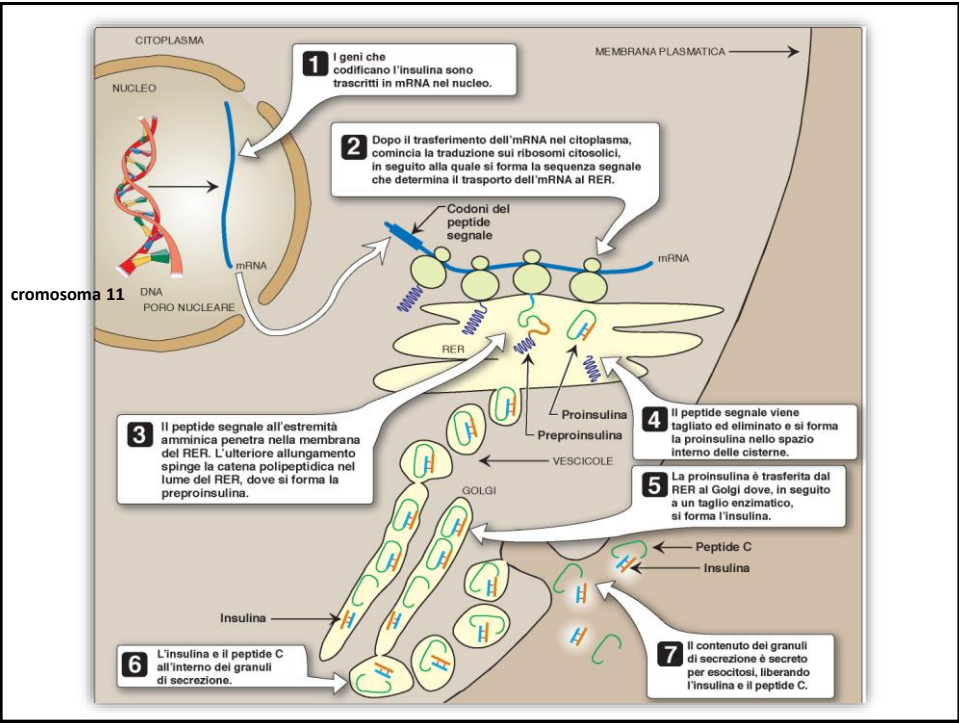
Insulina:

- Due ponti disolfuro intercatena legano insieme la catena A e la catena B
- Un ponte disolfuro intracatena è presente nella catena A

6



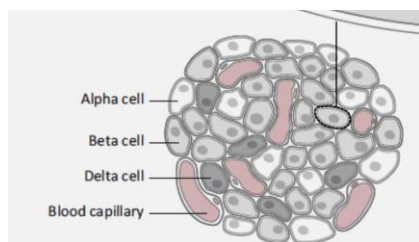
7



8

Insulina

•Ormone sintetizzato dalle cellule β del pancreas.



•Rende capaci le cellule di captare il glucosio dal sangue per catabolizzarlo e produrre ATP o per sintetizzare glicogeno.

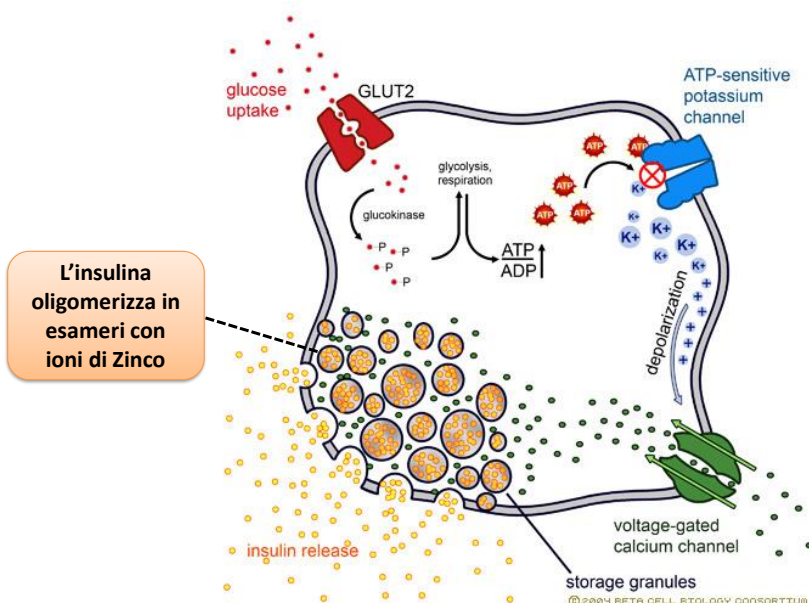
•L'assenza di insulina provoca il diabete mellito insulino-dipendente – IDDM, di tipo I)

•In questo caso:

- Le cellule non possono captare il glucosio dal sangue
- Si sintetizza insufficiente ATP
- Il glucosio (escreto dai reni) viene eliminato con le urine
- Dev'essere iniettata l'insulina per evitare gravi complicazioni.

9

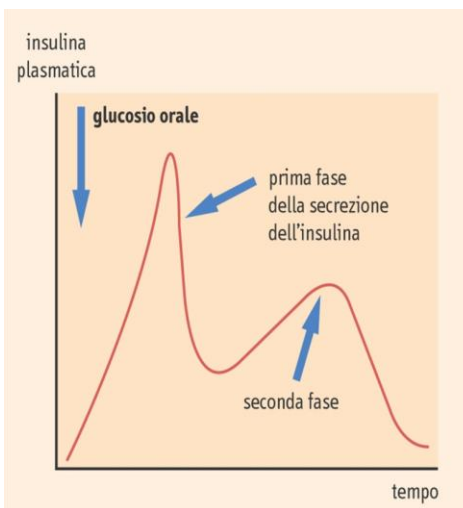
Secrezione d'insulina



10

Secrezione d'insulina

- ✓ La secrezione di insulina segue due fasi
- ✓ La seconda fase comporta la produzione di nuova insulina ed è stimolata da acilCoA citoplasmatici
- ✓ La secrezione è stimolata anche da amminoacidi come la leucina, arginina e lisina
- ✓ La secrezione è anche stimolata da peptidi di origine intestinale prodotti in seguito all'ingestione di cibo: **GIP (peptide insulintropico glucosio-dipendente)**, **GLP-1 (peptide 1 glucagone-simile)**, **colecistochinica**



13

Insulinemia

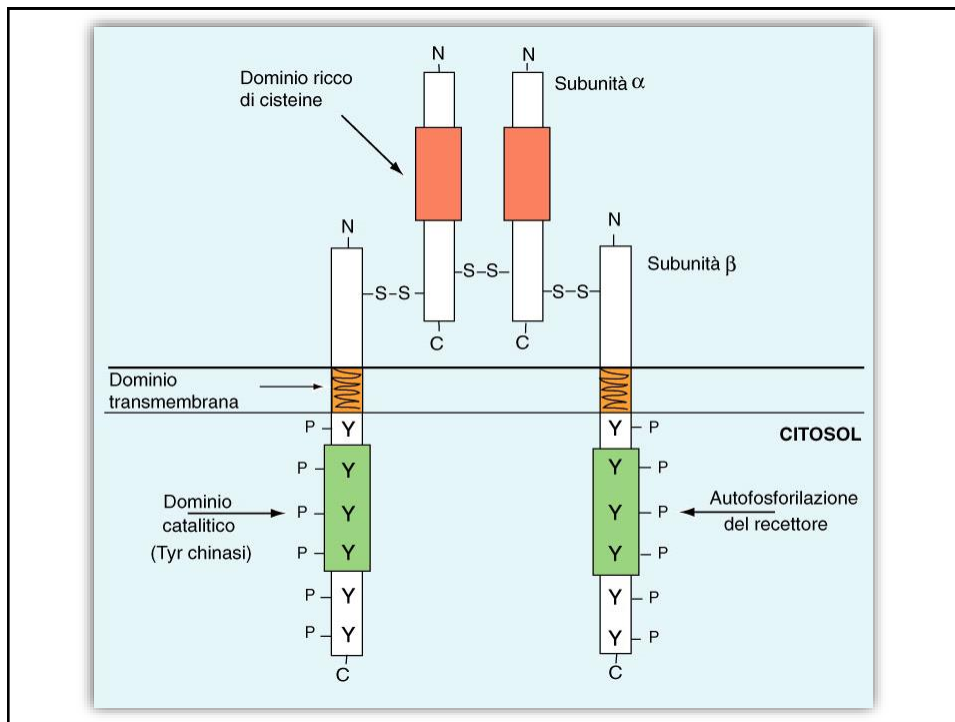
La quantità di **insulina secreta** nell'uomo, per il controllo della glicemia, è pari a 50-70 U/die (ca. **1U/kg di peso corporeo**), che corrisponde a ca. 15-20% di quella depositata: la quantità immagazzinata nel pancreas è di ca 400 U.

La sua secrezione è regolata dalla concentrazione di glucosio, di alcuni amminoacidi, dal glucagone e dall'adrenalina.

L'inattivazione è provocata da una proteasi insulino-dipendente e dall'enzima citosolico epatico glutatione – insulina – transidrogenasi (insulinasi - IDE) che riduce i ponti disolfuro solo dell'insulina monomerica.

L'**insulinemia** a digiuno è pari a 10-20 $\mu\text{U/l}$ che si innalza di 10 volte dopo un pasto per tornare a valori normali dopo ca. 2 ore.

14

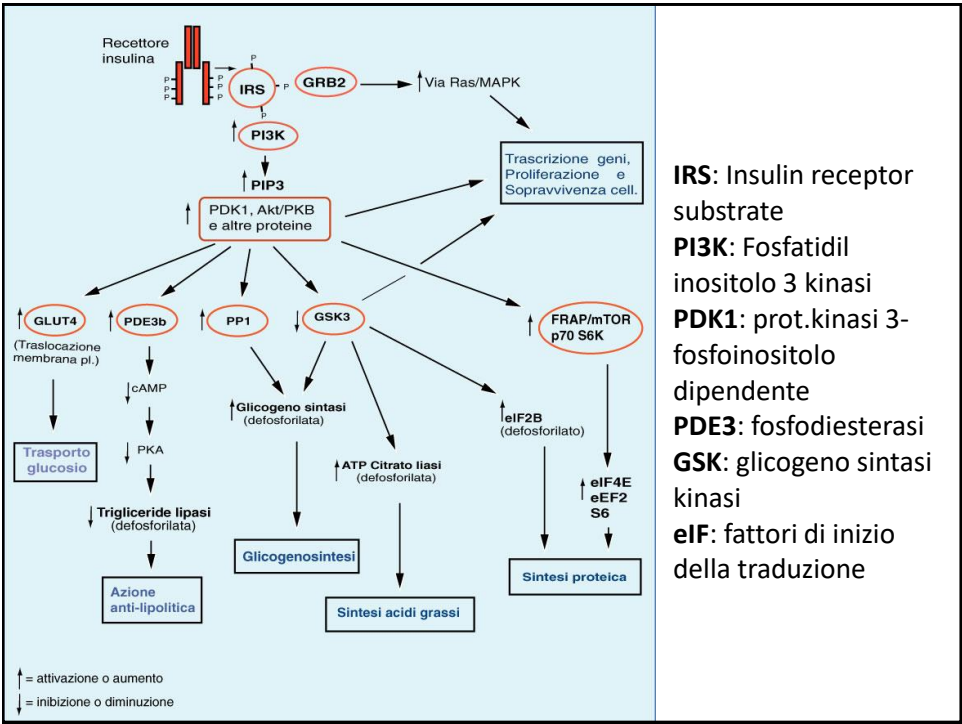


15

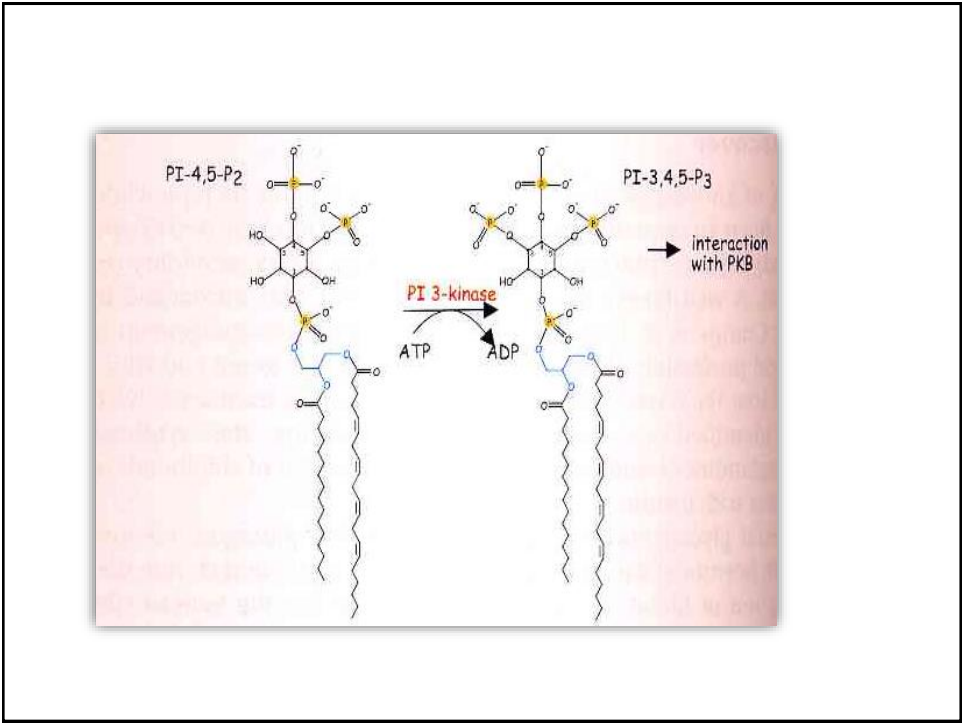
RECETTORE DELL'INSULINA

- Il recettore dell'insulina (IR) è una proteina **eterotetramERICA** costituita da due subunità α extracellulari e due subunità β trans-membrana. Si tratta di una **Protein Tyrosin-kinase (PTK)**.
- Il legame dell'insulina alle subunità α provoca **l'autofosforilazione delle subunità β** e precisamente di 7 residui di tirosina con un aumento dell'attività catalitica dell'enzima di 200 volte, che innesca tutta una serie di reazioni a cascata tra cui l'attivazione della GLUT4 muscolare e del tessuto adiposo.
- **L'inattivazione** dell'enzima avviene per azione di **2 Protein Tyrosin phosphatase**.

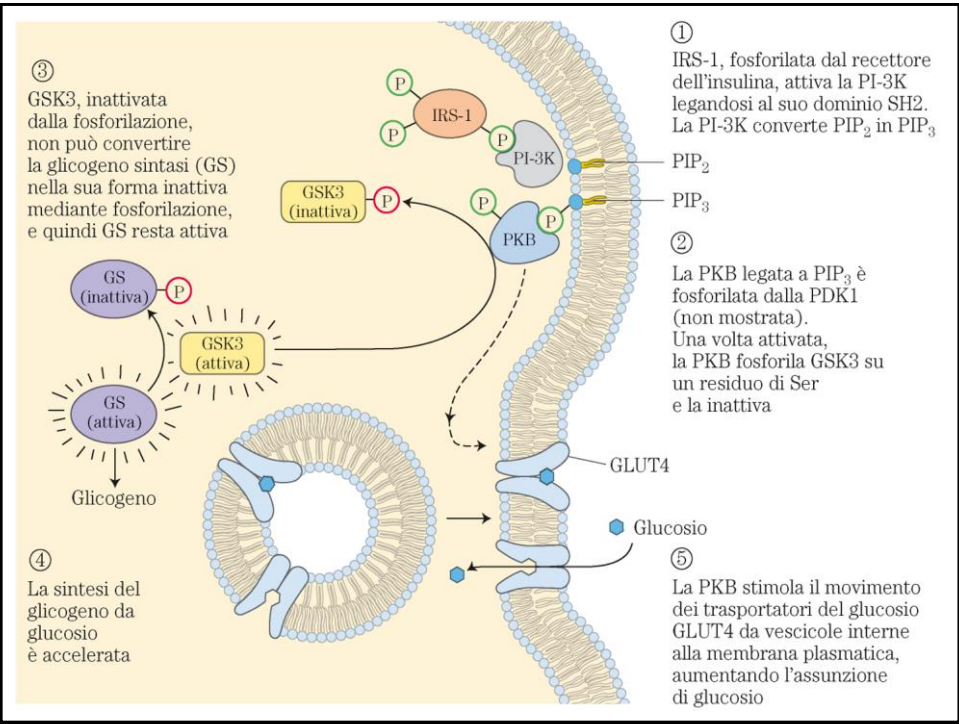
16



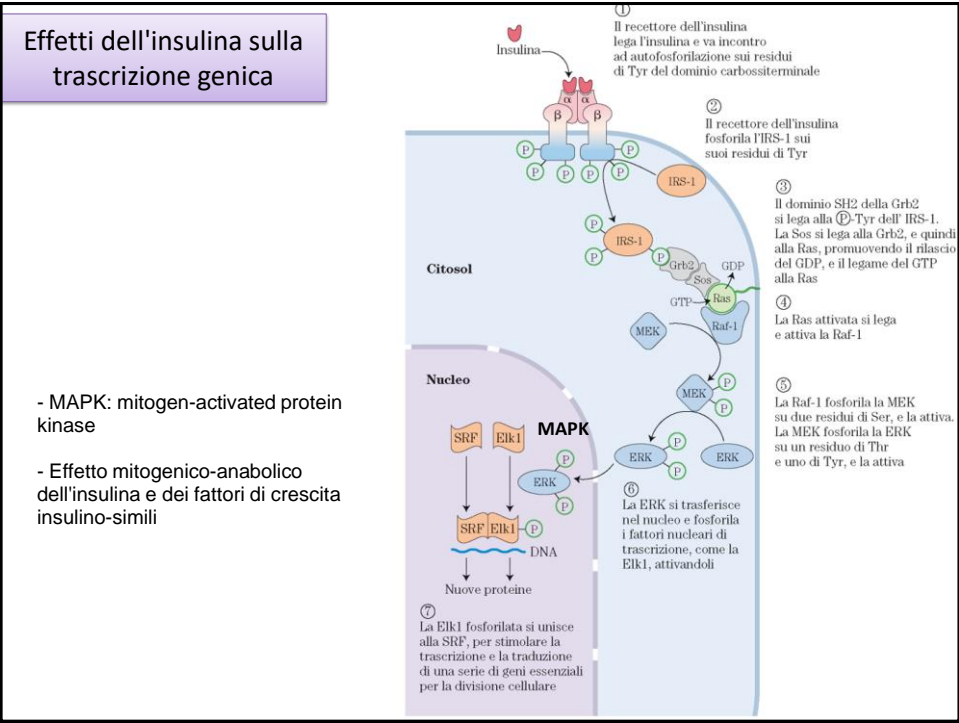
17



18



19



20

L'insulina regola la sintesi degli enzimi chiave della glicolisi e della gluconeogenesi

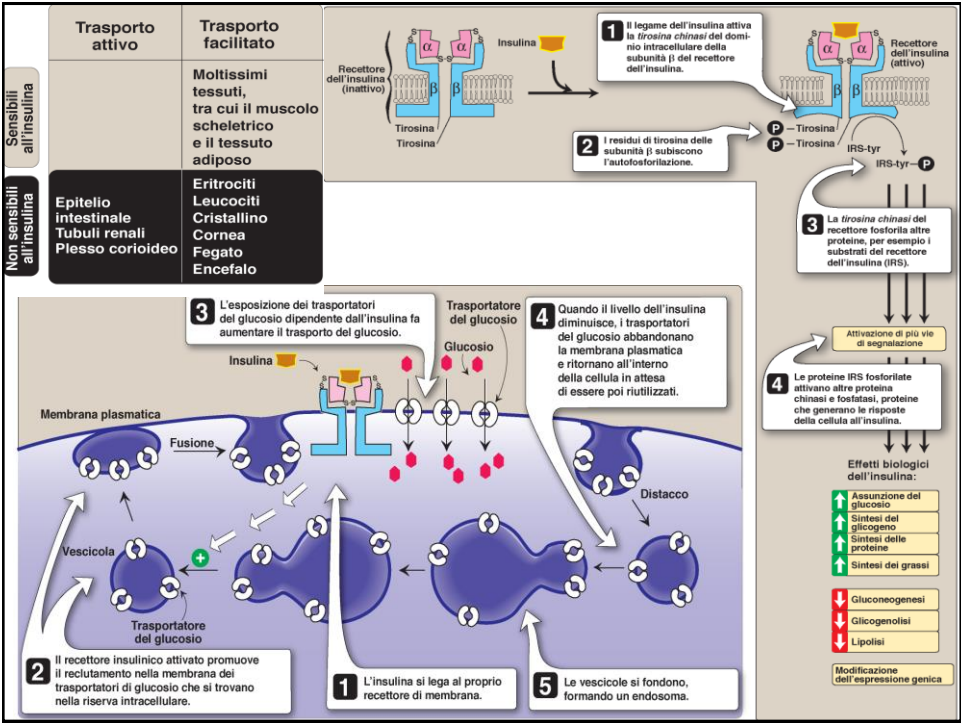
Con dieta ricca di carboidrati si ha:

Induzione della trascrizione genica degli enzimi glicolitici
glucokinasi
PFK
piruvato chinasi
glicogeno sintetasi

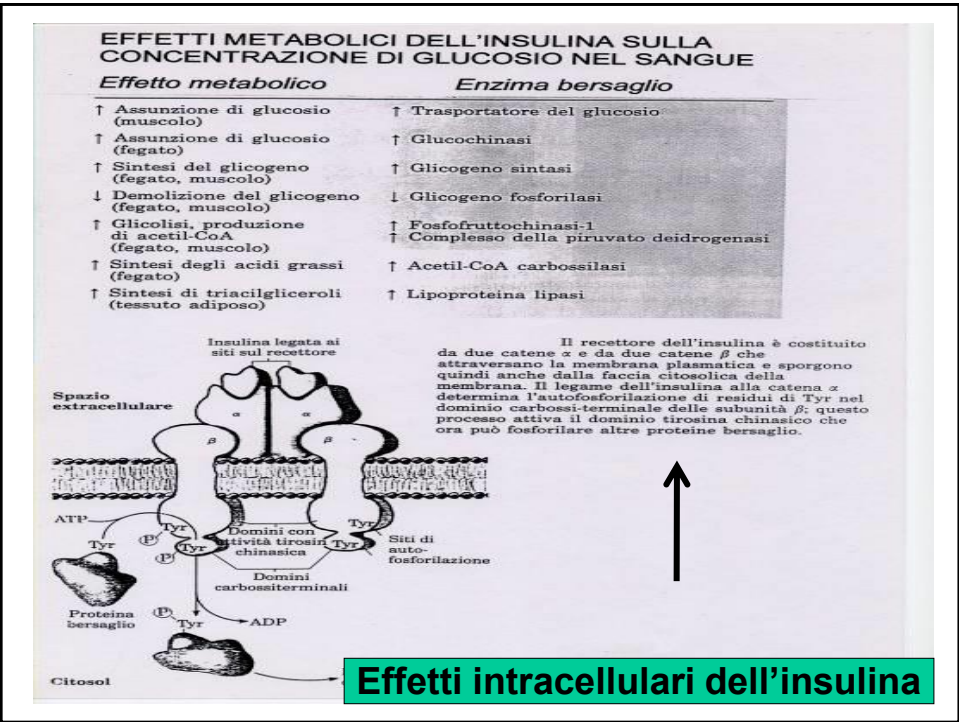
Inibizione degli enzimi chiave della gluconeogenesi
piruvato carbossilasi
fosfoenolpiruvato carbossichinasi
F-1,6-BPasi
G-6-Pasi

Il glucagone ha sempre effetti opposti a quelli dell'insulina

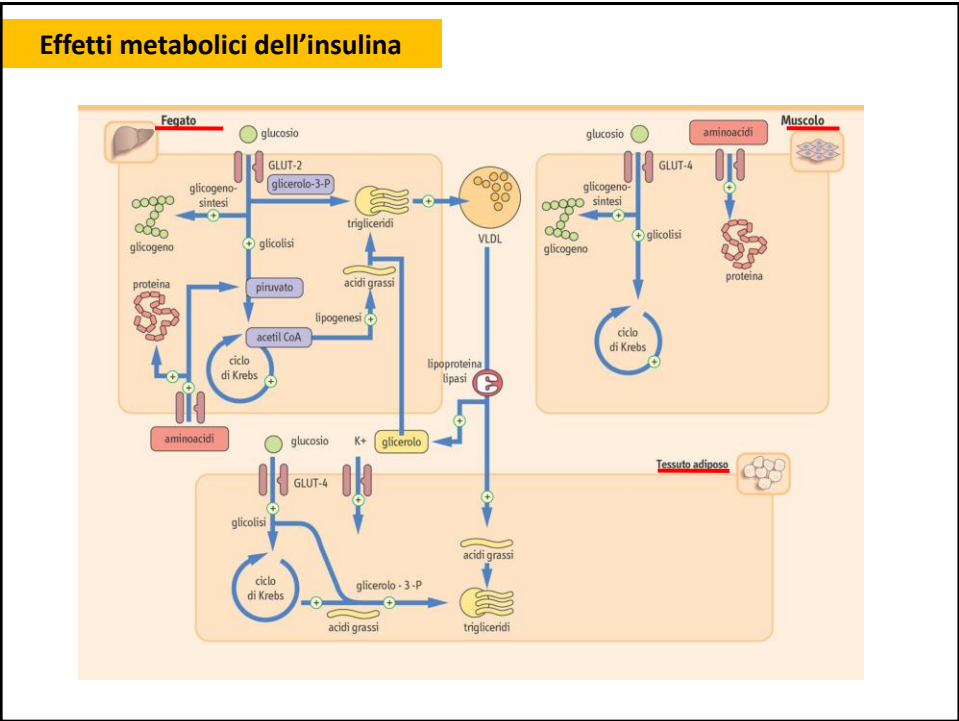
21



22

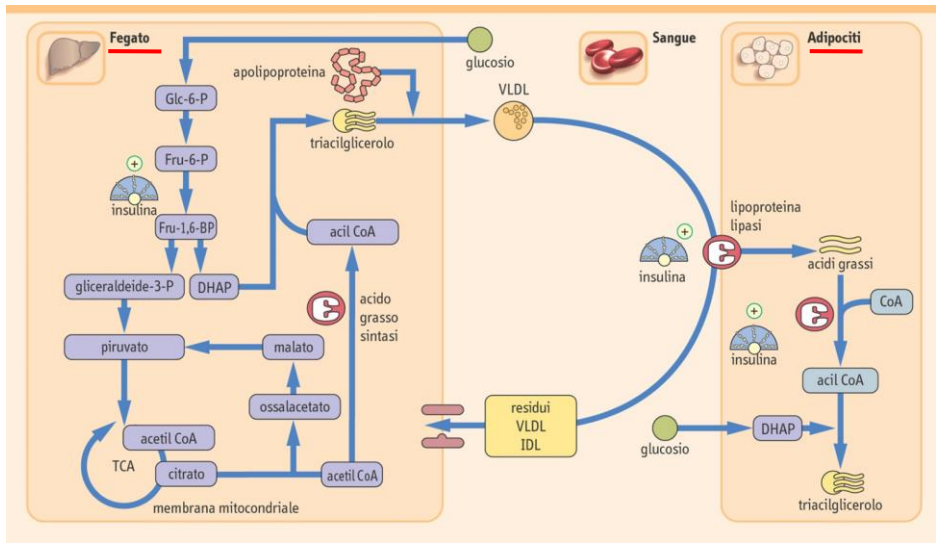


23



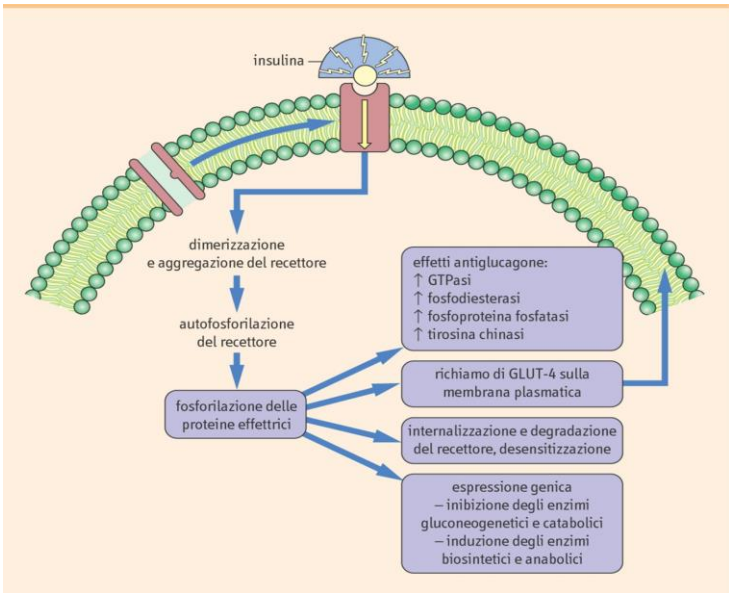
24

Trasporto e deposito dei grassi
in seguito all'alimentazione



25

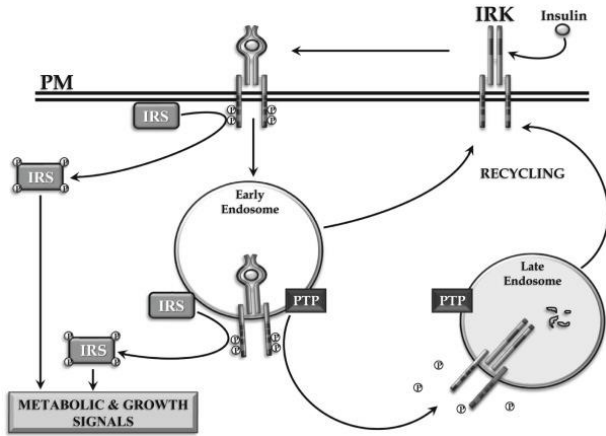
Meccanismi d'azione dell'Insulina



26

degradazione dell'Insulina

Insulin has a short half-life in the circulation, estimated at 4-6 minutes

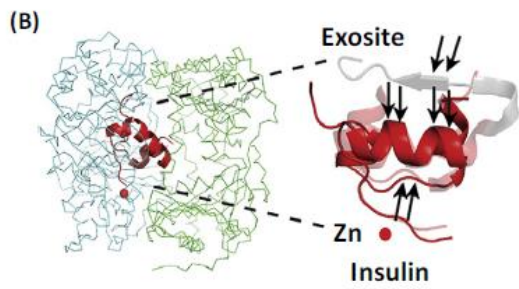


Insulin is degraded in tissues after binding to the insulin receptor. In this receptor-mediated degradation, the insulin-insulin receptor complexes come together on the plasma membrane of the target cell, forming groups that are sequestered in so-called coated-pits.

27

degradazione dell'Insulina

After internalization, insulin is degraded in the intraendosomal space in which **Insulin-degrading Enzyme (IDE)** has been localized. Two major cleavage sites were found, one in the insulin A chain (between residues L13 and Y14) and one in the B chain (between residues S9 and H10)



The human protein **Insulin-degrading Enzyme** is ~118 kDa in size and composed of 1019 amino acid

28

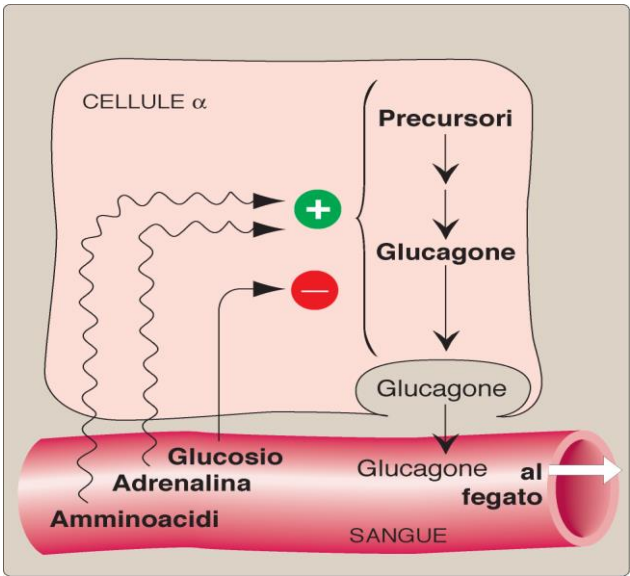
GLUCAGONE

-
- Diagram illustrating the primary structure of a protein, showing a linear sequence of 29 amino acids. The sequence is represented by a circular arrangement of colored beads, each labeled with an amino acid abbreviation. The sequence starts at position 1 (GLY) and ends at position 29 (THR). The amino acids are: 1. GLY, 2. THR, 3. PHE, 4. THR, 5. SER, 6. ASP, 7. TYR, 8. SER, 9. LYS, 10. TYR, 11. LEU, 12. ASP, 13. SER, 14. ARG, 15. ARG, 16. ALA, 17. GLN, 18. ASP, 19. PHE, 20. VAL, 21. GLN, 22. TRP, 23. LEU, 24. MET, 25. ASN, 26. THR, 27. THR, 28. THR, 29. THR.
- © Georges Delia

© : Georges Dolisi

15

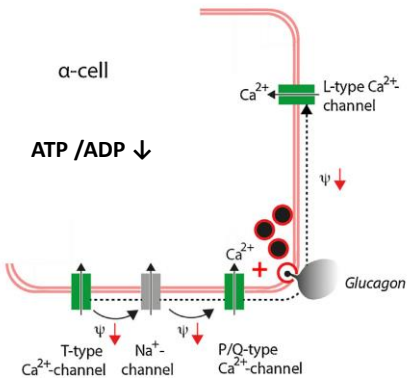
IPOGLICEMIA: RISPOSTA DEL PANCREAS



31

Secrezione di Glucagone

Le cellule α esprimono il trasportatore di membrana GLUT1.
La Glucochinasi simile a quella delle cellule β
Le esochinasi con bassa K_m , coinvolte nel rilevare basse concentrazioni di glucosio (saturate a 1 mM)
Il flusso della via glicolitica è simile a quello delle cellule β , ma nelle cellule α è essenzialmente anaerobica, mentre nelle cellule β è aerobica

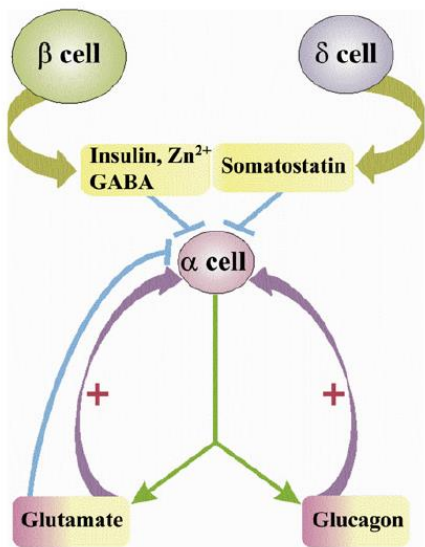


In condizioni di ipoglicemia i canali al Calcio T-type sono attivati e causano depolarizzazione attivando i canali al Sodio (Nav), che attivano i canali al calcio L-type e P/Q type, presenti nelle vicinanze dei granuli secretori.

32

Secrezione di Glucagone

La secrezione di glucagone è regolata sia per via **paracrina** che per via **autocrina**



Il glucagone rilasciato dalle cellule α determina un segnale positivo **autocrino** e sembra essere in grado di promuovere l'ulteriore rilascio di glucagone.

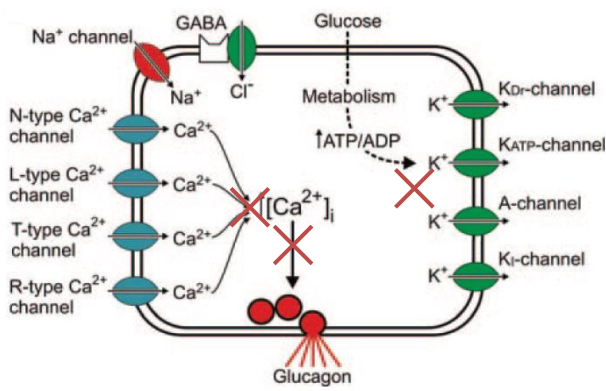
Il glutammato co-secreto con il glucagone può avere un effetto sia negativo che positivo, sulla secrezione di glucagone da parte delle cellule α.

La secrezione delle cellule α è sotto il controllo negativo paracrina da parte delle cellule β (tramite l'insulina e lo Zn) e le cellule δ (somatostatina).

33

Secrezione di Glucagone

In condizioni di iperglicemia, il glucosio inibisce la secrezione di glucagone. L'incremento della concentrazione del glucosio determina l'aumento dell'ATP con conseguente depolarizzazione della membrana e chiusura dei canali K_{ATP} e inattivazione dei Canali Nav e blocco dell'ingresso di Calcio.



34

Trasduzione del segnale glucagone e adrenalina

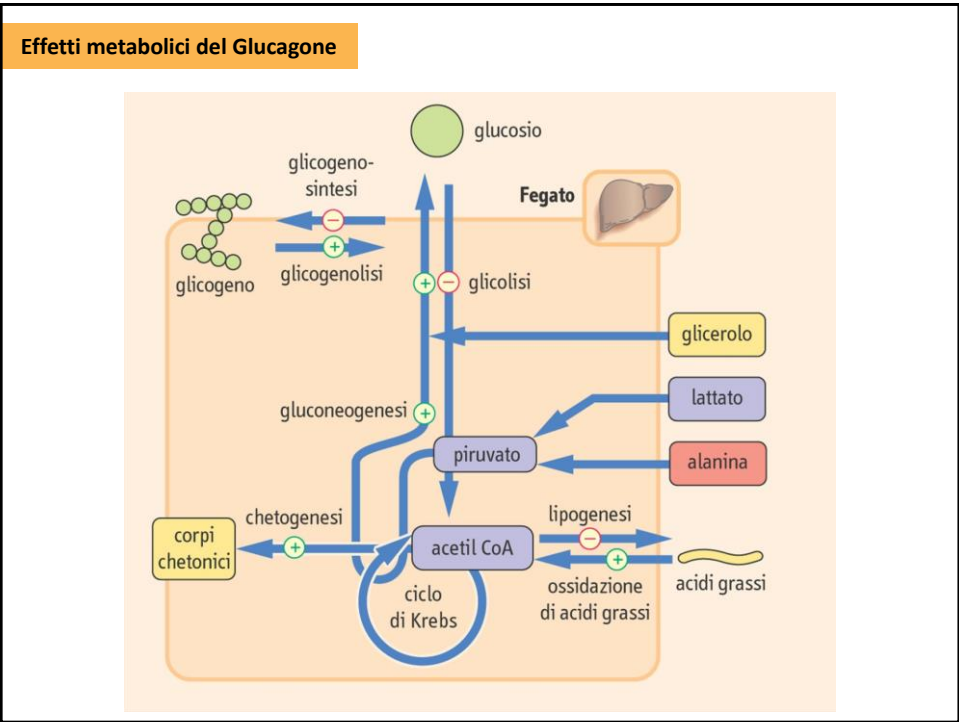
- Il **glucagone** si lega a recettori presente principalmente nel **fegato**, dove mobilizza il glicogeno per il ripristino della glicemia, e nel **rene**. **Il muscolo non ha recettori per il glucagone.**
- L'**adrenalina** si può legare sia ai recettori β -adrenergici (con un meccanismo identico a quello del glucagone) che a quelli α -adrenergici del fegato (ma con un meccanismo differente). Il glicogeno muscolare viene mobilizzato dall'adrenalina che si lega ai recettori β -adrenergici del muscolo.

35

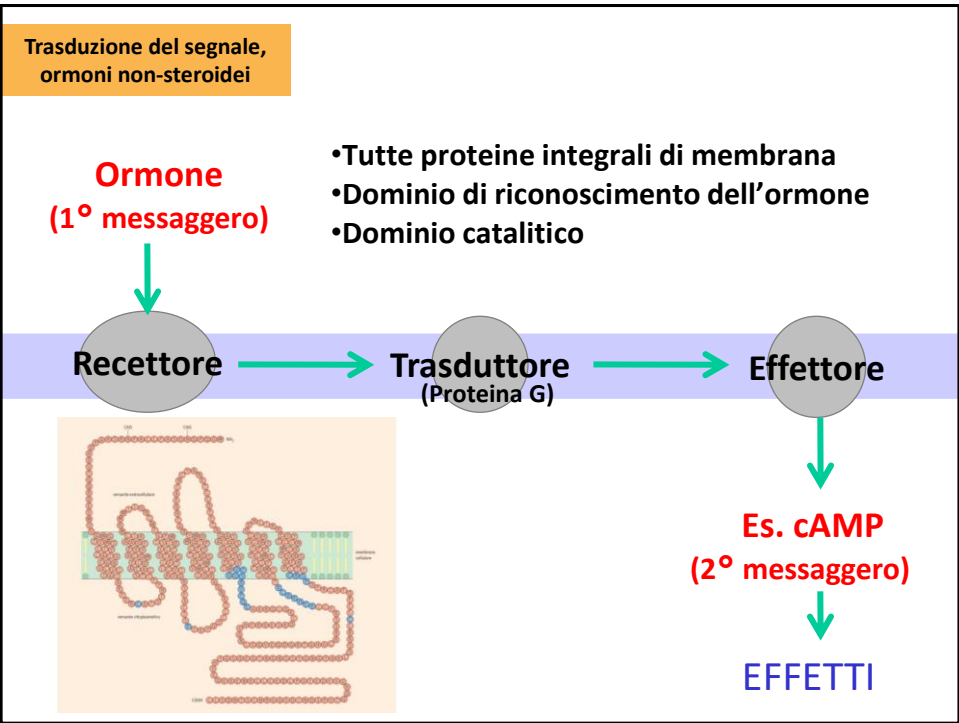
Glucagone e Adrenalina

- Regolazione della gluconeogenesi e glicogenolisi epatica
- L'**adrenalina** stimola la **glicogenolisi muscolare** e la **glicolisi muscolare** (nel muscolo ma non nel fegato **PFK-2 produce F-2,6BP** in seguito a fosforilazione)
- **Entrambi stimolano la lipolisi nel tessuto adiposo**
- **Il rilascio di questi ormoni è regolato anche da stress** (patologico, fisiologico, psicologico)

36

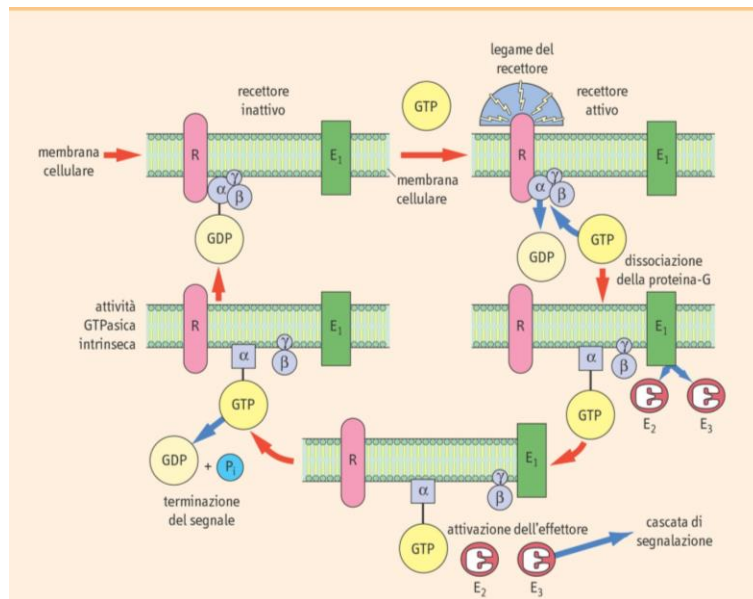


37



38

Meccanismo d'azione delle proteine G

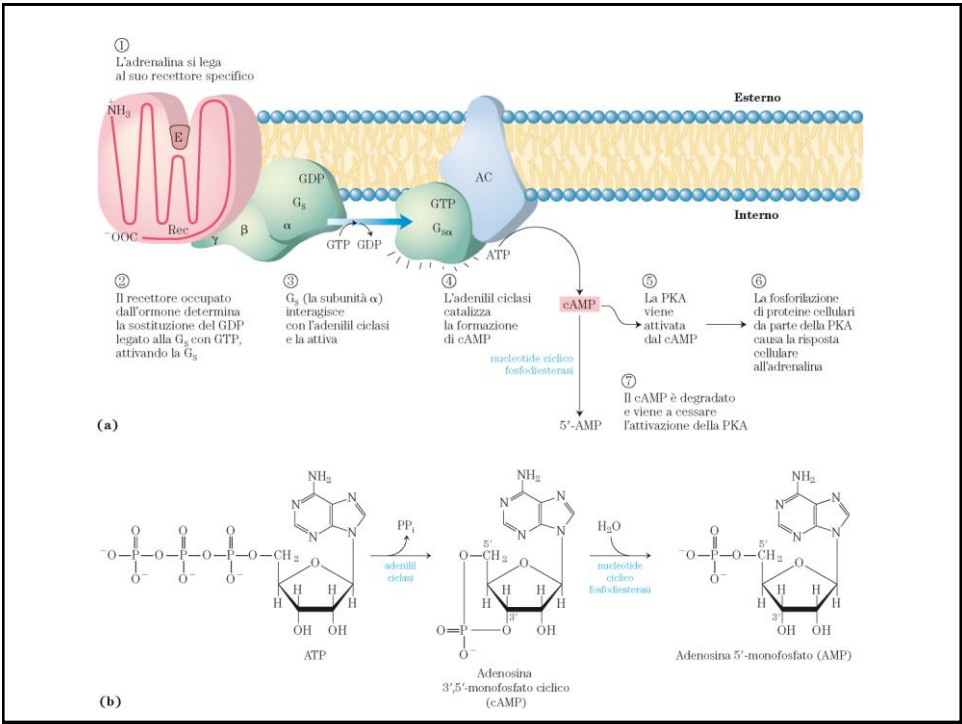


41

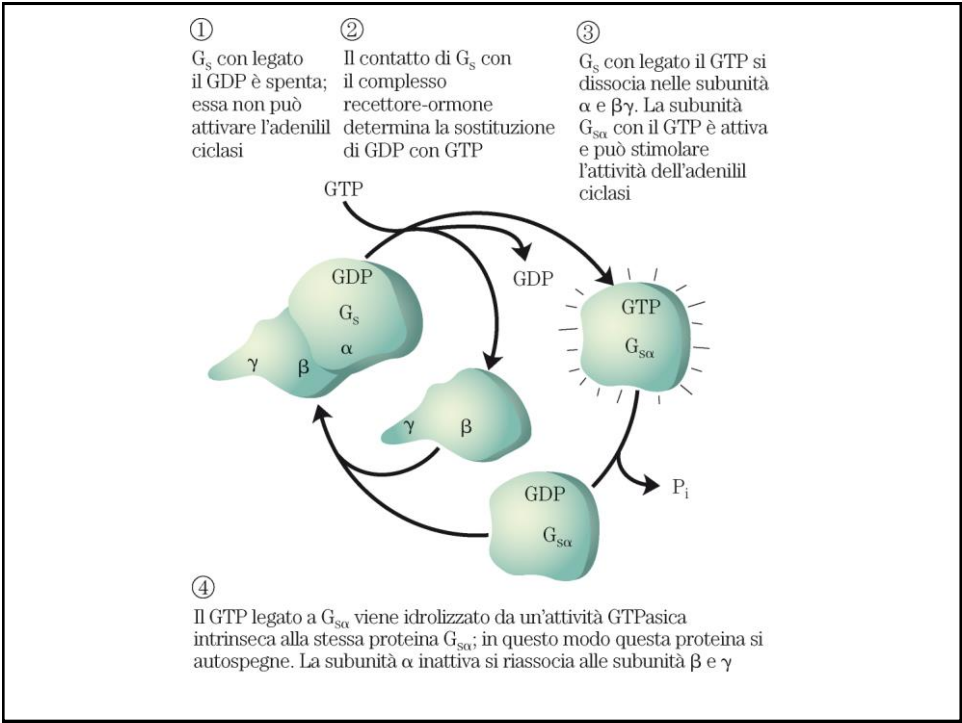
Funzioni della subunità α

- **Forma α_s** , stimolatore dell'effettore AC (resa costitutivamente attiva dalla tossina del colera)
- **Forma α_i** , inibitore dell'effettore (inibita dalla tossina della pertosse)
- **Forma α_q** , stimolatore dell'effettore PLC

42

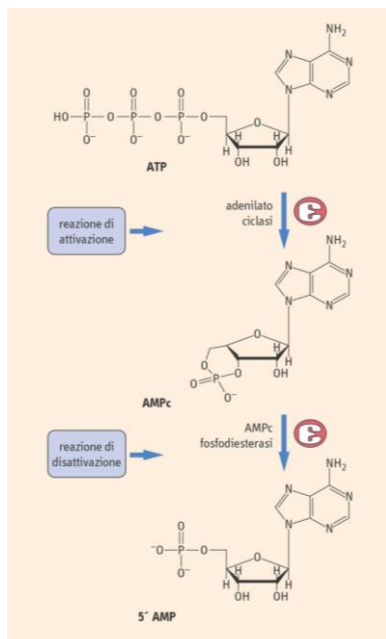


43



44

Metabolismo dell'AMPc



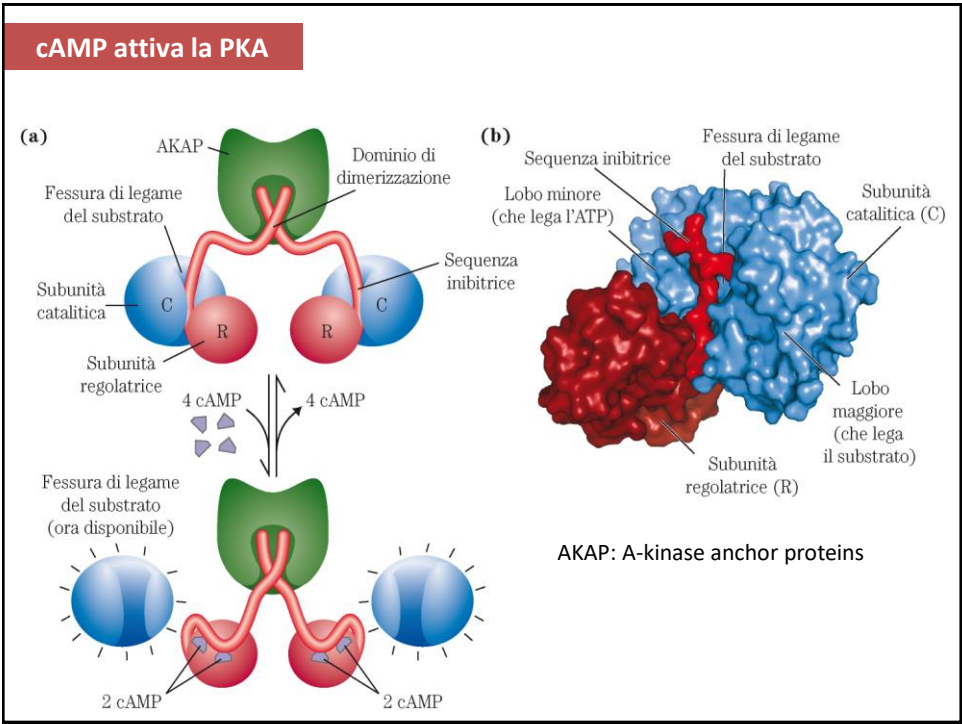
45

Effetto di caffeina, teofillina, teobromina

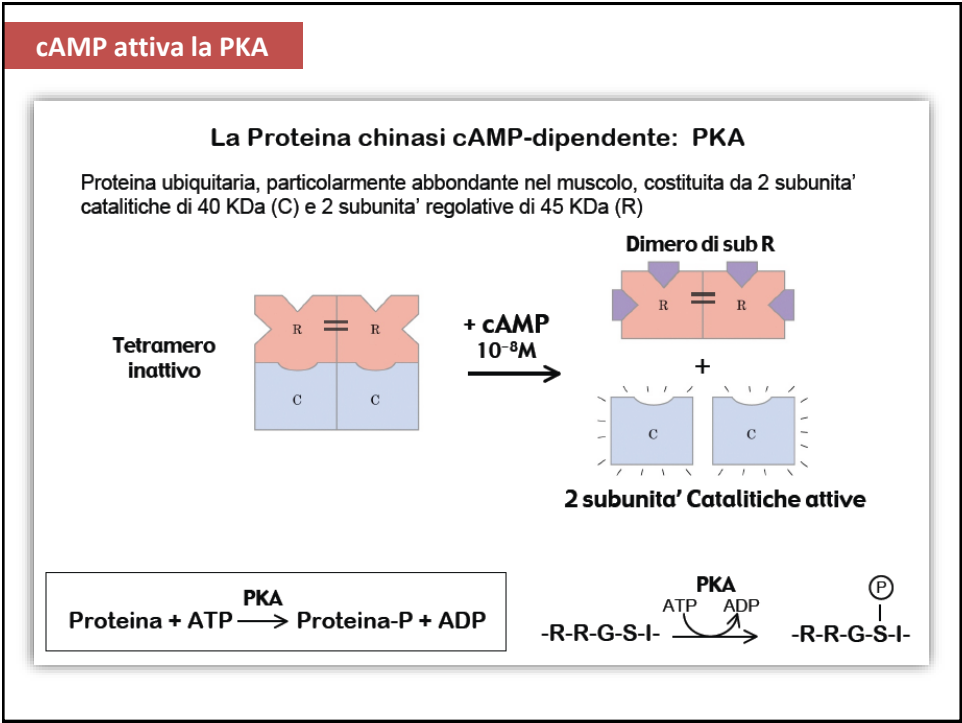
I derivati metilati delle purine:

Caffeina (caffè), Teofillina (thè) e Teobromina (cacao) inibiscono la fosfodiesterasi prolungando gli effetti del cAMP.

46



47

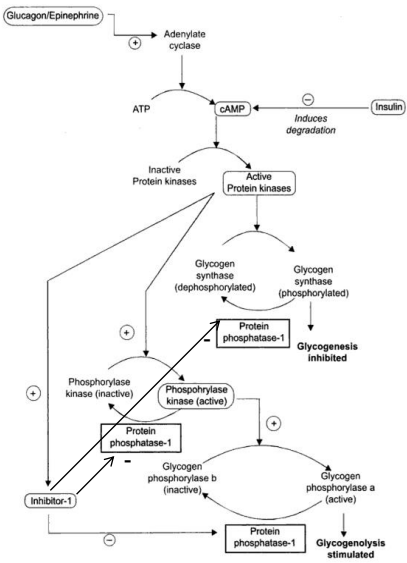


48

Meccanismo di azione della PKA

La modificazione covalente (tramite fosforilazione) di enzimi chiave è un importante meccanismo di regolazione del metabolismo degli zuccheri e dei lipidi.

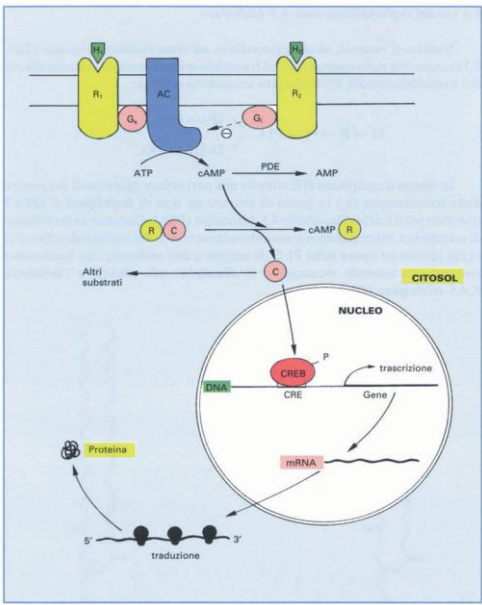
- 1) Fosforilazione di fosforilasi chinasi, PFK2-F-2,6BPasi, piruvato chinasi, trigliceride lipasi
- 2) Fosforilazione di pompe e canali: Es. Na^+/K^+ -ATPasi, canali al Ca^{++} , acquaporina
- 3) Inibizione della defosforilazione tramite l'azione della PP1 (fosfoproteina fosfatasi 1) esercitata dall'inibitore 1



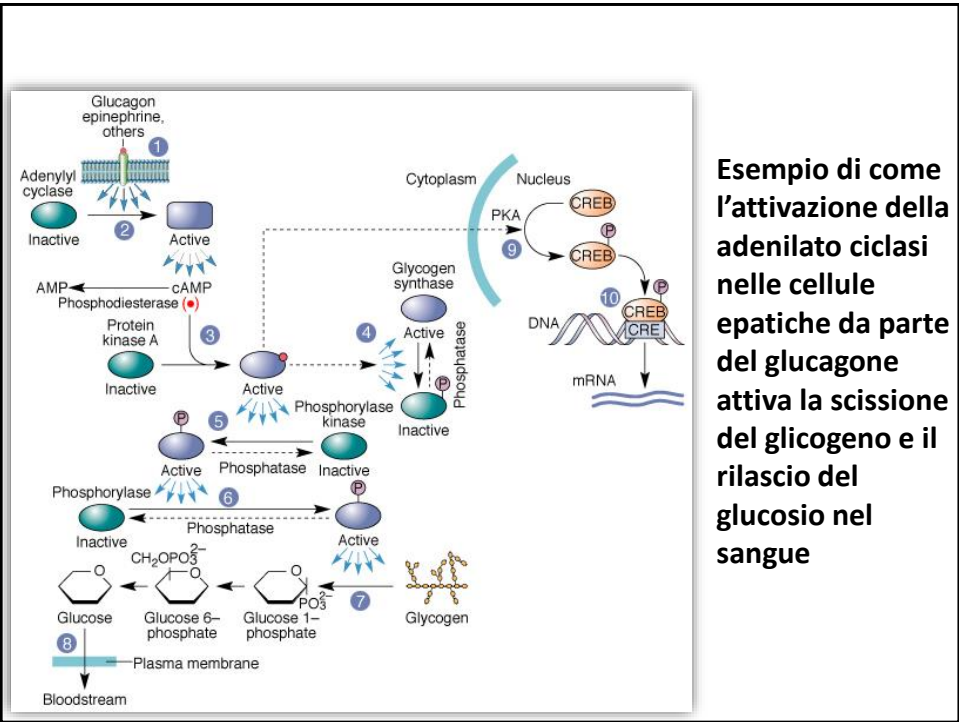
49

Meccanismo di azione della PKA

- 4) Attivazione della trascrizione genica mediante CREB



50



Esempio di come l'attivazione della adenilato ciclasti nelle cellule epatiche da parte del glucagone attiva la scissione del glicogeno e il rilascio del glucosio nel sangue

51

Recettore $\beta 2$ -adrenergico

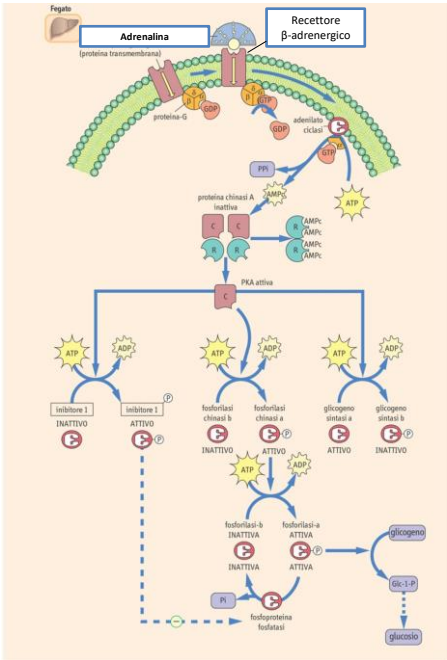
7 segmenti transmembrana

- **Ormone attivatore:**
adrenalina > NA
- **Agonista:**
isoproterenolo
- **Attiva prot. Gs**

The diagram shows the structure of the $\beta 2$ -adrenergic receptor, a G-protein coupled receptor (GPCR) with 7 transmembrane segments. It is embedded in a lipid bilayer. The extracellular surface (Superficie extracellulare) is on the left, and the cytoplasmic surface (Citoplasma) is on the right. The receptor is shown with an oligosaccharide chain (Oligosaccaridi legati con legame N) attached to the extracellular domain. The cytoplasmic domain is shown with a carboxylate group ($-OOC-$) and an amino group ($-NH_3^+$).

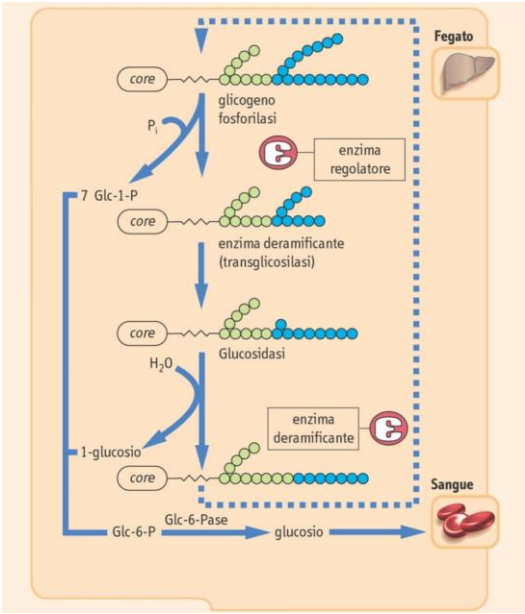
52

Sistema di amplificazione a cascata



53

Glicogenolisi

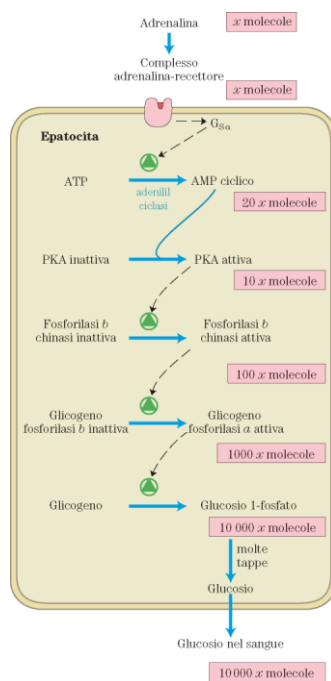


54

Meccanismo a cascata della glicogenolisi

Quello della glicogenolisi è un meccanismo di catalisi multienzimatica con amplificazione a cascata.

Ad es. per ogni molecola di adenilato-ciclastasi attivata dall'ormone adrenalina che si lega ai recettori β -adrenergici della membrana dell'epatocita si producono 40 molecole di cAMP che attivano 10 molecole di proteina chinasi, ognuna delle quali attiva 10 molecole di fosforilasi kinasi e così via, fino ad ottenere 10000 molecole di glucosio che si riversano nel sangue dal fegato



55

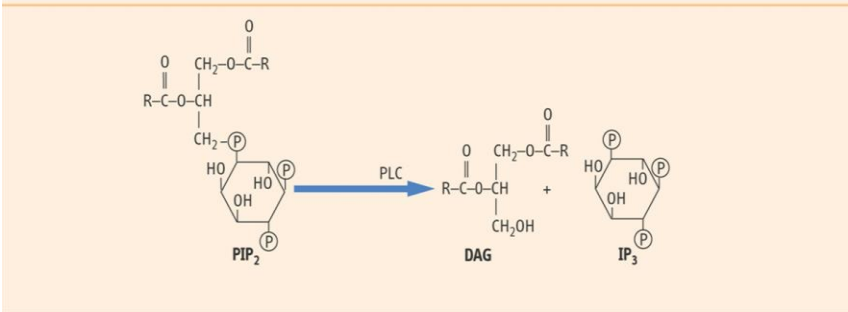
Recettore α 1-adrenergico

(7 segmenti transmembrana)

- Ormone attivatore: **NA > adrenalina**
- Attiva prot. Gq

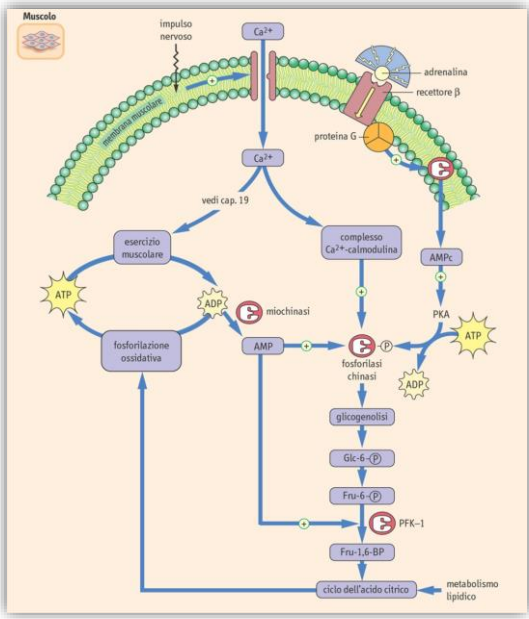
56

Attivazione della glicogenolisi epatica a opera dell'adrenalina



59

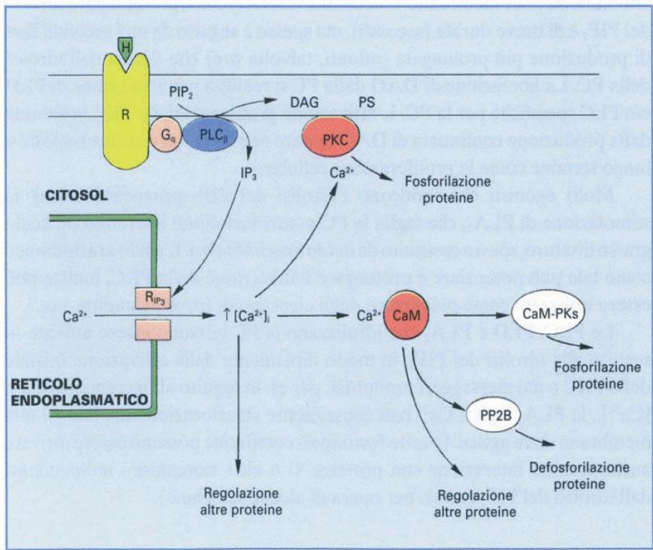
Attivazione della glicogenolisi e glicolisi nel muscolo durante l'esercizio fisico



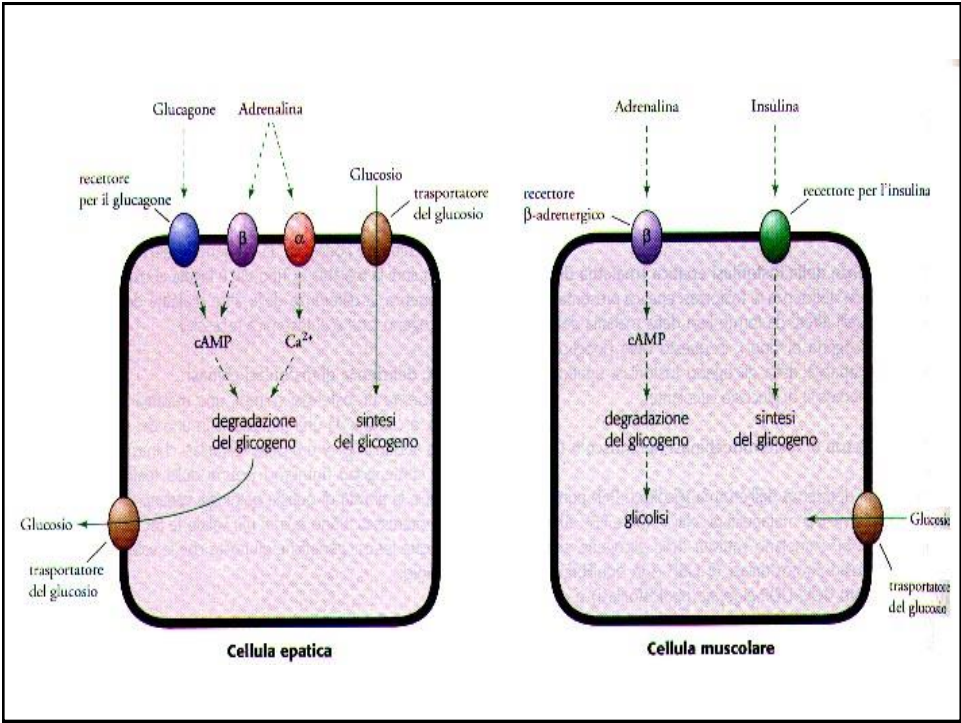
60

Ca⁺⁺ come messaggero intracellulare

- concentrazione citosolica basale bassa (10⁻⁷ M)
- ingresso dall'esterno a da depositi intracellulari
- si raggiungono conc micromolari
- spesso la concentrazione aumenta in uno specifico distretto cellulare (spikes di calcio)



61



63

Effetti metabolici dell'adrenalina

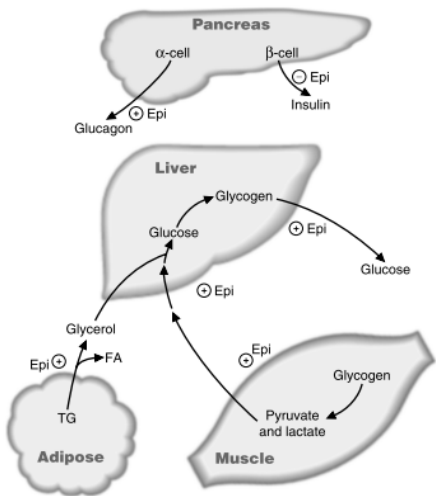
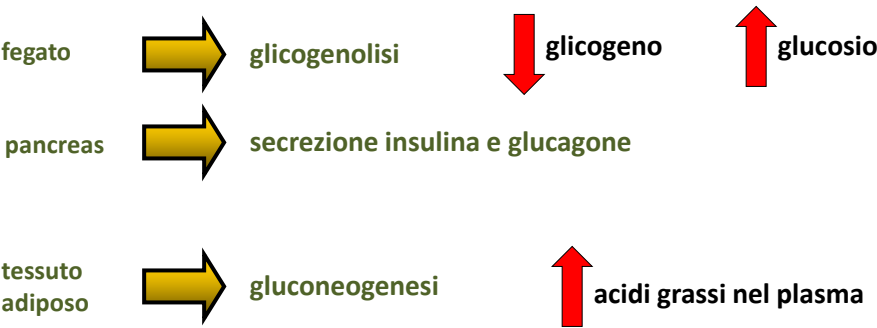


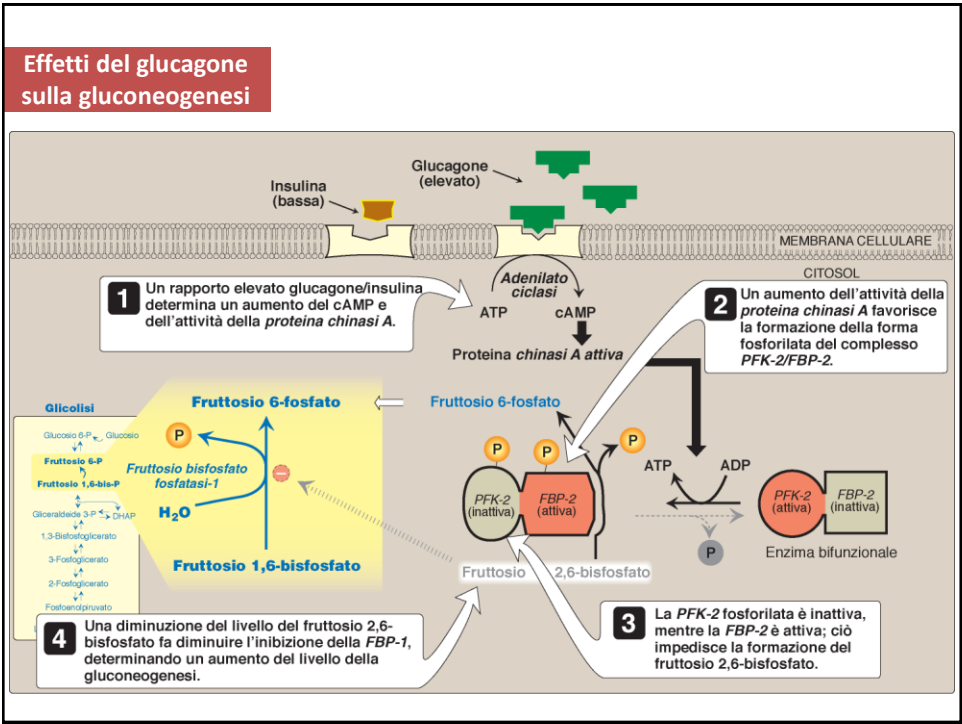
Fig. 43.6. Effects of epinephrine on fuel metabolism and pancreatic endocrine function. Epinephrine (Epi) stimulates glycogen breakdown in muscle and liver, gluconeogenesis in liver, and lipolysis in adipose tissue. Epinephrine further reinforces these effects because it increases the secretion of glucagon, a hormone that shares many of the same effects as epinephrine. Epi also inhibits insulin release but stimulates glucagon release from the pancreas.

64

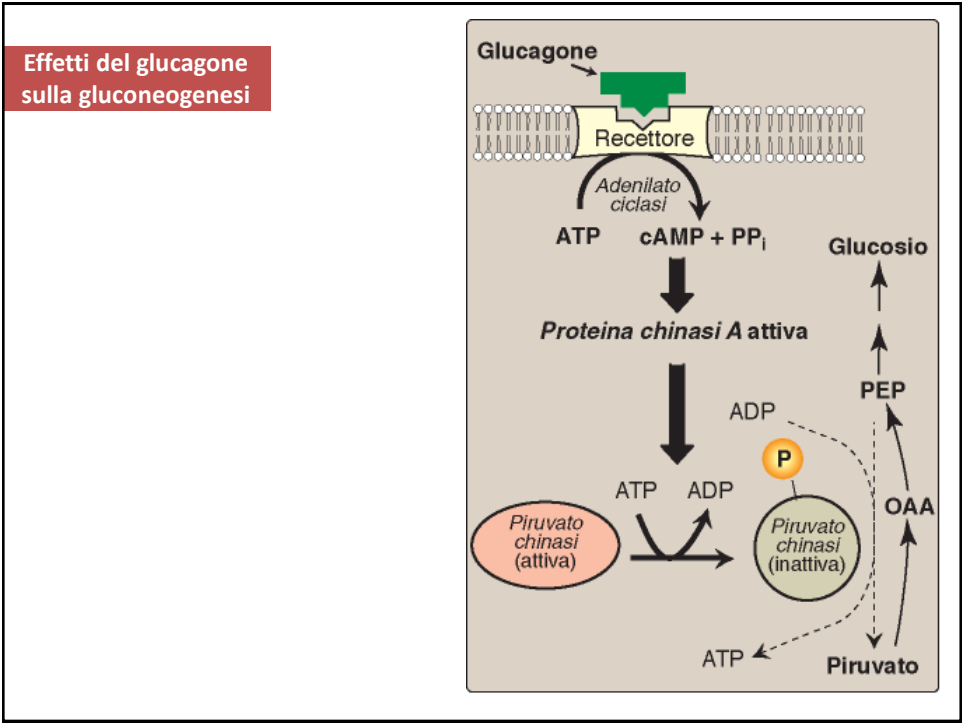
Effetti metabolici delle catecolamine



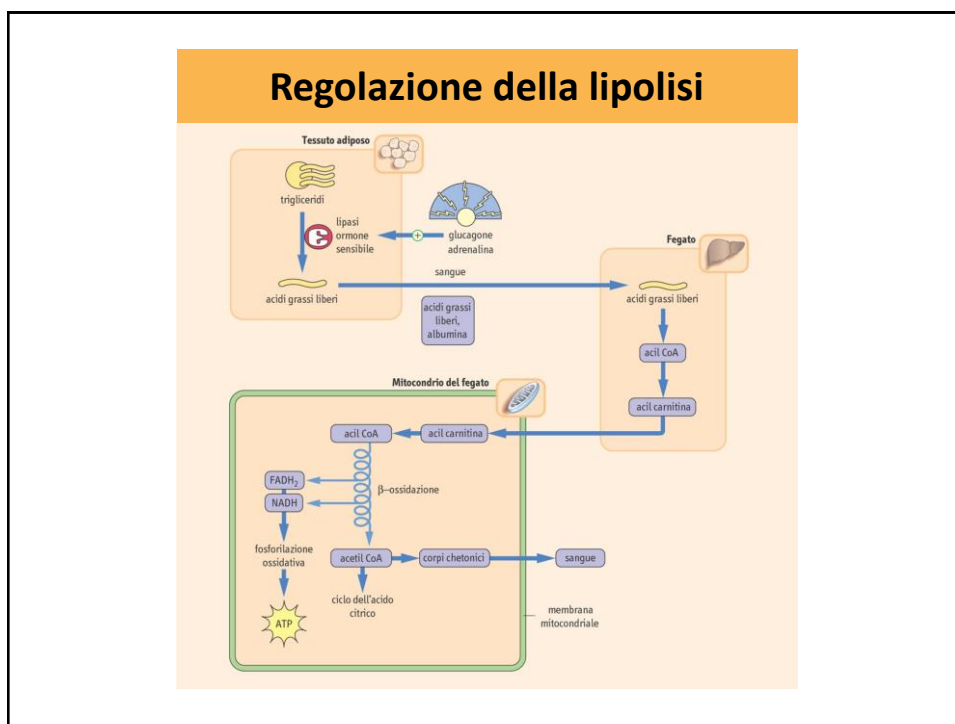
65



66



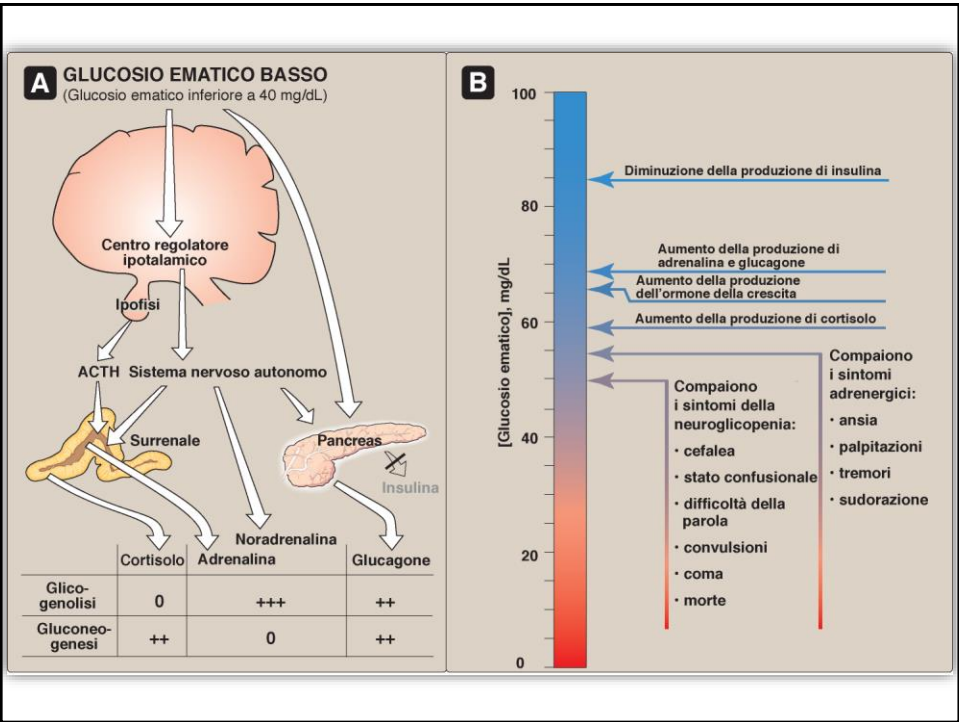
67



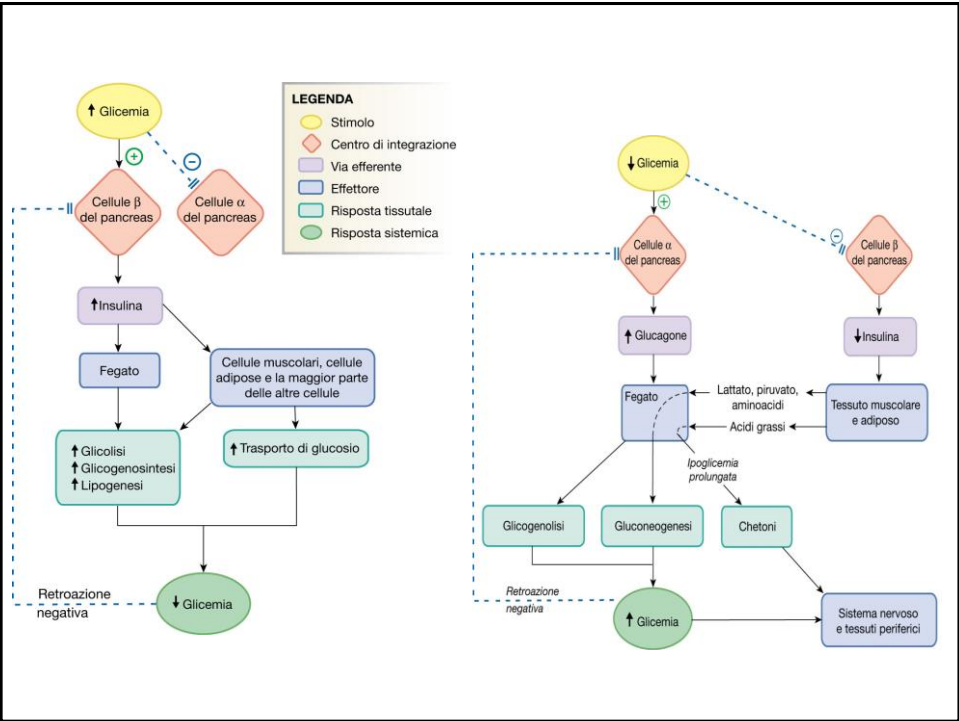
68

L'equilibrio tra insulina e glucagone è un elemento chiave del metabolismo energetico.

69



70



71

CORTISOLO

•Effetti sulla trascrizione genica

•E' un glucocorticoide prodotto dalla corteccia del surrene con un ritmo circadiano (raggiunge il massimo livello plasmatico alle 8 del mattino per poi decrescere e stabilizzarsi nelle due-tre ore successive) in stretta correlazione con l'ACTH. **Il cortisolo ha un effetto opposto a quello dell'insulina: il suo effetto diabetogeno si esercita inducendo la sintesi degli enzimi della gluconeogenesi.** Una maggiore liberazione di cortisolo (per insufficiente apporto di glucosio, digiuno, dieta iperlipidica e diabete) **stimola la gluconeogenesi da amminocidi e da lipidi** essendo stimolata la lipolisi.

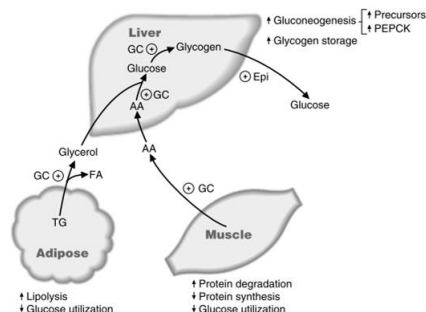


Fig. 43.8. Effects of glucocorticoids (GC) on fuel metabolism. Glucocorticoids stimulate lipolysis in adipose tissue and the release of amino acids from muscle protein. In liver, glucocorticoids stimulate gluconeogenesis and the synthesis of glycogen. The breakdown of liver glycogen is stimulated by epinephrine.

Insieme al cortisone esercita azione anti-immunitaria ed anti-infiammatoria. Il cortisolo influenza molti altri processi vitali tra cui: il funzionamento del cuore, la pressione arteriosa, il bilancio idrico-salino, il metabolismo osseo, ecc. Il suo eccesso è una delle cause di osteoporosi.

72

GH – OROMONE DELLA CRESCITA

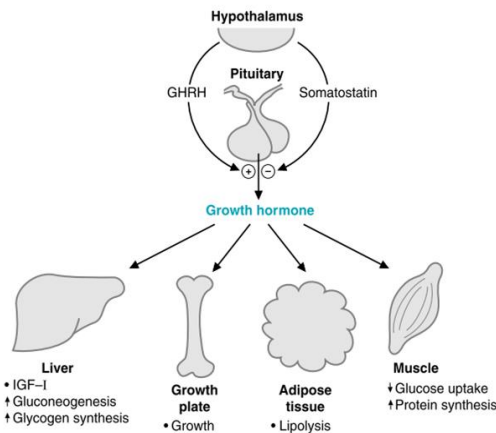
•Peptide di 191 aa secreto dall'ipofisi anteriore

•Ha un'azione diretta e una mediata dalla produzione di IGF (insulin-like growth factors)

•Azione generale: promuovere la lipolisi per permettere un risparmio di glucosio e aa da destinare alla crescita

• Tessuto adiposo: aumenta la sensibilità all'adrenalina (lipolisi) e diminuisce la sensibilità alla lipogenesi

•Tessuto muscolare: Aumenta l'ossidazione degli acidi grassi e diminuisce quella del glucosio e degli aa. Aumenta la sintesi proteica.

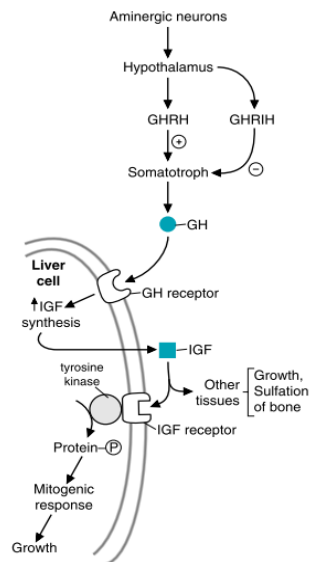


73

GH – OROMONE DELLA CRESCITA

- **Fegato:** aumenta l'utilizzo degli acidi grassi , la ketogenesi , la gluconeogenesi da glicerolo, la glicogenesi. E' inibita l'ossidazione del glucosio
- **Sintesi di IGFs (Insulin-like Growth Factors - somatomedine)** con azione autocrina e paracrina e in parte endocrina.
- **IGFs** hanno un'azione simile a quella dell'insulina ma con maggiore efficienza; aumentano l'anabolismo e la proliferazione cellulare

Fig 43.5. Production and action of IGFs. The hypothalamus produces growth hormone-releasing hormone (GHRH), which stimulates somatotrophs in the anterior pituitary to release growth hormone (GH). Growth hormone release-inhibiting hormone (GHRH) inhibits GH release. GH binds to cell surface receptors and stimulates IGF production and release by liver and other tissues. IGF binds to cell surface receptors and stimulates the phosphorylation of proteins that cause mitosis and growth.



74

Metabolismo da stress

- ❑ *Fight or flight*, ustioni, interventi chirurgici, infezioni
- ❑ Ruolo importante di ormoni anti-insulina: adrenalina, glucagone, cortisolo (**ORMONI CONTROREGOLATORI**) mediato da alcune citochine come TNF-alfa e IL-6.
- ❑ Aumentato catabolismo.
- ❑ Inducono Insulino-resistenza. Glucosio destinato al cervello.
- ❑ Iperglicemia. Proteine della risposta acuta (CRP, aptoglobina, alfa1-glicoproteina acida)

75

Somatostatina

- Peptide ciclico prodotto dalle cellule delta delle isole di Langerhans e nell'ipotalamo.
- Nell'attivazione passa da pro-ormone (28 aa) a ormone (14 aa). Inibisce la secrezione dell'ormone della crescita e di tanti altri ormoni.
- I recettori della somatostatina sono localizzati nel cervello e nell'intestino.
- **E' un inibitore del rilascio e dell'assorbimento di glucosio**; riduce la secrezione gastrica aumentando il tempo di svuotamento gastrico; riduce l'assorbimento dei nutrienti, degli zuccheri e la secrezione degli enzimi digestivi (pancreatici e di gastrina).

76

Effetti degli ORMONI TIROIDEI

- **Fegato**: favorisce l'azione dell'adrenalina (gluconeogenesi, glicogenosintesi). Aumento del glicerolo che arriva al fegato.
- **Adipocita**: duplice azione: a) aumento della disponibilità del glucosio e quindi di glicerolo3P e b) aumento della lipolisi
- **Muscolo**: stimolata la glicolisi e l'anabolismo muscolare
- **Pancreas**: favorita la secrezione di insulina
- **Termogenesi**: favorita l'azione dell'adrenalina a) aumenta il disaccoppiamento mitocondriale via UCP e b) favorisce l'ingresso di Na^+ e quindi stimolare l'attività di Na/K -ATPasi

77