

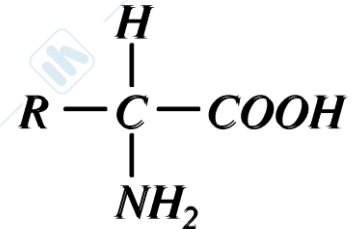
BIOCHIMICA

GLI AMMINOACIDI E LE PROTEINE

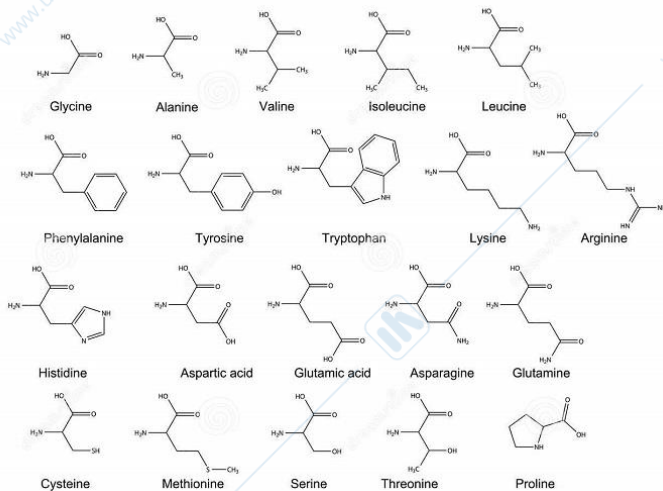
Gli amminoacidi sono i costituenti principali delle proteine, rappresentandone i monomeri. Sono legati tra di loro con un legame di tipo covalente.

Le proprietà strutturali degli amminoacidi

Tutti i 20 amminoacidi presenti nelle proteine sono α -amminoacidi e sono costituiti da un gruppo carbossilico ed un gruppo amminico legati allo stesso carbonio (detto appunto carbonio α) e differiscono solamente per il gruppo R che legano. Tutti gli amminoacidi hanno chiralità sul carbonio α , ad eccezione della glicina che lega due idrogeni. Quasi tutti i residui degli amminoacidi nelle molecole proteiche sono stereoisomeri L, mentre ne risultano poche presenze come stereoisomeri D in piccoli peptidi, solitamente presenti nelle cellule batteriche



α - amminoacido



A seconda del gruppo R presente si distinguono cinque classi di amminoacidi

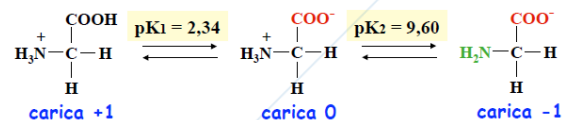
- Gruppi R alifatici, non polari:** Gli, Ala, Pro, Val, Leu, Ile, Met;
- Gruppi R aromatici:** Phe, Tyr, Trp;
- Gruppi R polari, non carichi:** Ser, Thr, Cys, Asn, Gln;
- Gruppi R carichi positivamente:** Lys, Arg, His;
- Gruppi R carichi negativamente:** Asp, Glu.

L'assemblamento degli amminoacidi a dare proteine va a generare strutture di tipo *primario* (sequenza amminoacidica semplice), *secondario* (interazioni di ripiegamento bidimensionale come α -elica o β -foglietto), *terziario* (interazioni a dare strutture tridimensionali) e, eventualmente, *quaternario* (interazione tridimensionale di più subunità).

Oltre ai precedenti amminoacidi esistono anche forme non comuni dovute ad interazioni post-traduzionali, cioè avvenute dopo la sintesi del peptide. Un esempio è quello della *idrossiprolina*, presente nell'organismo per azione di uno specifico enzima, regolato dalla presenza di vitamina C.

Gli amminoacidi presenti in soluzione si trovano in forma *zwitterionica*, cioè sotto forma di ione dipolare, e può comportarsi alternativamente da acido o da base.

È possibile andare a titolare un amminoacido e definire quali siano i pK_1 , pK_2 e (eventualmente) pI : questi tre punti identificano i pH in cui intervalli mostrano il passaggio da una specie amminoacidica all'altra e di conseguenza il cambiamento della carica netta sulla specie in analisi. Il *punto isoelettrico* o pI indica il pH in cui l'amminoacido ha



$$pI = \frac{pK_1 + pK_2}{2} = \frac{2,34 + 9,60}{2} = 5,97$$

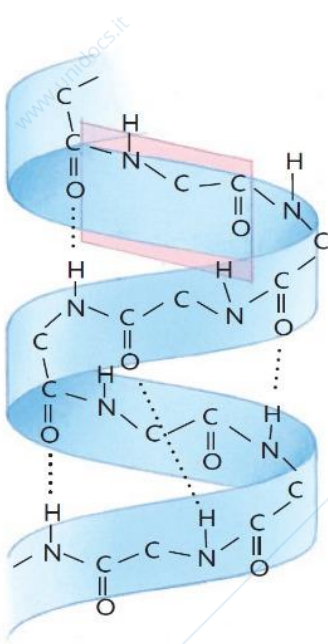
una carica netta pari a 0, è calcolabile facendo una media di pK_1 e pK_2

I peptidi e le proteine

Gli amminoacidi possono unirsi a dare peptidi per eliminazione di acqua e formazione di un legame peptidico tra un gruppo α -amminico di un amminoacido ed un gruppo α -carbossilico di un altro: l'andamento della carica generale del peptide dipende da una analisi globale dei residui amminoacidici che lo compongono: questa proprietà è utilizzata nel caso dell'elettroforesi per separare le proteine.

Ogni legame peptidico è da considerarsi al pari di un doppio legame: planare e privo di rotabilità. La rotazione è invece permessa nei legami $N-C_\alpha$ e $C_\alpha-C$.

Le proteine mostrano strutture secondarie molto rappresentate come le α -eliche e i β -foglietti.



Nel caso delle α -eliche, lo scheletro carbonioso si avvolge su un immaginario asse longitudinale spingendo all'esterno i gruppi R; nei β -foglietti si ha una conformazione a "zig-zag" con i residui che sono orientati in direzioni opposte.

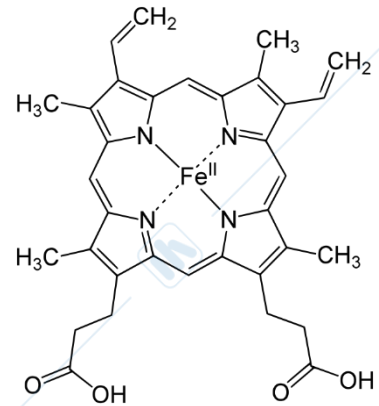
Proteine molto rappresentate nell'organismo sono la α -cheratina, il collagene e la fibroina della seta.

- **α -cheratina:** è una proteina ripetitiva presente nei capelli e nelle unghie ed è stabilizzata dai legami H del NH peptidico con O presente a distanza 5 oltre ai ponti disolfuro generati dalle interazioni dei residui cisteina. Si presenta come una α -elica ed il trattamento con il calore e agenti riducenti e ossidanti possono modificarne la struttura della proteina inducendola a ripiegamenti non naturali (e.g. la permanente ai capelli), rapidamente rinaturata da calore o umidità. Nelle unghie non si ha la stessa flessibilità a causa dei numerosi ponti disolfuro che le rendono molto più rigide;
- **Collagene:** il collagene è presente nel tessuto connettivo dei tendini, delle cartilagini e della matrice organica delle ossa. Esso è costituito da catene α che sono sinistrorse mentre l'intera proteina è presente come avvolgimento superelicoidale destrorso;
- **Fibroina della seta:** è prodotta da ragni ed insetti ed è caratterizzata da una struttura a β -foglietto. È particolarmente ricca di residui Ala e Gli che ne stabilizzano e compattano ulteriormente la struttura.



PROTEINE CHE LEGANO L'OSSIGENO

Dato che l'ossigeno è poco solubile in acqua e non può essere trasportato nel plasma in concentrazione sufficiente a soddisfare le richieste dell'organismo, gli organismi pluricellulari si sono evoluti sfruttando metalli di transizione come Fe e Cu per la loro tendenza a legare l'ossigeno. Dato che in forma libera questi metalli tendono a reagire con l'ossigeno a dare origine a ROS, essi vengono incorporati all'interno del gruppo prostetico di una proteina chiamata porfirina. Se l'atomo centrale della porfirina è Fe^{2+} allora si parla di *gruppo eme* o *protoporfirina-9*.



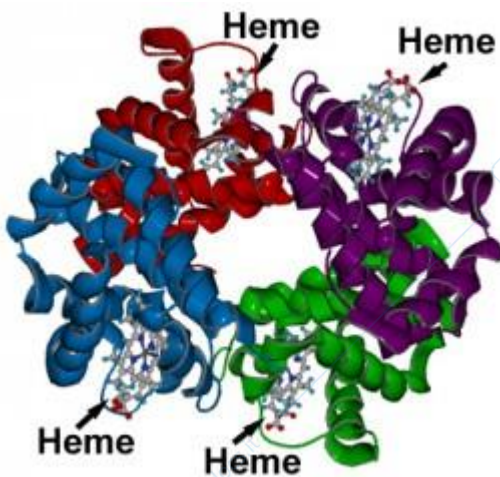
La protoporfirina-9 forma quattro legami di coordinazione con gli azoti degli anelli pirrolici e paralleli al piano dell'anello porfirinico, mentre altri due legami gli sono perpendicolari. Uno di questi legami è formato con il residuo di istidina (di emoglobina o mioglobina) e l'altro con l'ossigeno. La reversibilità del legame tra ferro e ossigeno oltre al controllo sull'eventuale produzione di ROS sono controllati dalla caratteristica idrofobica della tasca contenente la porfirina che, escludendo l'acqua dalla reazione, ne riduce sensibilmente la reattività.

Mioglobina ed emoglobina

L'emoglobina, *Hb*, è una proteina costituita da 4 subunità (2 α e 2 β) di mioglobina, *Mb*: è capace di effettuare un legame con 4 molecole di ossigeno e rilasciarle all'interno dell'organismo.

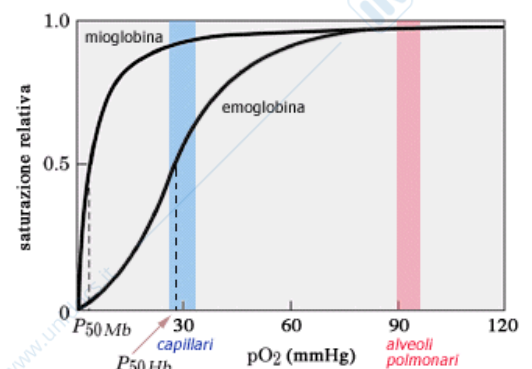
Poiché i gas sono poco solubili nei liquidi, questa proteina lega l'ossigeno a livello del polmone dove la pressione parziale è molto alta e lo libera nell'organismo a mano a mano che questa pressione scende.

A differenza di *Hb*, *Mb* lega l'ossigeno a pressioni parziali molto più basse: questa differenza decreta che la natura di *Hb* è di proteina trasportatore, mentre *Mb* è una proteina di riserva.



L'emoglobina ha una struttura determinata dalla contemporanea presenza di gruppi idrofobici e idrofili: i residui idrofili si troveranno all'interno della molecola in presenza di solvente oleoso, viceversa in un solvente acquoso. Le catene costituenti la struttura quaternaria dell'emoglobina sono trattenute insieme da legami a idrogeno e ionici: interazioni tra i gruppi $-NH_3^+$ e $-COO^-$ delle catene α_1 e α_2 oltre che alle interazioni dei residui Asp₁₂₆, Arg₁₄₁, Asp₉₄ e il gruppo acido 146 permettono di ottenere la *forma tirata dell'emoglobina*.

Mentre la curva di legame della mioglobina è espressa da una funzione iperbolica, la curva di legame dell'emoglobina è definita da una funzione sigmoidea. Infatti, la mioglobina mostra un solo sito per il legame dell'ossigeno mentre l'emoglobina mostra quattro siti e il legame di ogni ossigeno ne modifica l'affinità di legame. Contrariamente a quanto si crede, il legame di un ossigeno modifica la struttura a facilitare

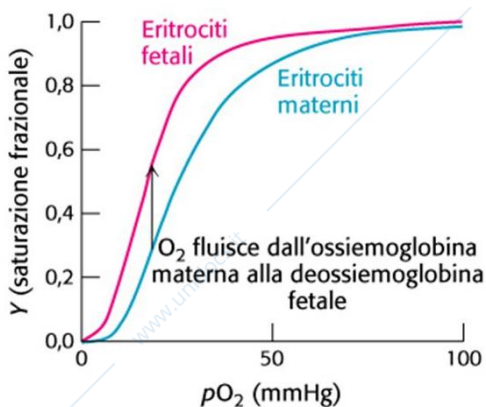
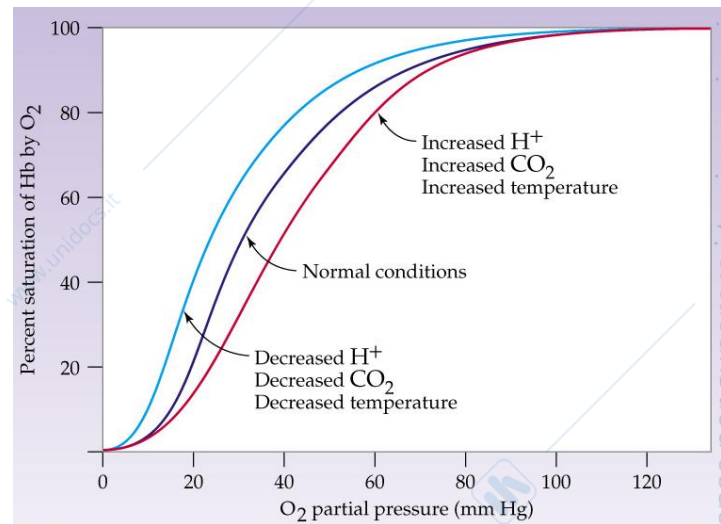


l'ingresso di altri atomi di ossigeno, fino a saturazione: la struttura dell'emoglobina passa quindi da tirata a rilassata, favorendo l'ingresso dell'ossigeno.

Il monossido di carbonio è capace di legarsi all'emoglobina con una affinità 250 volte maggiore a quella dell'ossigeno. Il monossido di carbonio non solo sequestra quota della proteina disponibile a legare l'ossigeno, ma ne aumenta l'affinità verso di esso a livello polmonare, impedendo di fatto il rilascio di ossigeno a livello periferico.

Oltre alla presenza di CO, fattori come il pH, la CO₂ ed il 2,3-bifosfoglicerato diminuiscono l'affinità dell'emoglobina per l'ossigeno.

- *pH*: un aumento del valore del pH aumenta l'affinità dell'emoglobina verso l'ossigeno. Di contrario, pH più acidi determinano un maggior rilascio di O₂ da parte di Hb;
- *CO₂*: la presenza di anidride carbonica in acqua porta a una reazione che libera protoni e, di conseguenza, aumenta l'acidità del mezzo. In aggiunta a ciò, i residui NH delle proteine reagiscono con l'anidride carbonica a dare carbammati, risultando in una forma tirata della proteina. Acidità e presenza di anidride carbonica riducono l'effetto dell'emoglobina (effetto Bohr)



- *2,3-bifosfoglicerato*: la presenza di BPG riduce fortemente l'affinità di Hb verso l'ossigeno e ne stabilizza la forma tirata. Carenze di questa sostanza portano alla stabilizzazione di Hb in conformazione rilassata e quindi ne riducono la capacità di trasportare ossigeno nell'organismo. Ulteriore precisazione deve essere effettuata nei riguardi dell'emoglobina fetale a confronto dell'emoglobina materna: affinché anche il feto ottenga dalla madre l'ossigeno necessario allo sviluppo dei tessuti, Hb fetale ha una affinità maggiore per l'ossigeno e minore per BPG rispetto a quella materna.

GLI ENZIMI

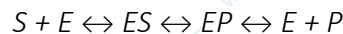
Da un punto di vista strutturale, gli enzimi sono proteine ma possono esistere anche *riboenzimi*, cioè acidi ribonucleici con funzione catalitica. Un enzima ha una funzione prettamente catalitica, abbassando l'energia di attivazione di una reazione chimica: esso perde questa funzione se denaturato, dissociato o idrolizzato.

L'enzima opera nello stato di attivazione, quello stadio della reazione dove coesistono i legami che si stanno rompendo e quelli che si stanno formando, favorendo la rottura dei vecchi legami e la formazione dei nuovi: l'enzima viene recuperato immodificato alla fine della reazione.

Gli enzimi possono operare con l'aiuto di altre sostanze, sia organiche (*coenzimi*) che metalli (*cofattori*), singolarmente o contemporaneamente: a differenza dell'enzima, coenzimi e cofattori partecipano attivamente alla reazione e al termine della stessa è possibile trovarli modificati. Se lo ione metallico o il coenzima sono legati covalentemente alla proteina enzimatica, questa si identifica come *gruppo prostetico*. Un enzima che presenta il legame di tutti i suoi cofattori e coenzimi è identificato come *oloenzima*, mentre la parte proteica viene definita *apoenzima* o *apoproteina*.

La parte dell'enzima dove avviene la reazione è detta *sito attivo*, mentre la molecola che vi si lega è detta *substrato*.

Un enzima deve rispettare le caratteristiche di *specificità* e *affinità*. Deve essere sufficientemente specifico per riconoscere il solo substrato interessato e deve essere sufficientemente affine per operare nelle sole condizioni in cui è richiesta la sua azione. La reazione chimica coinvolgente un enzima prevede degli stadi intermedi ed è possibile che il legame substrato-enzima porti ad un *adattamento indotto* della conformazione dell'enzima.



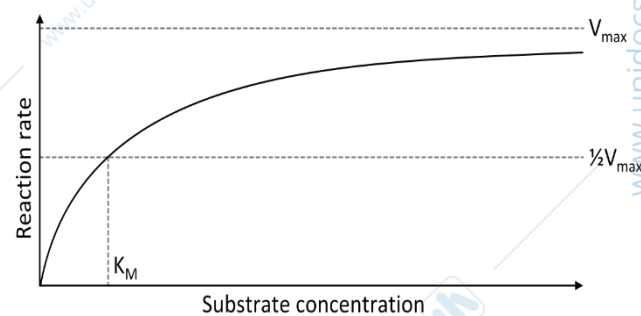
ES ed EP mostrano i complessi di transizione dell'enzima con il substrato e il prodotto: un enzima non modifica gli equilibri di una reazione, la velocizza solamente, dato che altrimenti i tempi di reazione standard non sarebbero compatibili con la vita. Va ricordato che se la reazione è reversibile, essa può andare in tutti e due i sensi, dato che l'enzima non ne modifica la direzione di reazione. Gli intermedi di reazione ES ed EP sono stabili e se sono presenti più intermedi in una reazione, quello con energia di attivazione più alta rappresenta la *tappa limitante la velocità*.

La cinetica enzimatica

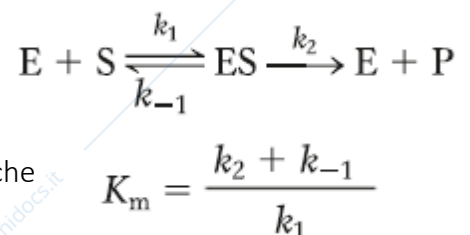
Uno dei fattori principali che regolano la cinetica enzimatica è la concentrazione del substrato. Analisi di cinetica enzimatica sono influenzate dal calo della concentrazione del substrato a seguito della trasformazione chimica: è opportuno quindi valutare la v_0 in funzione di $[S]$.

L'aumento di v_0 ha un andamento lineare per basse concentrazioni di $[S]$ fino a diminuire e raggiungere una fase di plateau a v_{max} . Il punto su x della metà di v_{max} indica k_m , indice dell'affinità dell'enzima per il substrato.

Interpolando queste informazioni con le equazioni di equilibrio si ottiene l'*equazione di Michaelis-Menten* che descrive l'andamento cinetico di una reazione enzimatica.



- Partendo dalla relazione iniziale e semplificando le grandezze infinitesime si ottiene una grande approssimazione che permette di avere una prima bozza.
- Viene introdotto il concetto di *costante di Michaelis-Menten* che relaziona k_1 e k_2 .



- Le velocità di formazione e demolizione di ES sono identiche, per cui è possibile eguagliare le relative funzioni.
- Le informazioni introdotte sono messe a sistema ed è possibile esprimere la velocità iniziale in funzione della velocità massima, della costante di Michaelis-Menten e della concentrazione del substrato.
- Nel caso che la velocità iniziale sia la metà della velocità massima, otteniamo allora che $k_m = [S]$

$$k_1 ([E_t] - [ES])[S] = k_{-1} [ES] + k_2 [ES]$$

$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

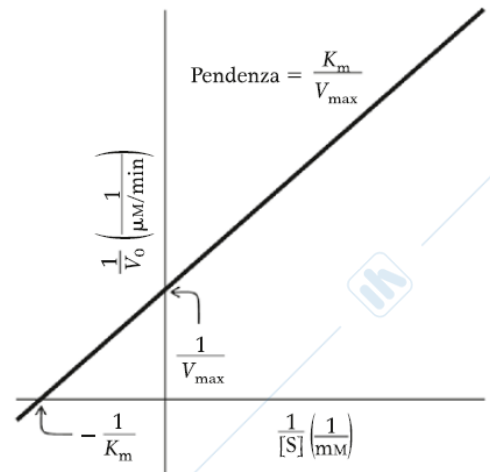
$$\frac{V_{\max}}{2} = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

$$K_m = [S], \text{ quando } V_0 = \frac{1}{2} V_{\max}$$

- Per osservare la linearizzazione dell'equazione, è possibile operare con gli inversi e disegnare un grafico *Lineweaver-Burk* (o grafico dei doppi reciproci)

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max} [S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m + [S]}{V_{\max} [S]}$$

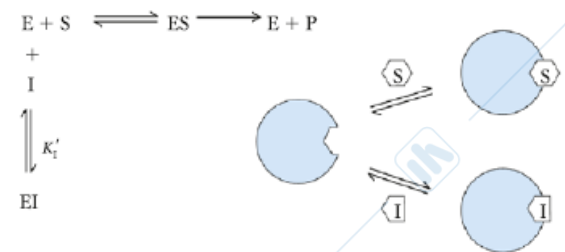


Meccanismo funzionale degli enzimi

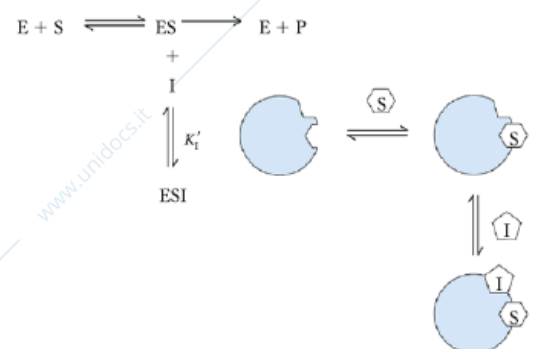
Gli enzimi possono essere regolati da *inibitori enzimatici*, che si legano preferibilmente sul sito di legame invece che al sito di catalisi. Gli inibitori possono essere di tipo competitivo, non competitivo o misto a seconda del tipo di legame che operano.

- **Inibitore competitivo**
Un inibitore competitivo compete con il substrato per il sito attivo dell'enzima e, occupandolo, ne preclude l'accesso al substrato stesso. Per superare l'inibizione è sufficiente aumentare la concentrazione del substrato dato che il legame inibitore-enzima è reversibile: aumenta solo la k_m per la minore affinità
- **Inibitore non competitivo**
Un inibitore non competitivo non lega il sito attivo dell'enzima ma un'altra parte dell'enzima nel complesso enzima-substrato. Diminuisce in questo caso sia v_{\max} che k_m .

(a) Inibizione competitiva



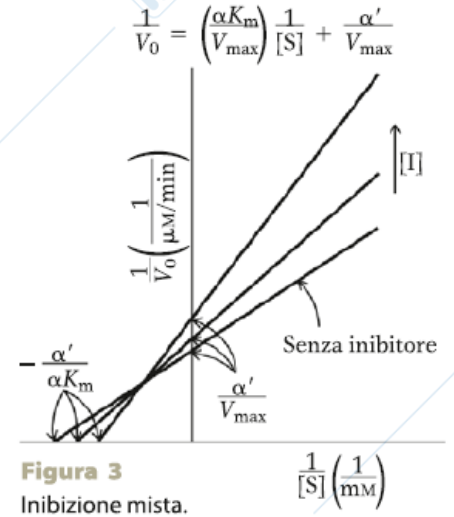
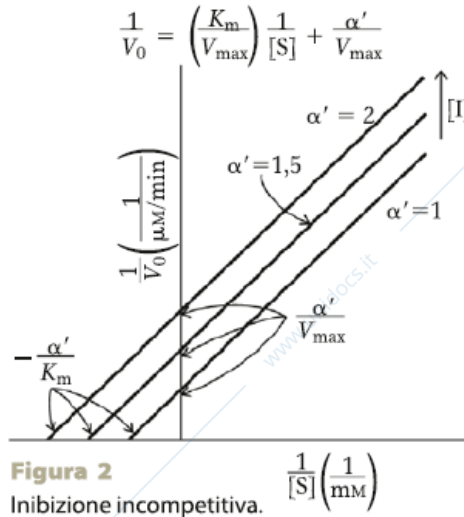
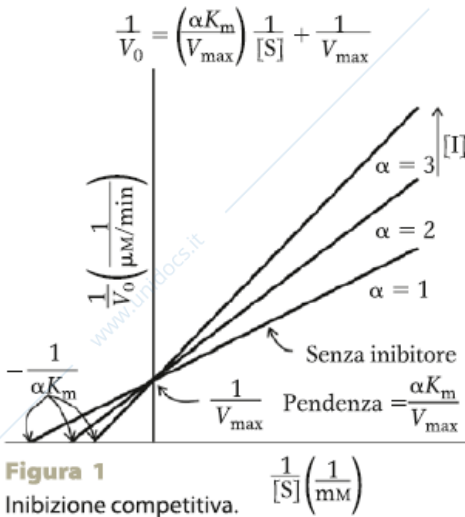
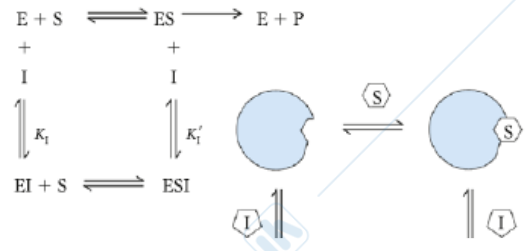
(b) Inibizione incompetitiva



• **Inibitore misto**

Un inibitore misto si lega a un sito diverso dal sito attivo dell'enzima sia nel caso del singolo enzima che del complesso enzima-substrato.

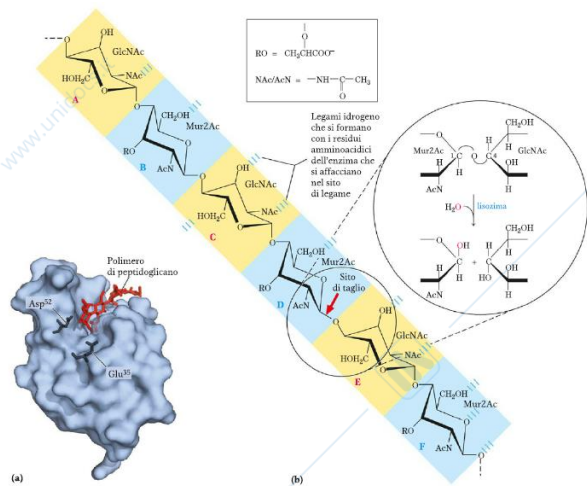
(c) **Inibizione mista**



Gli enzimi possono essere modulati da sostanze specifiche che possono bloccarne l'attività e vengono definiti *enzimi regolati*. Essi si trovano spesso all'inizio di una via metabolica per bloccarne la funzione in caso di presenza di una determinata sostanza (generalmente il prodotto finale della stessa reazione). *Enzimi allosterici* sono invece regolati da *modulatori allosterici* che, legandosi ad un particolare sito dell'enzima lo rendono più o meno accessibile al substrato. Esistono modulatori positivi e modulatori negativi e non devono essere confusi con gli inibitori non competitivi o misti perché, di fatto, regolano diversamente la cinetica enzimatica.

Oltre alla presenza di inibitori, la cinetica e la funzionalità enzimatica possono essere modulati anche dall'acidità dell'ambiente operativo. Questo fenomeno è dovuto dalla presenza delle catene laterali che, a seconda delle condizioni di pH, possono risultare protonate e agire come acido o come base. In linea generale, gli enzimi funzionano solamente ad uno specifico pH, altrimenti la loro attività è bloccata.

Una delle reazioni più comuni a regolazione enzimatica è la catalisi. Principalmente avvengono due tipi di catalisi, la *catalisi acido-basica* e la *catalisi covalente*: esse rappresentano le principali forme di reazione enzimatica dell'organismo.



La catalisi acido-basica è praticata, ad esempio, dal *lisozima*, un enzima in grado di riconoscere e rompere i legami interni al peptidoglicano, carboidrato presente nelle pareti cellulari batteriche. Il lisozima riconosce il legame acetalico tra la catena D e la catena E del peptidoglicano e ne permette la rottura per idrolisi. I residui Glu₃₅ e Asp₅₂ sono fondamentali per la riuscita della reazione enzimatica.

La catalisi covalente è invece operata da enzimi detti *proteasi* come *tripsina* e *chimotripsina* che sono capaci di idrolizzare i legami peptidici. Questo tipo di proteasi sono costituite da tre catene polipeptidiche e sono dette *proteasi a serina* per il ruolo importante rivestito da Ser₁₉₅ oltre a His₅₇ e Asp₃₀₂. La chimotripsina e la tripsina permettono di condurre in tempi molto brevi e in condizioni neutre la scissione dei legami peptidici che, in laboratorio, dovrebbero essere condotti per ore a 200°C in condizioni acide. La chimotripsina è specifica nel legare gruppi aromatici in una zona idrofobica e rompere, solo in quella sede, il legame peptidico.

IL METABOLISMO

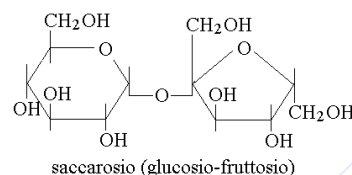
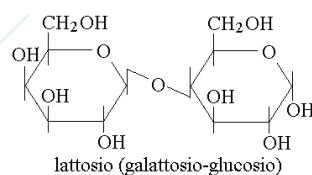
All'interno dell'organismo è fondamentale poter elaborare e modificare le molecole, partendo da una e arrivando ad un'altra; alcune molecole possono rappresentare scarti che devono essere riciclati oppure trattati per lo smaltimento: questi processi sono detti *processi metabolici* o *metabolismo*.

I vari metabolismi prevedono sia la costruzione che la demolizione controllata di una molecola: le *vie anaboliche* prevedono l'assemblaggio, le *vie cataboliche* prevedono la demolizione.

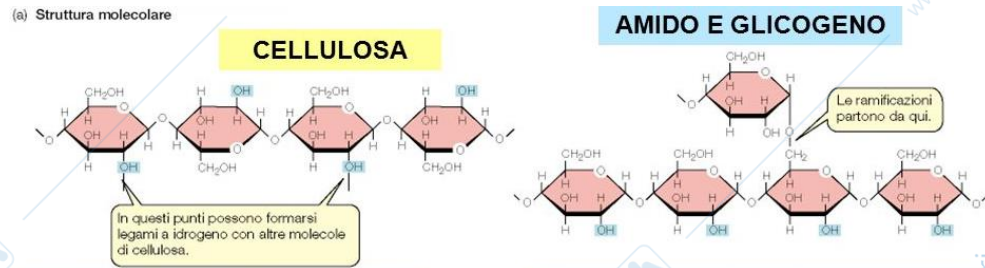
I carboidrati

Alcuni carboidrati di interesse biochimico sono:

- MONOSACCARIDI
 - *D-glucosio*;
 - *D-galattosio*;
 - *D-fruttosio*;
 - *N-acetilglucosammina*;
 - *Acido N-acilmuramico*
- DISACCARIDI



- *Lattosio*;
- *Saccarosio*;
- POLISACCARIDI
 - *Amido*;
 - *Cellulosa*;
 - *Glicogeno*



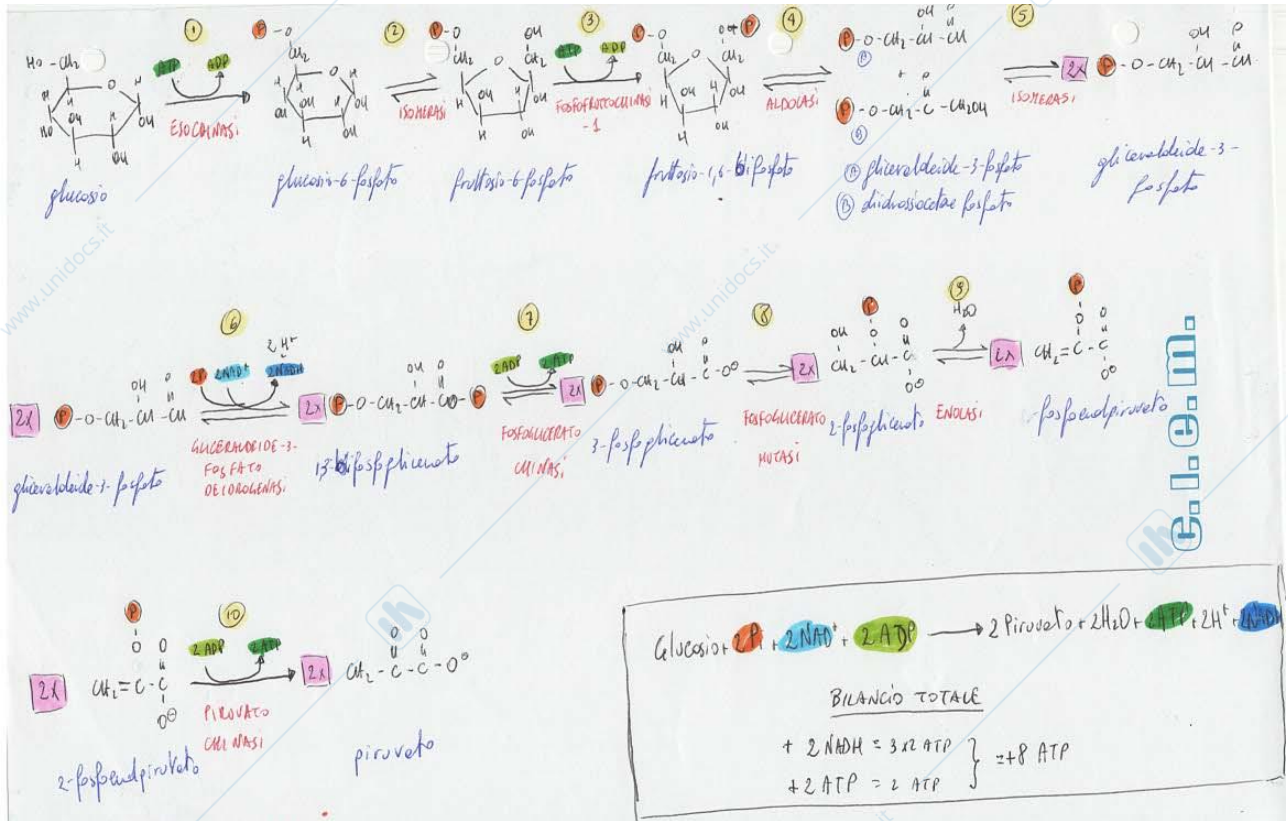
All'interno dell'organismo, i glucidi subiscono diversi processi metabolici, il primo dei quali è la degradazione, già operata a livello buccale dalla *amilasi* presente nella saliva e capace di ottenere glucosio dall'amilosio per rottura dei legami 1-4.

A livello gastrico si ha, all'interno del duodeno, la secrezione dei succhi pancreatici contenenti *amilasi pancreatica* che riesce a intervenire sull'amilosio per ottenere glucosio.

Il glucosio che viene ottenuto è libero di circolare nell'organismo e diffonde nelle cellule di tutto l'organismo secondo gradiente di concentrazione; la sola eccezione è rappresentata dalle cellule intestinali che assorbono glucosio con trasporto facilitato per sequestrarne il più possibile e rimetterlo in circolo nell'organismo. Una volta all'interno della cellula, il glucosio è fosforilato da un enzima chinasi, la *esochinasi*, che lo trasforma in glucosio-6-fosfato: questa operazione permette di compartimentare il glucosio all'interno della cellula ed impedirne il rilascio. Nel fegato è presente una ulteriore chinasi, la *glucochinasi*, capace anch'essa di fosforilare il glucosio; mentre la esochinasi ha una k_m dell'ordine del μM , la glucochinasi ha una k_m dell'ordine del mM : questo significa che, in caso di alte concentrazioni di glucosio ematico, il fegato riesce ad ottenere molto più glucosio degli altri tessuti.

La glicolisi

La glicolisi è un processo catabolico che avviene in condizioni anaerobiche non strette all'interno del citoplasma di tutte le cellule degli organismi viventi. In 10 reazioni permette, a partire da una molecola di glucosio e due ATP, di ottenere due molecole di piruvato e quattro molecole di ATP per un bilancio complessivo determinato dalla reazione:



Oltre al glucosio, molti altri carboidrati possono entrare nella via glicolitica ed alimentarla se preventivamente trasformati in uno degli intermedi che costituiscono questo tipo di metabolismo. Disaccaridi e polisaccaridi come glicogeno, lattosio e amido possono essere idrolizzati a monosaccaridi per azione delle α -amilasi, sia salivari che pancreatiche.

La glicolisi permette un primo utilizzo del glucosio in condizioni di bisogno energetico, per successive reazioni e per controllo.

Sulla glicolisi intervengono diversi tipi di controllo, sia ormonale che metabolico.

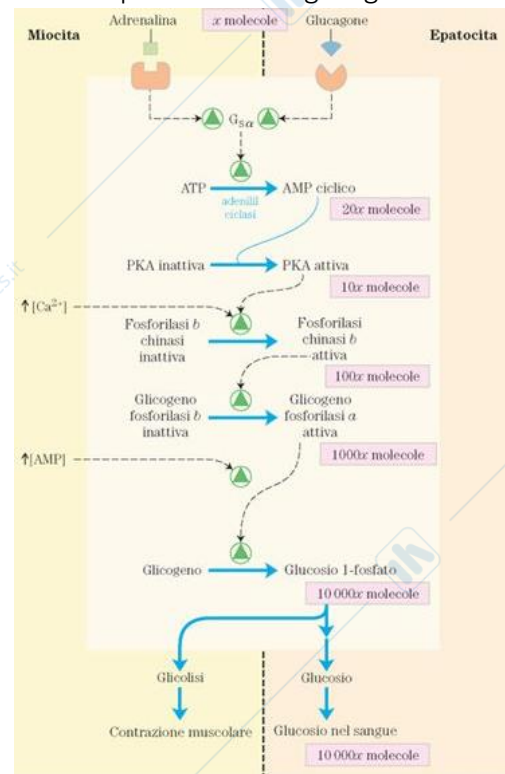
A livello metabolico, la elevata produzione di G6P inibisce allostericamente la *esochinasi I* e la *esochinasi II*, andando a normalizzarne la produzione in funzione del consumo. Un ulteriore controllo metabolico è operato sull'enzima fosfofruttochinasi (PFK) secondo la concentrazione di ATP e citrato: alti livelli di queste molecole bloccano l'enzima e, di conseguenza, la glicolisi. Allo stesso modo, un'alta concentrazione di NADH è indice che la reazione procede correttamente, mentre alti livelli di ADP e AMP sono segnali che la reazione non sta procedendo. In caso di presenza di molta energia, il processo glicolitico è bloccato e nel fegato viene attivata la produzione di glicogeno a partire da glucosio. Anche il *fruttosio-1,6-bisfosfato* agisce come regolatore allosterico del processo glicolitico.

A livello ormonale intervengono invece l'adrenalina (a livello muscolare) e il glucagone (a livello epatico: entrambi intervengono per aumentare la concentrazione di glucosio nel sangue a partire da glicogeno. Una volta che l'ormone si lega ad una proteina G_s , esso attiva la *adenilato ciclasi*, che produce cAMP da ATP che a sua volta attiva la PKA.

L'attivazione della PKA permette la attivazione della *fosforilasi chinasi b* in *fosforilasi chinasi a* che, a cascata, fosforila la *glicogeno fosforilasi b* in *glicogeno fosforilasi a* (forma attivata) e iniziando la demolizione del glicogeno a glucosio-1-fosfato.

Il glucagone, ad esempio, è un ormone prodotto dalle cellule α pancreatiche che, seguendo il processo precedentemente descritto, catalizza la reazione di demolizione del glicogeno a glucosio. Raggiunta la ottimale concentrazione di glucosio ematico, esso si lega allo specifico sito allosterico degli epatociti, inibitori della fosforilasi chinasi a.

Il recettore specifico del glucagone è costituito da un recettore transmembrana accoppiato a proteina G che attraversa 7 volte la membrana stessa; nella subunità α è presente il nucleotide GDP che, a seguito del legame del glucagone, si sgancia e si libera dalla proteina G. Data la maggiore affinità di α per GTP (presente in quantità maggiore di GDP), esso spiazza GDP nel legame alla subunità e, di fatto, le permette di attivare in cascata tutti i segnali chimici per cui è predisposta, che nel caso del glucagone, riguardano la attivazione della *adenilato ciclasi*.

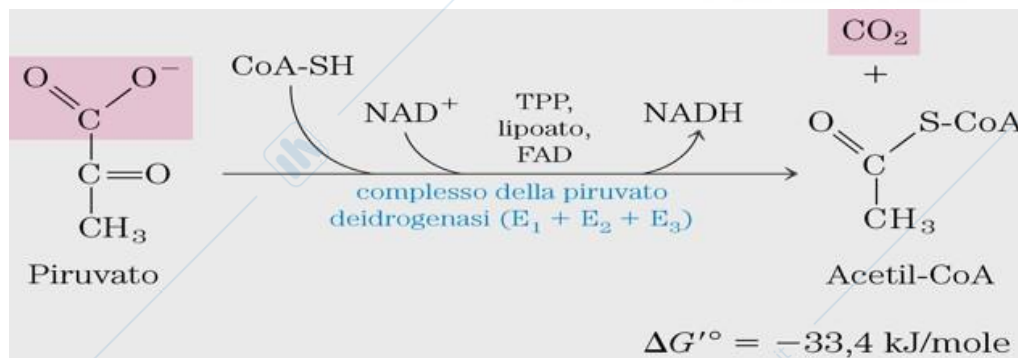
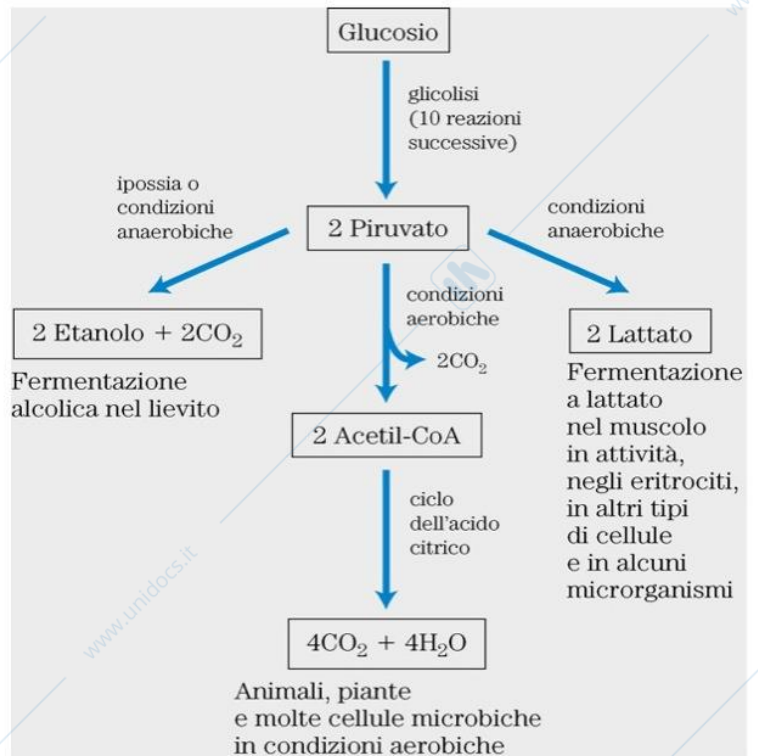


Destino del piruvato nella cellula

Una volta prodotto, il piruvato può subire diversi destini che dipendono principalmente dalle condizioni fisiologiche e dell'ambiente circostante.

In condizioni di anaerobismo, il piruvato può essere trasformato in lattato per rigenerare le coppie NAD^+ a partire da NADH oppure generare *etanolo* per fermentazione.

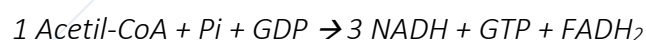
In condizioni aerobiche invece, il piruvato subisce decarbossilazione ossidativa per dare Acetil-CoA ed entra nel *ciclo di Krebs*.



Ciclo di Krebs

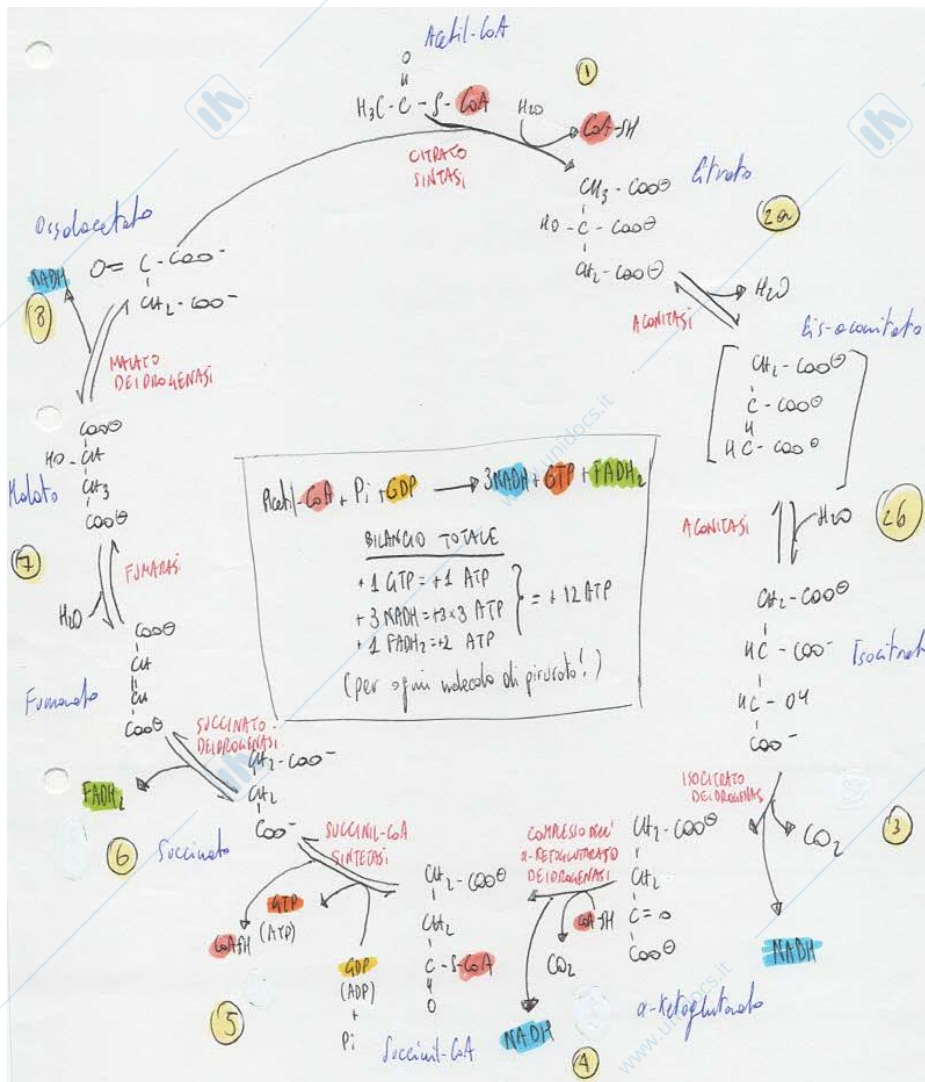
Il ciclo di Krebs è un processo catabolico che avviene all'interno del mitocondrio e lo scopo principale di questo processo metabolico non è tanto produrre direttamente ATP ma liberare elettroni che, legati da FADH_2 e NADH , vengono successivamente trasferiti alla catena respiratoria e determinano la produzione di un gran numero di molecole di ATP. Oltre alla liberazione di elettroni, il ciclo di Krebs è deputato anche a produrre numerosi composti che sono il substrato di altri enzimi metabolici.

È un ciclo che si svolge in 8 reazioni e che porta a produrre 3 NADH , GTP e FADH_2 a partire da una molecola di Acetil-CoA con un bilancio totale descritto dalla reazione:



Queste equivalgono alla produzione di 12 ATP (1 GTP =1 ATP; 3 NADH =9 ATP; 1 FADH_2 =2 ATP) per ogni singola molecola di piruvato: ciò significa che, per ogni molecola di glucosio entrata nella glicolisi si ottiene, nel solo ciclo di Krebs, la produzione (indiretta) di 24 ATP.

Il controllo esercitato a livello metabolico è operato principalmente dall'ATP: se il rapporto ATP/ADP è molto alto, il bilancio energetico è positivo e questo inibisce la *isocitrato deidrogenasi*,



permettendo così un accumulo di citrato a livello mitocondriale. Il citrato così accumulato è trasportato fuori dal mitocondrio per mezzo di specifici trasportatori di membrana che lo trasportano all'esterno: il citrato è un segnale di blocco sia nei confronti della glicolisi che del metabolismo lipidico. Ovviamente è valido anche il caso opposto, ovvero la facilitazione da parte di ADP.

In aggiunta al controllo operato da ATP è doveroso ricordare che, rapporti elevati dei segnali di energia (ATP/ADP, NADH/NAD⁺, Acetil-CoA/CoA-SH) portano al blocco allosterico del ciclo, mentre rapporti più bassi lo attivano.

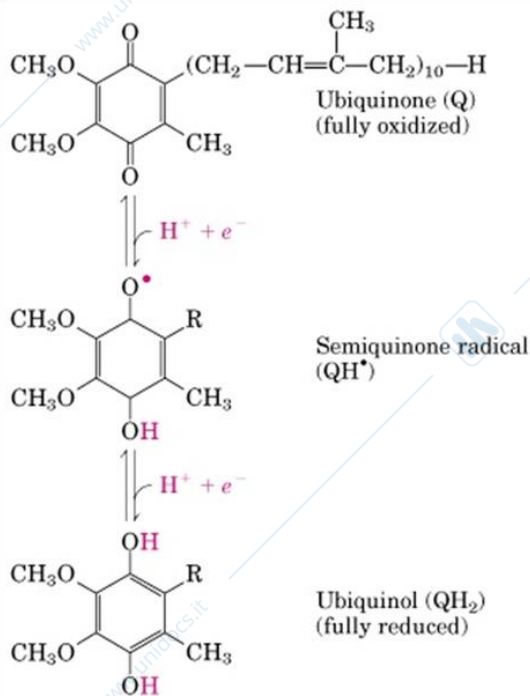
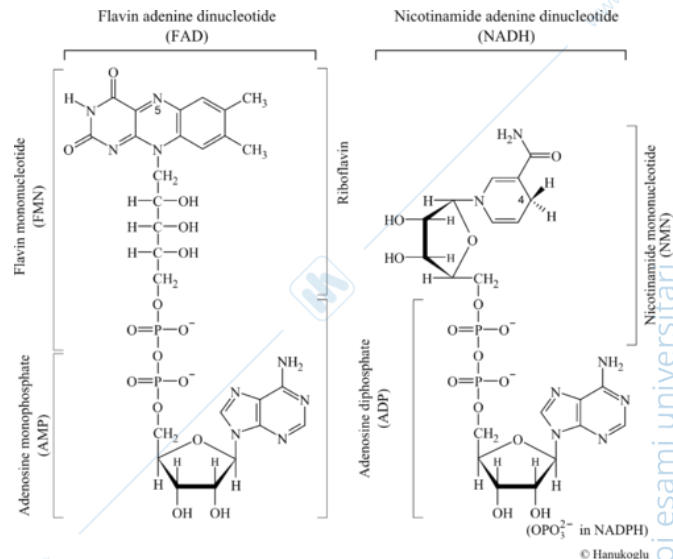
La fosforilazione ossidativa

La fosforilazione ossidativa rappresenta il culmine del metabolismo energetico negli organismi aerobici: tutte le vie di degradazione dei carboidrati culminano nella catena respiratoria e nella fosforilazione ossidativa. Scopo di questo processo metabolico è "pompare" quanti più protoni

possibile all'interno dello spazio intermembrana del mitocondrio e sfruttare le coppie di elettroni disponibili per ossidare le coppie NADH e FADH₂, fino ad ossidare per ultimo l'ossigeno.

Gli elettroni utilizzati in questo processo vengono incanalati all'interno degli accettori (NAD⁺ o FAD) attraverso le reazioni di deidrogenazione dei catabolismi precedenti.

All'interno della catena respiratoria, oltre al FAD e al NAD⁺, sono presenti anche altri trasportatori di elettroni: un chinone idrofobico (*ubichinone*), *citocromi* e *proteine ferro-zolfo*.



L'ubichinone è un coenzima che può trasportare un solo elettrone formando un *radicale semichinonico* o due elettroni formando *ubichinolo*. L'ubichinolo è caratterizzato dalla presenza di una coda idrofobica e da una testa leggermente più idrofila per la presenza dei due ossidrilici.

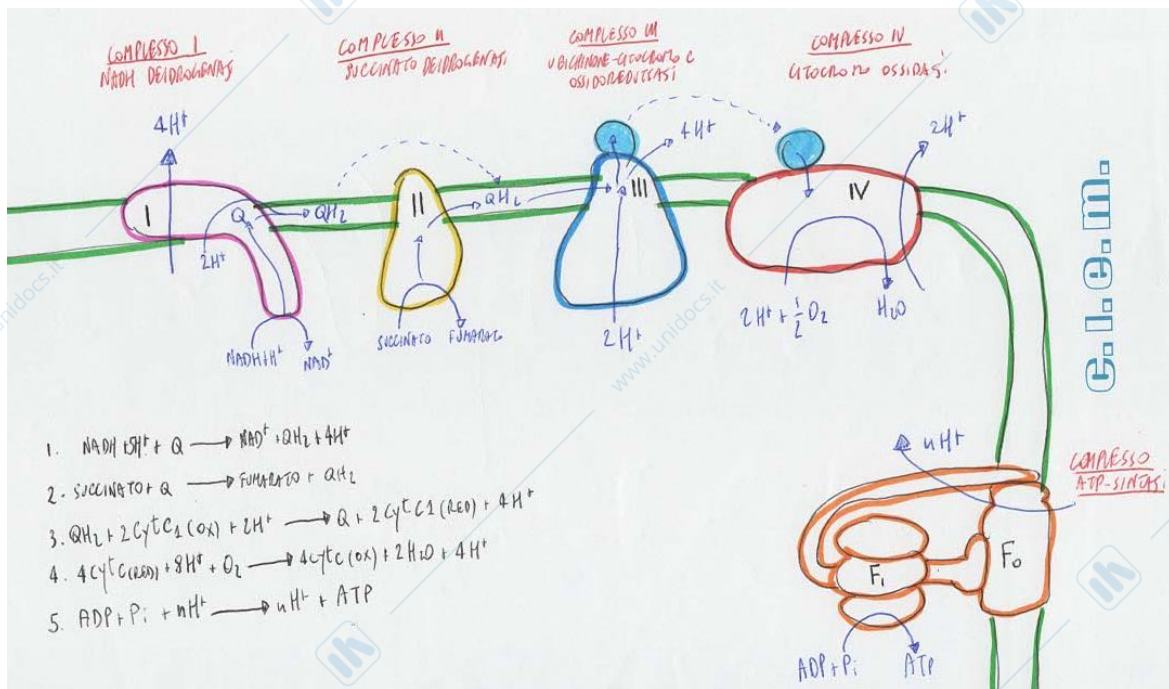
I citocromi sono proteine capaci di assorbire la luce visibile per la presenza del gruppo prostetico *eme*. Nei mitocondri sono presenti i citocromi *a*, *b* e *c*: mentre il gruppo *eme* dei mitocondri *a* e *b* è legato saldamente alle proteine (ma senza legami covalenti), il gruppo *eme* del citocromo *c* è legato covalentemente attraverso residui di cisteina. Nei centri ferro-zolfo, il ferro non è legato al gruppo *eme* ma ad atomi di zolfo inorganico o a zolfo di residui di cisteina della proteina.

All'interno del mitocondrio collaborano quattro complessi per originare la sequenza che porterà alla fosforilazione ossidativa:

- **Complesso I** - NADH deidrogenasi: ha una forma ad L con un braccio immerso nella membrana mitocondriale ed uno nella matrice. Catalizza simultaneamente il processo di trasferimento di un idruro di NADH e di un protone dal solvente allo spazio intermembrana e il trasferimento di 4 elettroni dalla matrice allo spazio intermembrana;
- **Complesso II** - Succinato deidrogenasi: complesso enzimatico già presente nel ciclo di Krebs che permette di rimuovere ulteriori protoni dal succinato e pomparli all'interno dello spazio intermembrana;
- **Complesso III** - Ubichinone citocromo c ossidoreduttasi: l'ubichinolo trasferisce elettroni al citocromo c e contemporaneamente pompa protoni dalla matrice allo spazio intermembrana. Il citocromo c è una proteina solubile dello spazio intermembrana. Quando

il suo gruppo eme riceve un elettrone dal complesso III, esso si sposta verso il complesso IV per trasferirlo ad un centro rameico binucleare;

- **Complesso IV** - citocromo ossidasi: trasporta gli elettroni dal citocromo c all'ossigeno molecolare, riducendolo ad H_2O . Gli elettroni passano dal citocromo c al centro CuA, da qui al gruppo eme a, al centro a_3 -CuB ed infine a O_2 : ogni volta che 4 elettroni attraversano questo complesso, 4 protoni vengono prelevati dalla matrice per produrre acqua.



Al termine dei quattro complessi è presente un ulteriore enzima, la **ATP sintasi**, che sfrutta il gradiente elettrochimico generato dall'accumulo di protoni per legare un gruppo fosfato ad ADP e generare ATP. ATP sintasi è suddiviso in due grandi componenti, F_0 e F_1 : mentre il primo costituisce il canale protonico, il secondo è caratterizzato dalla presenza di siti catalitici per la sintesi di ATP.

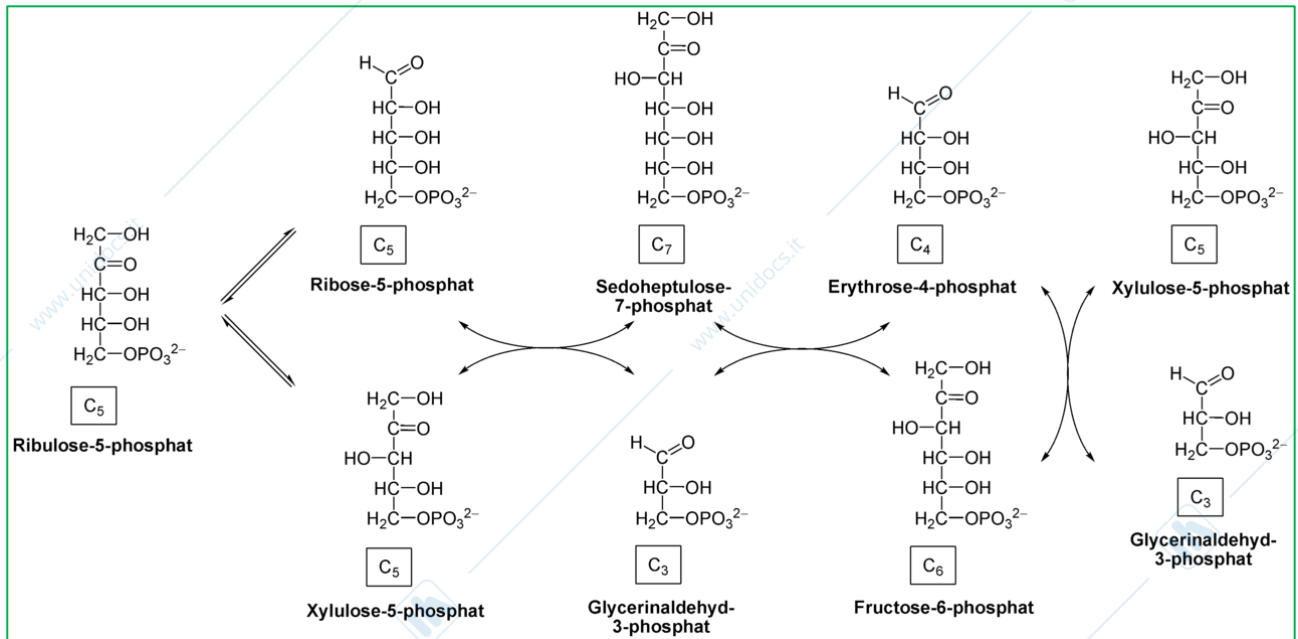
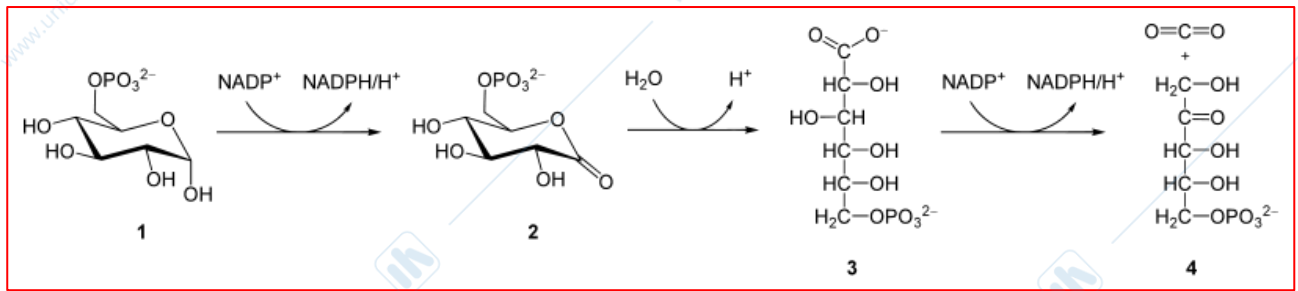
La fosforilazione ossidativa è il processo a maggior rendimento energetico generato nelle cellule aerobiche: la completa ossidazione di una molecola di O_2 porta alla sintesi di 30-32 molecole di ATP, a differenza dell'ATP che ne genera solamente 2.

In linea generale anche questo processo metabolico è regolato dalla concentrazione dei segnali energetici: rapporti di concentrazione elevati di ADP/ATP accelerano il processo.

Via del pentosio fosfato

A seconda delle esigenze della cellula, il glucosio può subire un destino metabolico differente dalla glicolisi come, ad esempio, essere convertito a ribosio-5-fosfato (**R5P**) come precursore della sintesi di alcuni nucleotidi.

La via del pentosio fosfato, oltre a produrre R5P per la biosintesi dei nucleotidi, produce anche NADPH per le biosintesi riduttive; è costituita da una *fase ossidativa* ed una *fase non ossidativa*. Nella fase ossidativa ottengo R5P da G6P, da quella non ossidativa ottengo F6P e G3P. Una volta ottenuto G3P e F6P, questi possono essere nuovamente reimmessi all'interno del processo glicolitico.

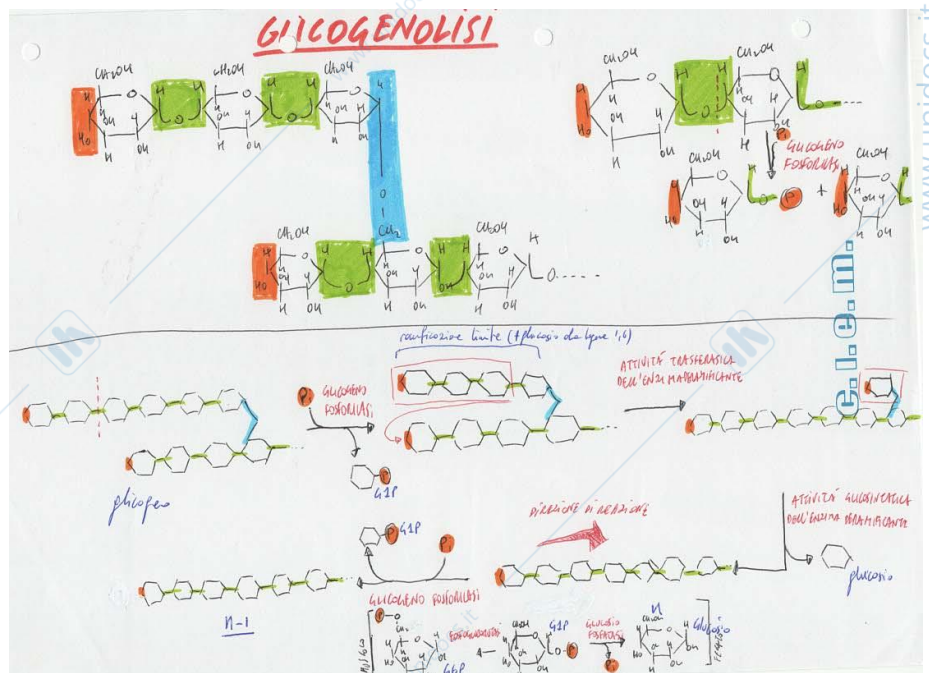


Quando la richiesta di NADPH prevale su quella di Ru5P, le *transchetolasi* e la *transaldolasi* convertono l'eccesso di Ru5P in intermedi glicolitici; Quando la richiesta di Ru5P prevale su quella di NADPH, il Ru5P può essere sintetizzato dagli intermedi glicolitici mediante le reazioni inverse: il flusso attraverso la via è controllato dalla velocità della reazione catalizzata dalla G6PDH.

Glicogenolisi e Glicogenosintesi

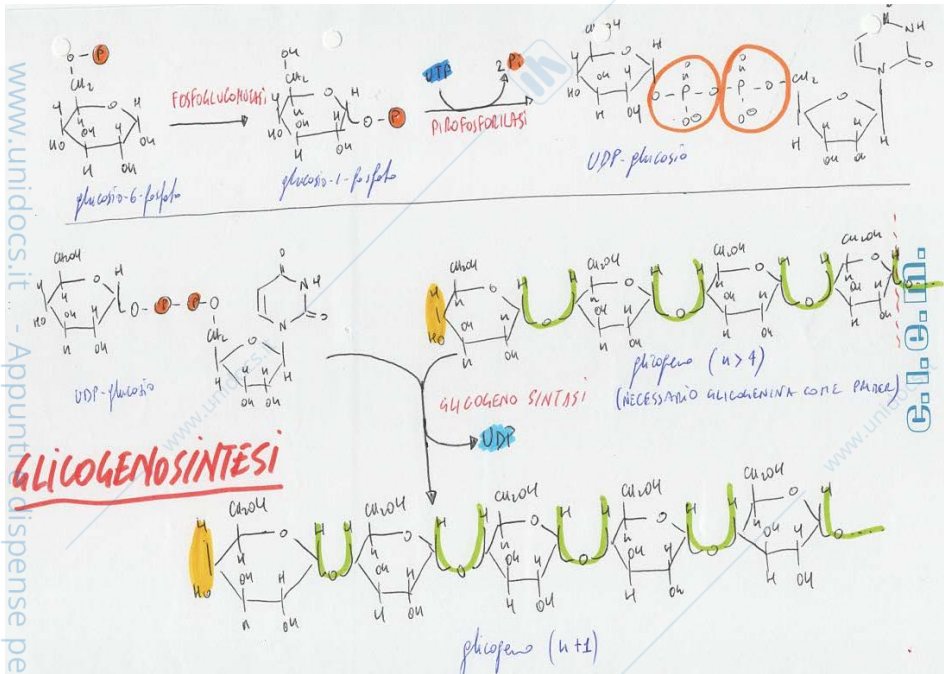
La glicogenolisi è un processo metabolico che porta alla demolizione del glicogeno a dare glucosio in caso di ridotti livelli glucidici nel sangue. La glicolisi è attivata e promossa dal glucagone per attivazione della catena della glicogeno fosforilasi.

Il prodotto ottenuto è *glucosio-1-fosfato (G1P)* che può essere trasformato in G6P dall'enzima *fosfoglucomutasi* oppure essere defosforilato dall'enzima *glucosio*



fosfatasi solo nel tessuto epatico) ed entrare nel torrente circolatorio come glucosio.

Quando i livelli ematici del glucosio sono elevati, ad esempio dopo un pasto, il glucosio in eccedenza è trasformato in glicogeno per essere stoccato come zucchero di "pronto utilizzo".



Il glucosio presente sotto forma di G6P è convertito in G1P dalla *fosfoglucomutasi* e successivamente convertito in UDP-glucosio dall'enzima *pirofosforilasi* per reazione con UTP. È da ricordare che la *glicogeno sintetasi* non è in grado di formare i legami 1,6 che invece sono tipici dell'enzima *ramificante*.

Non è possibile iniziare la sintesi del glicogeno senza uno scaffold iniziale, costituito dalla *glicogenina*, capace di autoglicosilarsi senza intervento

enzimatico esterno: una volta raggiunti 8 residui glicosidici, intervengono gli specifici enzimi.

Il controllo esercitato sulla glicogenolisi e sulla glicogenosintesi è operato principalmente a livello ormonale. Tre sono gli enzimi coinvolti in questi processi metabolici: *adrenalina*, *insulina*, *glucagone*.

Il glucagone è un peptide che si lega ad uno specifico recettore sul fegato e, tramite la trasduzione del segnale da parte di proteine G e l'attivazione della cascata del cAMP, permette l'attivazione della glicogeno fosforilasi a e quindi la demolizione del glicogeno a glucosio.

L'insulina invece ha una attività fosfataseica e, tramite legame a specifici recettori, defosforila la *glicogeno sintetasi* (che è attiva solo se defosforilata) e attiva la *fosfodiesterasi* che trasforma il cAMP in AMP, bloccando in successione anche la glicogeno fosforilasi.

A livello muscolare, il segnale può essere indipendente dall'intervento di glucagone ed insulina, dato che glicogenolisi e glicogenosintesi sono dipendenti dalla richiesta muscolare per effettuare in generale sforzi. La fosforilasi chinasi è dipendente anche da elevate concentrazioni di Ca^{2+} , che possono portare comunque al medesimo risultato del glucagone.

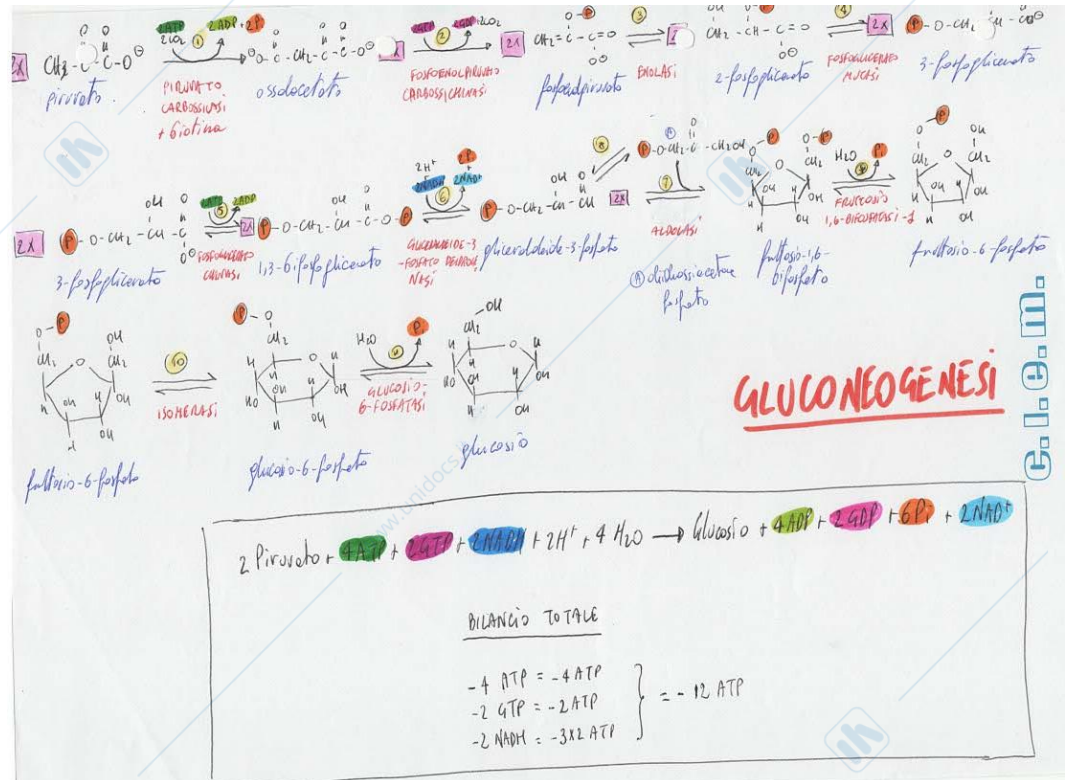
Gluconeogenesi

La gluconeogenesi è un processo metabolico molto simile alla glicolisi ma promosso nella direzione opposta. In realtà il processo gluconeogenetico prevede dieci reazioni chimiche, sette delle quali sono in comune con la glicolisi. Tre delle reazioni della glicolisi sono irreversibili in vivo e quindi

inutilizzabili per la gluconeogenesi: fosforilazione di F6P a F-1,6-BP, fosforilazione di glucosio a G6P e conversione di PEP in piruvato.

Mentre glicogenosintesi e glicogenolisi possono essere effettuate indistintamente sia dal muscolo che dal fegato, la gluconeogenesi è operabile solo nel tessuto epatico.

Nella gluconeogenesi interviene la *biotina*, importante coenzima perché deputato al trasporto del carbonato nelle reazioni di carbossilazione: non può essere sintetizzata e deve essere assunta come vitamina.

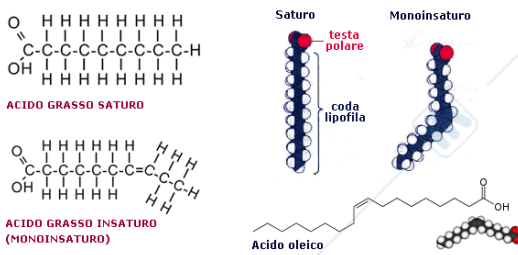


Il controllo di questo processo metabolico è operato dal metabolita *fruttosio-2,6-bifosfato*, ottenuto da F6P per intervento dell'enzima *fosfofruttochinasi II*, capace di operare con attività fosfatasica e chinasi sulla posizione 2 del fruttosio. Quando è presente questo metabolita si ha l'attivazione della *fosfofruttochinasi I* e di conseguenza si ha lo stimolo della glicolisi e l'inibizione della gluconeogenesi. L'enzima PFK-2 è attivo quando defosforilato; mentre generalmente il glucagone opera una fosforilazione, per promuovere la gluconeogenesi opera un intervento di defosforilazione del fruttosio-2,6-bifosfato: il glucagone si lega al recettore accoppiato a proteina G, viene promossa l'adenilato ciclasi e la cascata del cAMP, la PKA fosforila PFK-2 e ne attiva l'azione fosfatasica nei confronti del metabolita di controllo.

L'insulina, differentemente dal glucagone, promuove una riduzione del cAMP e quindi favorisce la forma defosforilata di PFK-2 con conseguente azione chinasi nei confronti di F6P: l'aumento di fruttosio-2,6-bifosfato è il segnale metabolico di promozione della glicolisi.

METABOLISMO LIPIDICO

Acidi grassi, trigliceridi e lipidi di membrana



I grassi e gli oli derivano principalmente da acidi grassi: essi sono utilizzati in funzione di riserva energetica. Hanno una lunghezza della catena carboniosa che può variare da poche unità fino a oltre 30 carboni e possedere o meno doppi legami: questa caratteristica discrimina e differenzia gli *acidi grassi saturi* (nessun doppio legame) dagli *acidi grassi insaturi* (almeno un doppio legame).

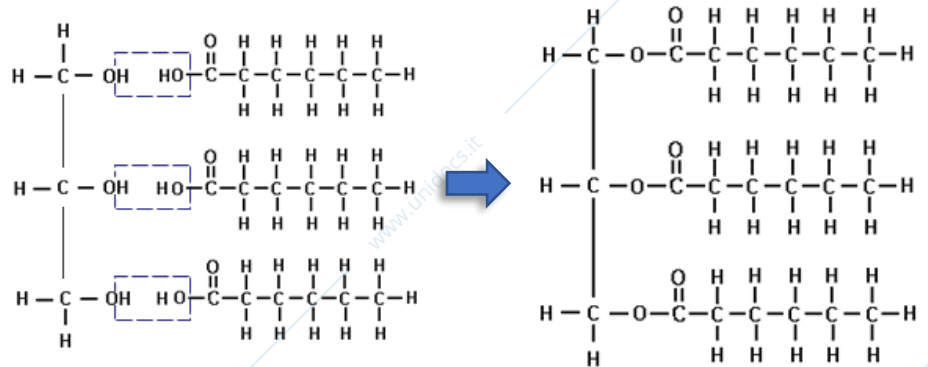
Il punto di fusione e la solubilità di questi composti è molto influenzata dalla natura della catena acilica, in particolar modo la sua lunghezza ed il numero di doppi legami presenti.

Scheletro carbonioso	Struttura	Nome sistematico	Nome comune
12:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	Acido n-dodecanoico	Acido laurico
14:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	Acido n-tetradecanoico	Acido miristico
16:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	Acido n-esadecanoico	Acido palmitico
18:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	Acido n-ottadecanoico	Acido stearico
20:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	Acido n-eicosanoico	Acido arachidico
24:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	Acido n-tetraeicosanoico	Acido lignoceroico

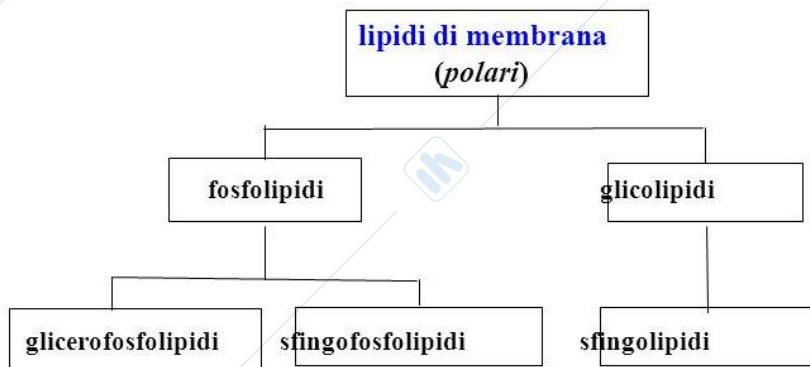
I trigliceridi sono composti da tre acidi grassi legati ad una molecola di *glicerolo* e nelle cellule eucariotiche sono presenti come goccioline oleose all'interno del citosol con funzione di riserva energetica. Gli *adipociti*

contengono grandi quantità di questi trigliceridi sotto forma di gocce di grasso pronte da catabolizzare in acidi grassi tramite *lipasi* secondo necessità. Da un punto di vista "logistico" e strutturale è più conveniente trasportare e stoccare trigliceridi a discapito di acidi

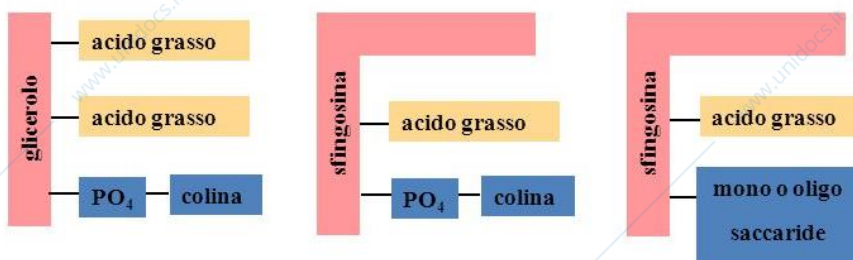
grassi poiché gli atomi di carbonio sono più ridotti e capaci di una migliore resa energetica; inoltre i trigliceridi sono idrofobici e di conseguenza non idratati, risultando più leggeri per il trasporto.



La grande suddivisione dei lipidi di membrana è costituita dal grande divario tra *glicolipidi* e *fosfolipidi*.



Nei fosfolipidi di membrana rientrano i *glicerofosfolipidi* e gli *sfingolipidi*, lipidi con una struttura a base di glicerolo o sfingosina legati ad almeno un acido grasso e ad un gruppo fosfato. I glicerofosfolipidi sono costituiti da uno scheletro di glicerolo cui sono legati due acidi grassi, un gruppo fosfato con legato un sostituito polare. Gli sfingolipidi hanno una struttura simile ma una delle lunghe catene carboniose è costituita dalla catena laterale della sfingosina.



Nei glicolipidi rientrano i *galattolipidi* e gli *sfingolipidi*, con struttura molto simile a quella dei corrispettivi fosfolipidi ma senza la testa polare. Gli sfingolipidi di questa classe di composti legano un solo acido grasso ed un mono- o un oligosaccaride; i galattolipidi sono costituiti da uno scheletro di glicerolo e due catene di acidi grassi come i glicerofosfolipidi senza il legame ad un gruppo fosfato ma ad un mono- o disaccaride legato a sua volta ad un gruppo solfato.

I fosfolipidi possono essere catabolizzati da specifici enzimi come la *fosfolipasi A* (rottura di un legame del glicerolo con un acido grasso), la *lisofosfolipasi* (rottura del legame con l'acido grasso rimanente), la *fosfolipasi C* e la *fosfolipasi D* (rottura dei legami del gruppo fosfato con il glicerolo e con il gruppo polare).

Gli steroli

Gli steroli sono lipidi strutturali presenti nella membrana di molte cellule eucariotiche con la caratteristica strutturale di essere costituiti da quattro anelli fusi.

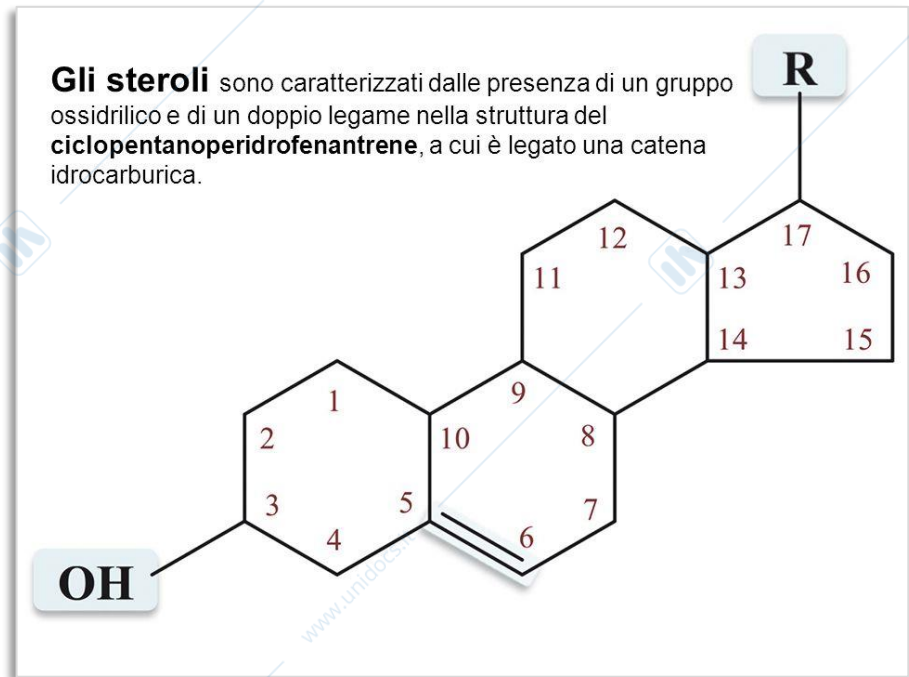
Il colesterolo è il principale sterolo contenuto nei tessuti animali ed oltre che essere contenuto nelle membrane, costituisce il precursore di diversi prodotti come gli *ormoni steroidei* e gli *acidi biliari*.

Tra i più importanti ormoni steroidei rientrano gli ormoni sessuali maschili e femminili come il *testosterone* e il β -*estradiolo* oltre che gli ormoni prodotti dal surrene come *cortisolo* e *aldosterone*. Mentre adrenalina e glucagone agiscono su specifici recettori presenti sulla membrana cellulare, gli ormoni steroidei si legano a proteine intracellulari e, da soli o insieme, si legano al DNA e regolano l'espressione genica. Anche gli ormoni tiroidei si legano al DNA.

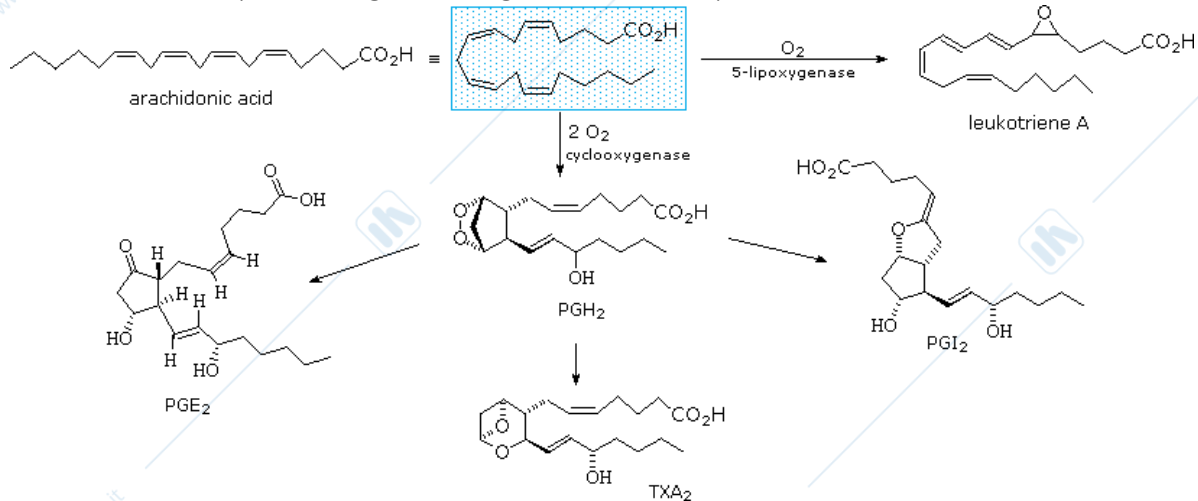
Gli eicosanoidi

Gli eicosanoidi sono ormoni che vengono prodotti ed utilizzati nelle cellule prossime al sito di produzione e sono coinvolti nel processo di riproduzione, nel dolore, nell'aumento di temperatura e nell'infiammazione. Sono derivati dell'acido arachidonico ed esistono in tre grandi classi:

- *Prostaglandine (PG)*: stimolano la contrazione uterina nel periodo mestruale e il parto, il ciclo veglia-sonno, alcune aumentano la temperatura causando infiammazione e dolore;
- *Trombossani*: sono prodotti dalle piastrine e agiscono nella formazione dei coaguli sanguigni e nella riduzione del flusso ematico verso il sito di coagulazione;



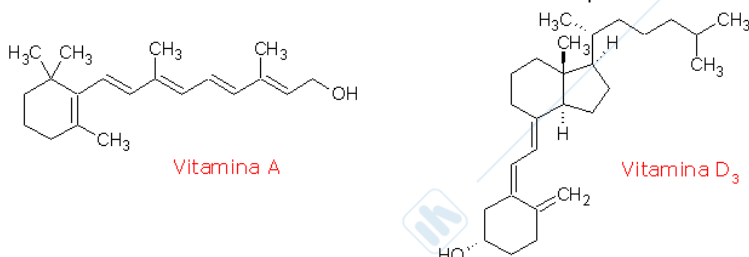
- **Leucotrieni:** potenti segnali biologici che, se sovrapprodotti causano attacchi asmatici.



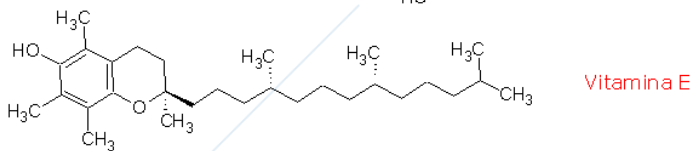
Le vitamine

Tra le vitamine più importanti ed essenziali ricordiamo le *vitamine D, A, E, K₁*.

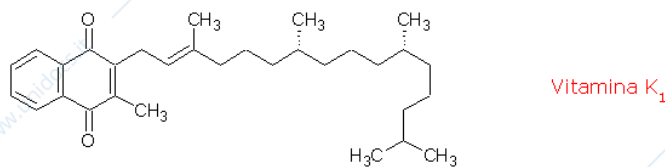
La vitamina D è sintetizzabile dal colesterolo per una reazione fotochimica con la radiazione UV e a



livello renale ed epatico è convertita in un ormone regolatore del trasporto di calcio nell'intestino e i livelli di calcio nei reni e nell'osso.



La vitamina A deriva dal carotene si chiama *retinolo*: è importante per la visione e per trasmettere il segnale neuronale al cervello da parte del pigmento. È assunta nell'organismo come *β-carotene*, convertito dai vertebrati in vitamina A da parte di specifici enzimi.



La vitamina E è un antiossidante che interviene a livello del mitocondrio per ridurre le quantità delle specie superossido estremamente tossiche. Sono costituite da un anello aromatico reagisce e distrugge le forme più reattive dei radicali.

La vitamina K₁ è invece coinvolta nel processo di coagulazione: l'anello aromatico va incontro ad una serie di ossidoriduzioni nella catena di produzione della protrombina attiva, una proteina del plasma essenziale per la coagulazione.

Digestione, mobilizzazione e trasporto degli acidi grassi

Affinché i vertebrati possano assimilare gli acidi grassi, gli alimenti devono essere opportunamente digeriti. Dopo il passaggio dallo stomaco, i cibi parzialmente digeriti entrano nell'intestino e qui intervengono i *sali biliari* prodotti dalla cistifellea che emulsionano l'ambiente e permettono agli enzimi (che solitamente operano in ambiente acquoso) di operare in un ambiente ricco di grassi. A

questo punto intervengono le lipasi epatiche che scindono il legame tra glicerolo e acidi grassi. Questi prodotti diffondono all'interno delle cellule epiteliali che ricoprono l'intestino e qui riconvertite in trigliceridi: per facilitarne il trasporto in un mezzo acquoso come il sangue, questi ultimi sono assemblati insieme al colesterolo ed altre proteine in aggregati chiamati *chilomicroni*. Nei chilomicroni sono presenti *apolipoproteine* che legano fosfolipidi, proteine, trigliceridi, colesterolo e suoi esteri trasportandoli nel torrente circolatorio in forma di diverse *lipoproteine*: a seconda del rapporto di immagazzinamento esistono le *VLDL (Very Low Density Lipoprotein)*, *LDL (Low Density Lipoprotein)*, *HDL (High Density Lipoprotein)*, *VHDL (Very High Density Lipoprotein)*.

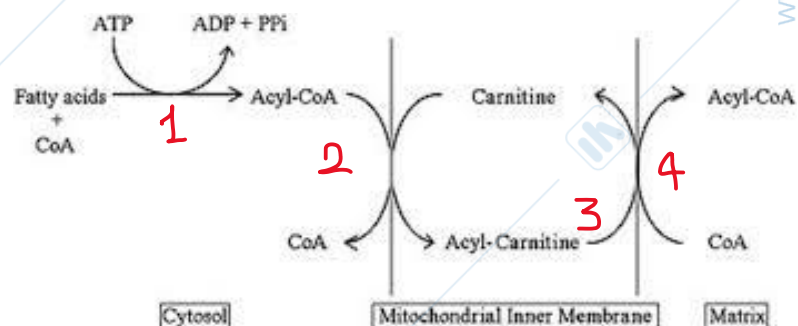
Una volta assorbiti a livello intestinale, i chilomicroni entrano nel sistema linfatico e trasportati al tessuto bersaglio, in genere muscoli e al tessuto adiposo. In questi tessuti l'enzima *lipoproteina lipasi* che idrolizza i trigliceridi ad acidi grassi e glicerolo, composti capaci di penetrare all'interno delle cellule bersaglio: qui vengono ossidati per ricavarne energia (muscolo) o nuovamente esterificati a trigliceridi per la conservazione (tessuto adiposo). I resti dei chilomicroni vengono tradotti al fegato e qui internalizzati con endocitosi per ottenere energia dalla loro ossidazione o per generare precursori della sintesi dei corpi chetonici.

Gli ormoni come adrenalina e glucagone giocano un ruolo importante nella demolizione delle riserve lipidiche: una volta che questi ormoni vengono rilasciati per una carenza di energia metabolica, si legano a specifici recettori sulla membrana degli adipociti e iniziano la trasmissione del messaggio.

Attivano la *adenilato ciclasi* aumentando la concentrazione di cAMP e attivano la PKA specifica che determina la rottura della gocciolina lipidica all'interno degli adipociti: la rottura la espone all'azione di tre lipasi agenti su mono-, di- e trigliceridi, generando così acidi grassi e glicerolo. Gli acidi grassi fuoriescono nel sangue e si legano alla *sieroalbumina* che li trasporta ai tessuti; qui vengono rilasciati e trasferiti da trasportatori di membrana nel citosol cellulare per essere utilizzati come combustibile metabolico. Il glicerolo residuo è fosforilato e ossidato a *diidrossiacetone fosfato* e può entrare nella via glicolitica o gluconeogenica.

Affinché gli acidi grassi possano essere definitivamente utilizzati, essi devono passare dal citosol cellulare al mitocondrio, ma acidi grassi con catene carboniose costituite da più di 14 carboni devono sfruttare lo *shuttle della carnitina*:

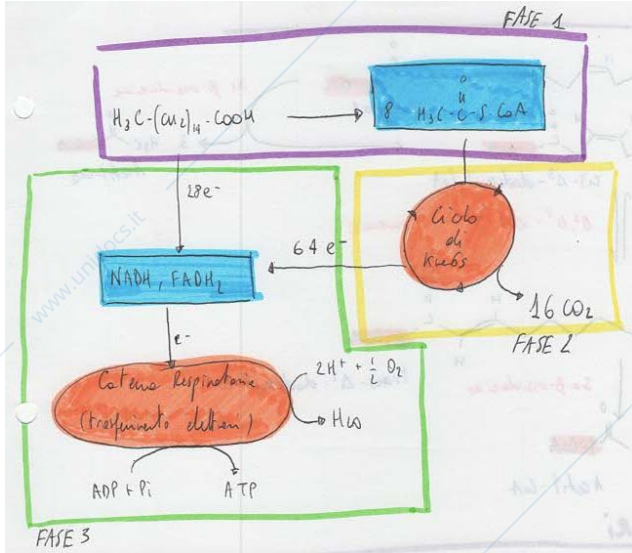
1. L'acido grasso reagisce con il coenzima A a dare *Acil-CoA*;
2. Gli Acil-CoA si legano al gruppo -OH della carnitina a dare *acil-carnitina* grazie all'enzima *carnitina aciltransferasi I*;
3. Il trasportatore trasferisce gli acil-carnitina all'interno del mitocondrio;
4. L'enzima *carnitina aciltransferasi II* trasferisce il gruppo acilico dalla carnitina a CoA liberando Acil-CoA e carnitina



Il processo di ingresso nel mitocondrio è il punto di regolazione nel processo di ossidazione degli acidi grassi, dato che il *malonil-CoA* (prodotto della biosintesi degli acidi grassi) è inibitore allosterico della *carnitina aciltransferasi I*.

Mentre la degradazione degli acidi grassi avviene nel mitocondrio, la loro biosintesi avviene nel citosol: tutte le cellule sono in grado di effettuare queste reazioni.

Ossidazione degli acidi grassi



L'ossidazione degli acidi grassi nel mitocondrio avviene in tre fasi distinte.

- Fase 1.** nella fase della β -ossidazione, gli acidi grassi sono sistematicamente ossidati a singole unità di acetil-CoA, partendo dall'estremità carbossiterminale della catena di acido grasso;
- Fase 2.** L'unità acetilica dell'acetil-CoA è ossidata a CO_2 nel ciclo di Krebs producendo riduzione dei trasportatori di elettroni NAD^+ e FAD a NADH e FADH_2 ;
- Fase 3.** I trasportatori di elettroni ridotti provenienti dalla β -ossidazione e dal ciclo di Krebs donano alla catena respiratoria gli

elettroni che hanno ricevuto: permettono così di ottenere ATP da ADP e H_2O dalle specie ossidanti dell'ossigeno.

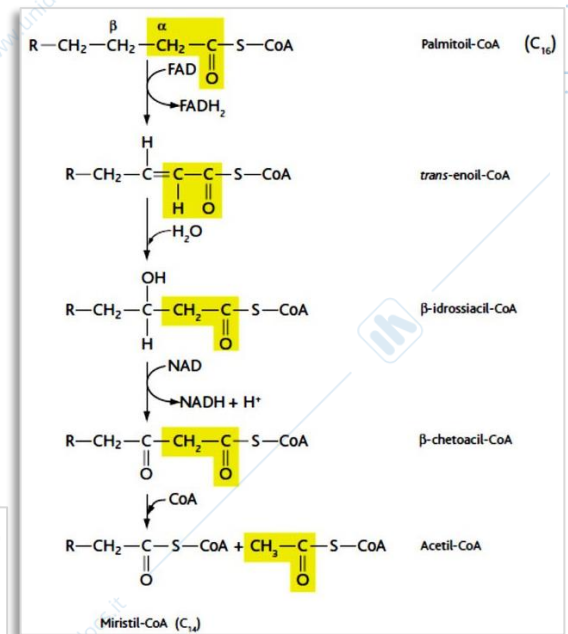
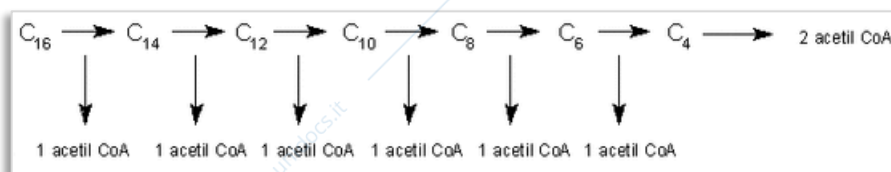
L'ossidazione degli acidi grassi prende il nome di β -ossidazione perché avviene tra il carbonio α e β dell'acido grasso; è un processo in 4 reazioni che permette la completa ossidazione di un acido grasso a singole unità di acetil-CoA e formazione di specie ridotte di trasportatori di elettroni:

Fase 1. Deidrogenazione tra i carboni α e β ;

Fase 2. Idratazione del doppio legame;

Fase 3. Ossidazione del gruppo $-\text{OH}$ sul carbonio β ;

Fase 4. Rottura del legame tra i carboni α e β con formazione di acetil-CoA ed un acido grasso con 2 carboni in meno



Possono essere ossidati anche gli acidi grassi *insaturi* e *polinsaturi*: gli enzimi *isomerasi* possono convertire il doppio legame da *cis* a *trans*, mentre gli enzimi *reduttasi* possono saturare il doppio legame.

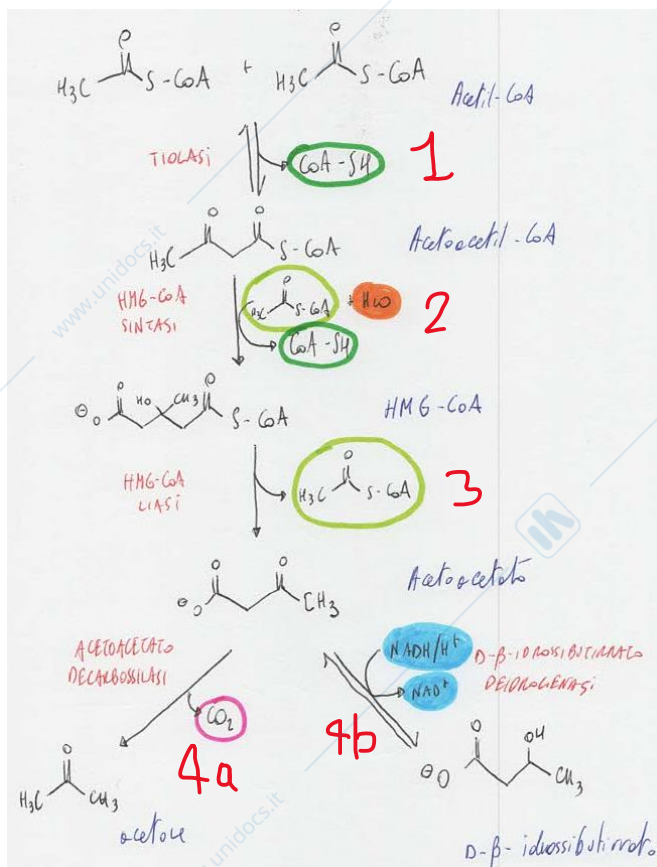
L'ossidazione degli acidi grassi consuma nutrienti importanti e quindi è attivata solo quando necessario tramite una specifica regolazione.

La prima regolazione operata avviene sullo shuttle della carnitina, inibito allostericamente dal malonil-CoA proveniente dalla biosintesi degli acidi grassi. Gli acidi grassi non riescono ad entrare nel mitocondrio e non possono essere ossidati: questo avviene quando il fegato dispone di molto glucosio come combustibile e quando sta sintetizzando triacilgliceroli dall'eccesso di zucchero.

La seconda regolazione è operata in caso di alto rapporto $[NADH]/[NAD^+]$ che inibisce la β -idrossiacil-CoA deidrogenasi e in caso di alte concentrazioni di acetil-CoA che inibiscono la *tiolasi*. Durante il digiuno o l'attività fisica intensa diminuisce il rapporto ATP/AMP, si attiva AMPK (una chinasi) che fosforila l'*acetil-CoA carbossilasi* che a sua volta catalizza la sintesi di malonil-CoA: viene rimossa l'inibizione che permette la β -ossidazione e vengono quindi ripristinati i livelli di ATP.

I corpi chetonici

L'acetil-CoA che si è formato nel fegato durante l'ossidazione degli acidi grassi può entrare nel ciclo di Krebs o trasformato in *corpi chetonici* che sono rappresentati da acetone, acetoacetato e D- β -idrossibutirrato: il cervello di norma preferisce il glucosio, ma in caso di digiuno prolungato può attingere anche il D- β -idrossibutirrato. Ad alte concentrazioni sono sostanze tossiche per l'organismo.



La sintesi di corpi chetonici avviene in quattro fasi:

- Fase 1.** Condensazione di due acetil-CoA a dare acetoacetil-CoA;
- Fase 2.** Condensazione con un'ulteriore molecola di acetil-CoA a dare HMG-CoA;
- Fase 3.** Scissione di HMG-CoA in acetoacetato e acetil-CoA;
- Fase 4.** Produzione alternativa di acetone o D- β -idrossibutirrato.

L'accumulo di acetil-CoA per digiuno prolungato o per diabete è causato dalla sottrazione di intermedi di reazione nel ciclo di Krebs e questo provoca una sovrapproduzione di corpi chetonici che non possono essere utilizzati dai tessuti extraepatici.

L'aumento di questi corpi nel torrente circolatorio abbassa il pH del sangue e genera

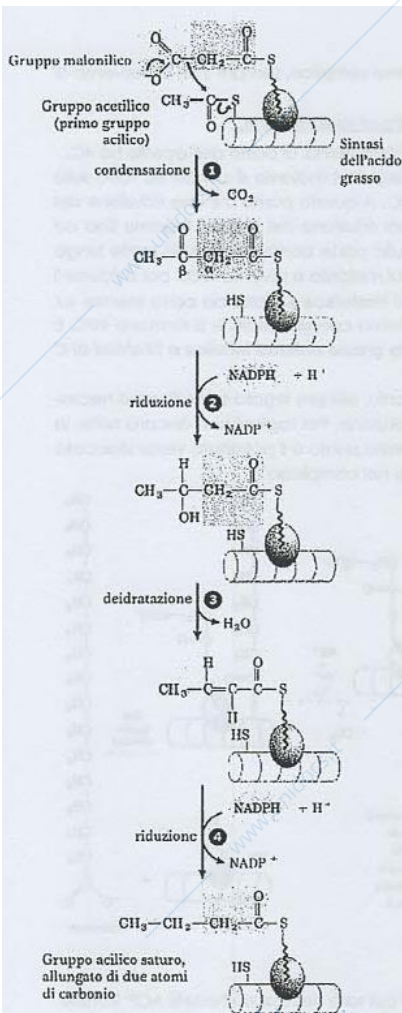
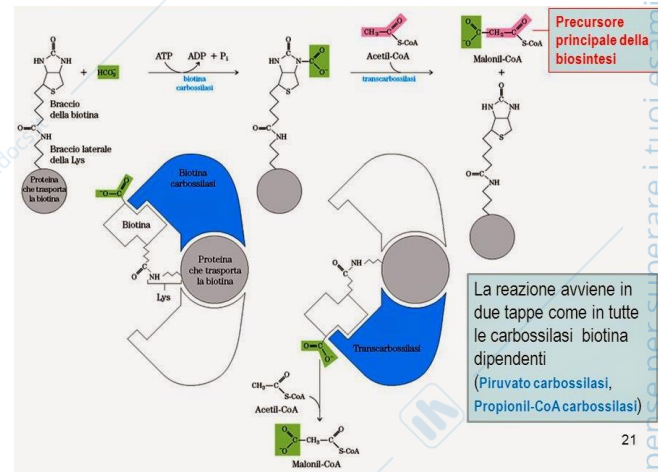
acidosi, che può portare al coma e alla morte. La alta concentrazione nelle urine e nel sangue dei corpi chetonici è detta *chetosi*.

Biosintesi degli acidi grassi

La biosintesi degli acidi grassi avviene nel citosol cellulare, il primo prodotto di questo processo inibisce allostericamente lo shuttle della carnitina ed evita che gli acidi grassi appena prodotti vengano trasportati nel mitocondrio e ossidati.

In questo processo è coinvolto l'enzima *acetil-CoA transcarbossilasi* e l'*acido grasso sintetasi*. La prima contiene un gruppo prostetico costituito da *biotina*. È un enzima controllato dal citrato, dal glucagone e dall'insulina.

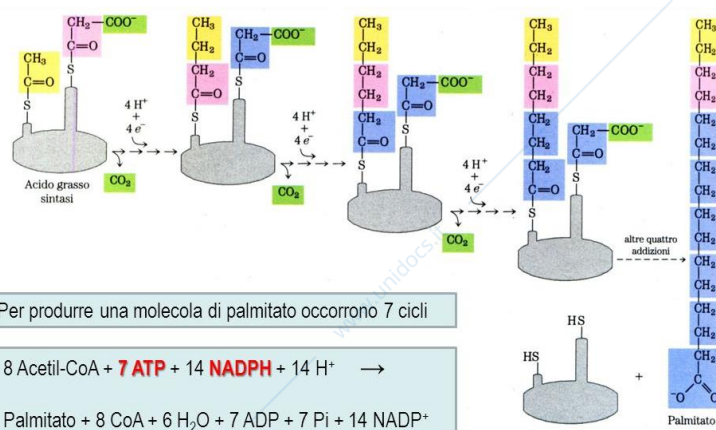
- **Regolazione da citrato:** se nel ciclo di Krebs ci sono alti segnali energetici, la *isocitrico deidrogenasi* è inibita e il citrato, fuoriuscendo dal mitocondrio, attiva la *acetil-CoA transcarbossilasi*, catalizzando quindi la biosintesi di acidi grassi;
- **Regolazione da glucagone:** il glucagone fosforila e attiva le lipasi, bloccando contemporaneamente l'enzima carbossilasi;
- **Regolazione da insulina:** defosforila le lipasi e la carbossilasi, disattivando le prime e attivando la seconda. Viene prodotto malonil-CoA da acetil-CoA che va ad inibire e bloccare l'ossidazione degli acidi grassi.



Una volta ottenuto malonil-CoA, si lega per legame tioestereo al gruppo -SH della ACP ed inizia un ciclo in quattro reazioni che porta ogni volta all'allungamento di due carboni la catena dell'acido grasso.

- Fase 1.** Condensazione del gruppo malonilico al gruppo acetilico;
- Fase 2.** Riduzione del gruppo ossidrilico del carbonio β;
- Fase 3.** Deidratazione del legame tra α e β;
- Fase 4.** Saturazione del doppio legame.

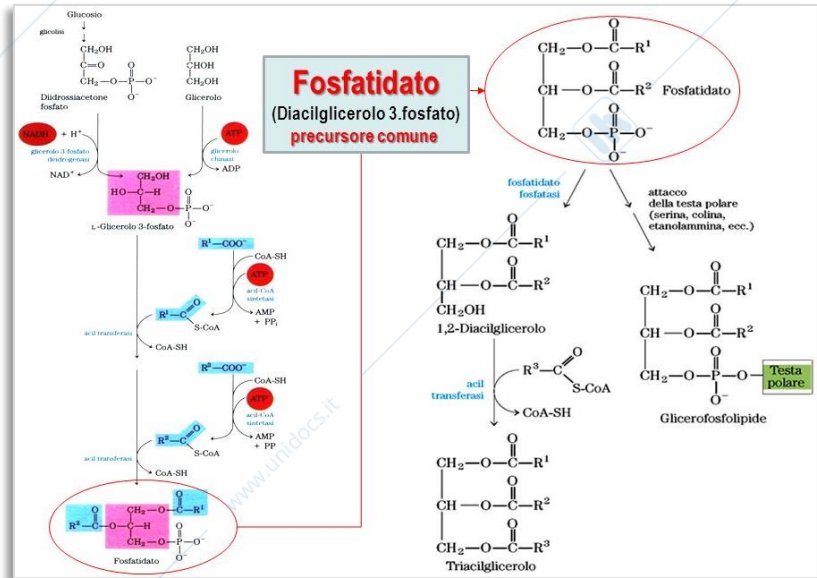
La catena così ottenuta è nuovamente trasferita sul gruppo -SH dell'enzima, un nuovo malonil-CoA può legarsi e continuare così la sintesi.



Biosintesi trigliceridi e fosfolipidi

Per la biosintesi dei trigliceridi e dei fosfolipidi si necessita come precursori il *glicerolo-3-fosfato* e *acil-CoA*, ottenuti rispettivamente dalla glicolisi e da una reazione catalizzata dalla *acil-CoA sintetasi*. L'insulina interviene attivamente su questo processo, andando a facilitare la conversione di carboidrati in trigliceridi e, di conseguenza, ridurre la quantità di glucosio nel sangue.

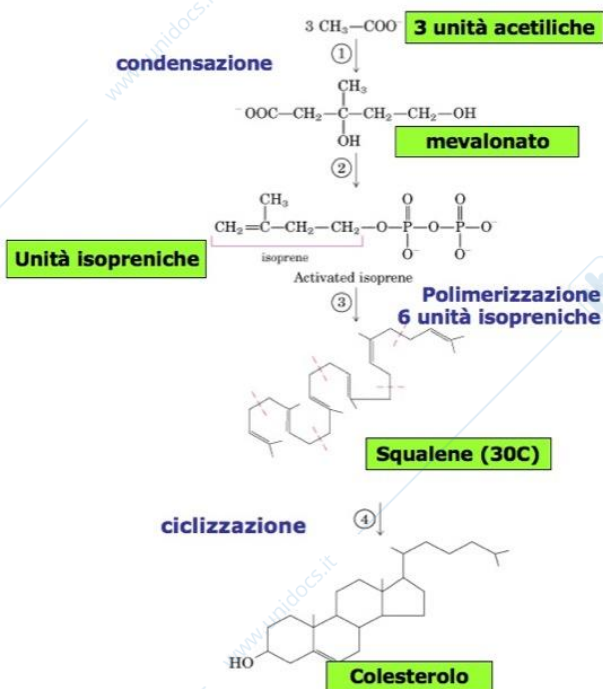
Per quanto riguarda la biosintesi dei fosfolipidi, la reazione iniziale è comune alla biosintesi dei trigliceridi: occorre arrivare al precursore comune, cioè il fosfatidato. Dopodiché esistono due possibilità



- *Strategia 1*: il diacilglicerolo è attivato per condensazione dell'acido fosfatidico ed eliminazione di P_i e formazione di CDP-diacilglicerolo;
- *Strategia 2*: la testa polare è attivata con CDP e l'alcol attivato entra nella reazione con rilascio di CMP.

COLESTEROLO, STEROIDI, ISOPRENOIDI

Biosintesi del colesterolo

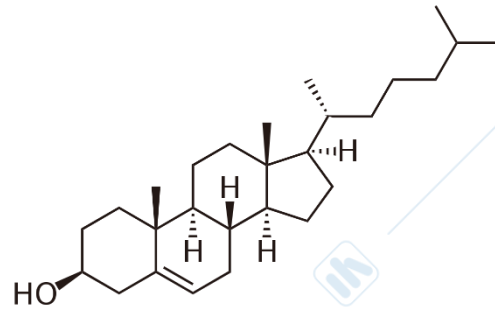


Il colesterolo è il lipide più noto, per la correlazione tra la sua concentrazione ematica ed il rischio cardiovascolare associato. È altresì un importante componente delle membrane cellulari e un precursore degli ormoni steroidei e degli acidi biliari. È essenziale per la vita, ma non richiesto dalla dieta: infatti ogni cellula lo può sintetizzare a partire da precursori semplici.

Il processo di sintesi è facilmente riassumibile in quattro tappe:

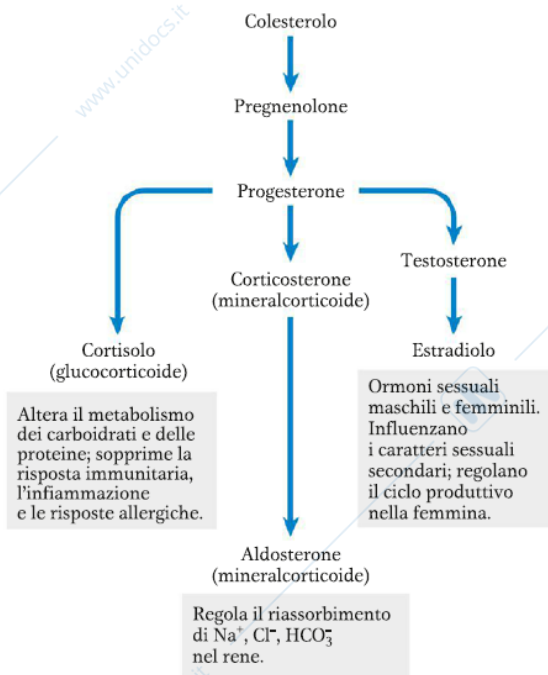
- Fase 1. Condensazione di 3 unità di acetil-CoA a dare *mevalonato*;
- Fase 2. Conversione del mevalonato in unità isopreniche attivate;

- Fase 3. Polimerizzazione di 6 unità isopreniche a 5 atomi di carbonio a dare la struttura lineare a 30 carboni dello squalene;
- Fase 4. Ciclizzazione della catena a dare i 4 anelli del nucleo steroideo ed ulteriori modificazioni minori a dare il colesterolo.



La sintesi del colesterolo, così come per gli acidi grassi, è regolata allostericamente dallo stesso colesterolo, dalla disponibilità di ATP e dagli ormoni glucagone e insulina: *glucagone* ne inibisce la sintesi, *insulina* la favorisce.

Ormoni steroidei



Gli ormoni steroidei sono derivati del colesterolo. Nelle ghiandole surrenali vengono prodotti due grandi classi di ormoni steroidei: *mineralcorticoidi* (responsabili del riassorbimento degli ioni inorganici da parte del rene) e *glucocorticoidi* (responsabili della regolazione del processo gluconeogenetico e di riduzione della risposta infiammatoria).

Le gonadi maschili e femminili, oltre che alla placenta, invece producono gli ormoni sessuali come gli *androgeni* e gli *estrogeni*.

Un ormone degno di nota è il cortisolo, sintetizzato a partire dal progesterone e prodotto a livello ipofisario su stimolo dell'*ormone adrenocorticotropo* (ACTH) in risposta a stimoli di stress.

L'azione del cortisolo fornisce diversi risultati:

- Favorisce la mobilitazione e l'utilizzo degli acidi grassi. Il glicerolo derivato dalla demolizione degli acidi grassi è utilizzato per la gluconeogenesi;
- Stimola la demolizione delle proteine muscolari e il trasferimento degli amminoacidi al fegato come precursori gluconeogenici;
- Riduce le difese immunitarie riducendo di conseguenza la risposta infiammatoria inibendo la *fosfolipasi A₂*;
- Diminuisce la sintesi di collagene e della matrice ossea accelerando l'osteoporosi;
- È responsabile della reazione del cervello detta "*lotta o fuggi*".

La produzione del cortisolo è basata su un ciclo circadiano, alta produzione tra le 6 e le 9 del mattino con riduzione fino a cessazione alle 20.

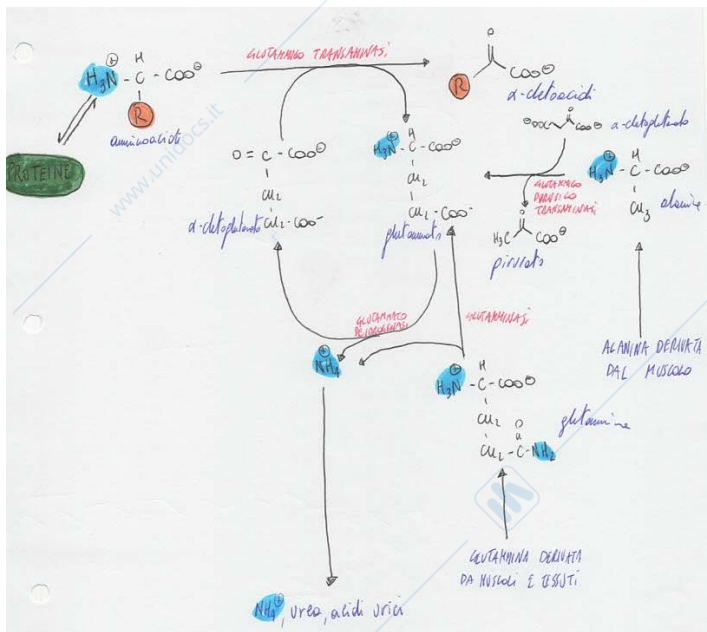
OSSIDAZIONE DEGLI AMMINOACIDI E PRODUZIONE DELL'UREA

Negli animali, gli amminoacidi vanno incontro a *degradazione ossidativa* in tre casi:

1. Nel normale processo di sintesi e degradazione delle proteine alcuni amminoacidi non sono necessari a nuove sintesi e vengono degradati;
2. In una dieta ricca di proteine e amminoacidi in eccesso rispetto al fabbisogno, gli amminoacidi vengono catabolizzati;
3. Durante il digiuno o il diabete mellito non trattato le proteine cellulari sono usate come combustibile metabolico al posto del glucosio.

Il sottoprodotto delle reazioni di degradazione è l'ammoniaca, la quale deve essere opportunamente trattata ed espulsa come urea.

Degradazione ossidativa



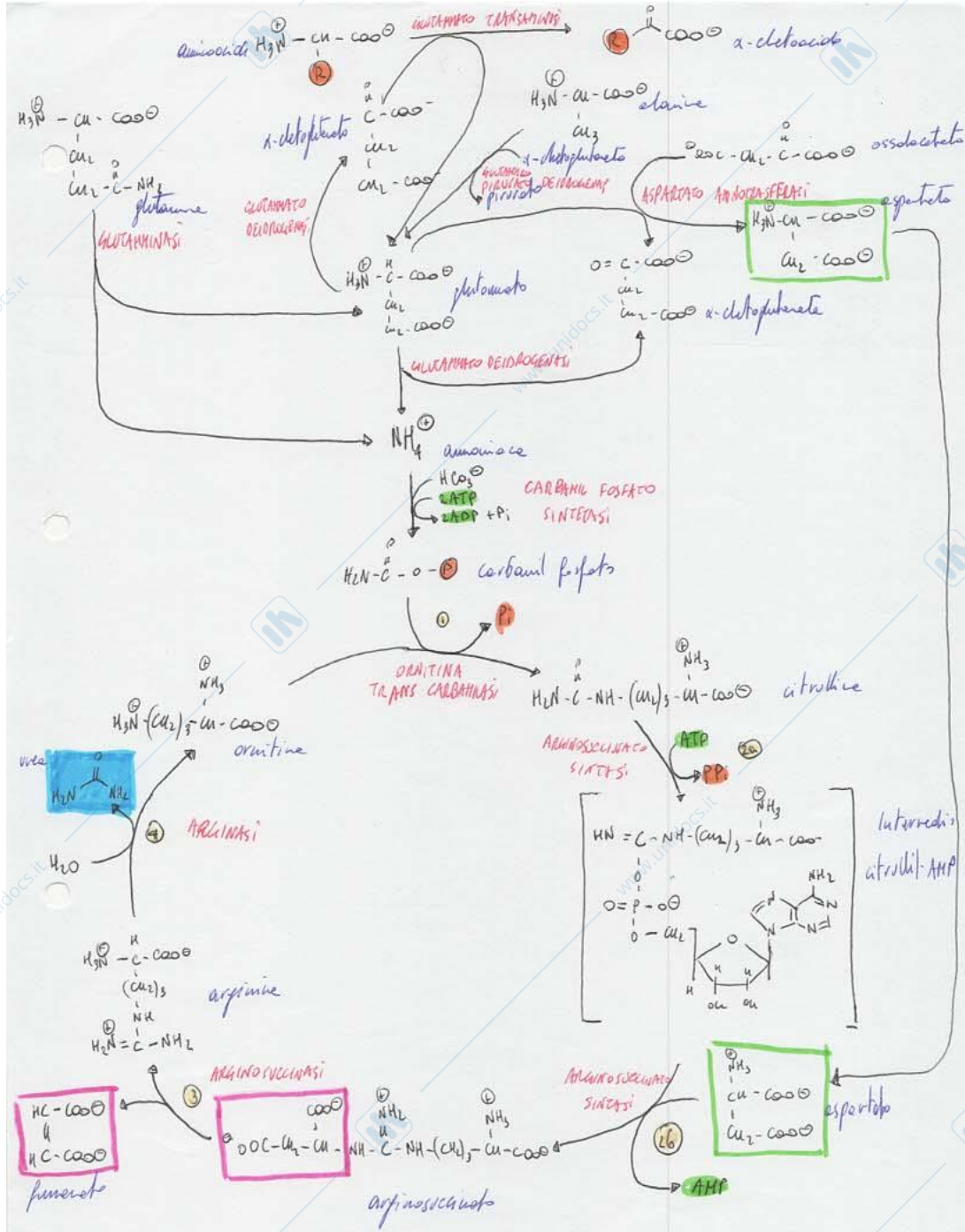
Il processo di degradazione ossidativa permette di demolire gli amminoacidi non utilizzati a dare α-chetoacidi e ammonio, il quale deve essere allontanato in sicurezza.

I composti che alimentano questo processo provengono da diverse vie: ad esempio alanina dal muscolo, glutammato da tessuti extramuscolari, ecc...

Gli enzimi che operano in questo processo metabolico sono delle *transaminasi*: alti valori ematici di questo enzima indicano cirrosi epatica.

Escrezione dell'azoto e ciclo dell'urea

L'azoto ematico in eccesso, sotto forma di NH_4^+ deve essere eliminato per conversione in un sottoprodotto più facilmente gestibile e meno reattivo.



La regolazione del ciclo dell'urea dipende da numerosi fattori, tra cui anche la dieta: una dieta iperproteica sarà costituita da numerosi scheletri carboniosi da dover eliminare. La degradazione delle proteine cellulari in seguito al digiuno prolungato porta ad un accumulo di residui di ammonio.

ORMONI

Gli ormoni sono molecole o proteine prodotte in un tessuto, rilasciate in circolo e trasportate ad altri tessuti dove, attraverso specifici recettori, espletano la loro funzione di trasmissione del segnale.

Da un punto di vista intracellulare, un ormone può esercitare cinque tipi di effetti:

1. Generazione di un secondo messaggero come regolatore allosterico degli enzimi (cAMP, cGMP, IP3, ecc...)
2. Attivazione di recettori tirosin-chinasici;
3. Variazione del potenziale di membrana e apertura o chiusura di un canale ionico;
4. Un recettore di adesione sulla superficie cellulare manda l'informazione al citoscheletro;
5. Una molecola steroidea provoca l'espressione di uno o più geni.

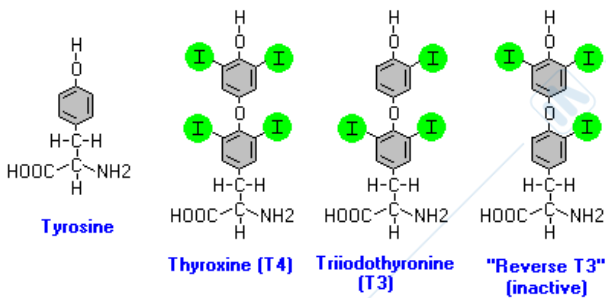
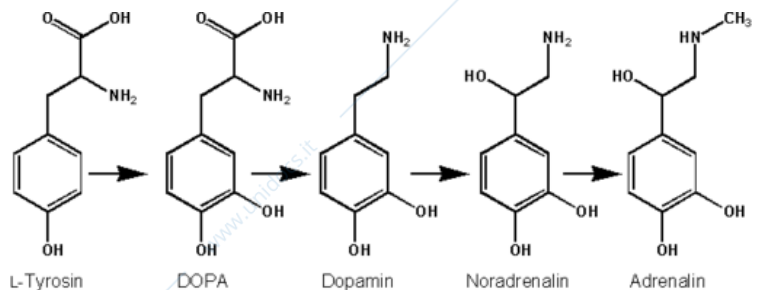
Gli ormoni amminici e peptidici sono solubili in acqua e si legano al recettore che attraverso la membrana plasmatica, innescando la trasmissione del segnale.

Gli ormoni non solubili in acqua attraversano invece la membrana della cellula bersaglio e trasmettono il proprio messaggio interagendo direttamente con il DNA e regolando una determinata espressione di geni.

Gli ormoni possono essere *endocrini* (vengono secreti nel flusso sanguigno e trasportati alle cellule bersaglio), *paracrini* (vengono rilasciati nello spazio extracellulare e vanno a cellule vicine) o *autocrini* (vengono rilasciati ed esercitano l'effetto sulla stessa cellula).

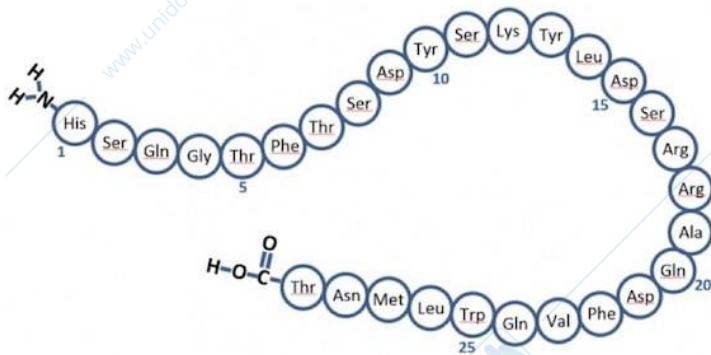
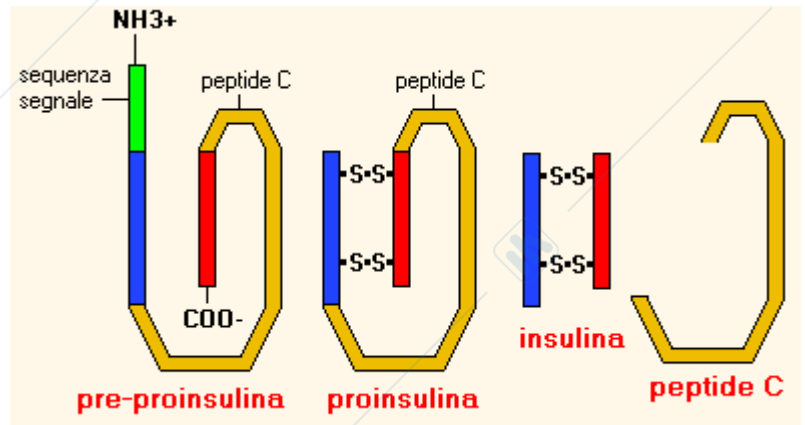
È opportuno ricordare gli *ormoni adrenergici* con i relativi *recettori adrenergici*. Importanti esponenti di questa classe ormonale sono le *catecolammine*, tra cui figurano adrenalina, noradrenalina e dopamina. Intervengono nella reazione "combatti o fuggi" quindi preparano l'organismo ad uno sforzo fisico importante in tempi brevissimi: facilitano

l'uso dei substrati energetici, aumentano l'apporto energetico agli organi vitali, aumentano il flusso renale e facilitano la ricostituzione delle riserve energetiche.



Tra gli *ormoni tiroidei* è opportuno ricordare la tirosina, la tetraiodotironina (tiroxina o T₄), la triiodotironina (T₃). Questi ormoni sono prodotti dalla tiroide e sfruttano lo iodio per trasmettere il proprio messaggio cellulare: aumentano il metabolismo ossidativo di carboidrati, proteine e grassi.

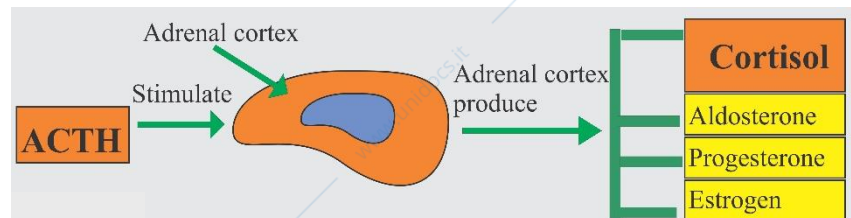
L'insulina è un ormone peptidico derivato dalla proinsulina e sintetizzata dalle cellule β del pancreas in occasione di elevate concentrazioni di glucosio ematico. I recettori dell'insulina sono di tipo tirosin-chinasico e l'azione dell'ormone è esplicita sia a livello enzimatico nel metabolismo che a livello di espressione genica nel DNA.



Il glucagone è un ormone peptidico secreto dalle cellule α delle isole di Langerhans nel pancreas ed ha come bersaglio alcune cellule epatiche. Esso regola i livelli di glucosio nel sangue ed è rilasciato in caso di bassi livelli glucidici, se stimolato da *gastrina* e *colecistochinina*. Si lega allo specifico recettore transmembrana accoppiato a proteina G, la subunità G_α si stacca e GDP è spiazzato da GTP e attiva in cascata la adenilato ciclasi: aumenta

la concentrazione cellulare di cAMP. cAMP attiva la PKA che fosforila e attiva la cascata di comunicazione.

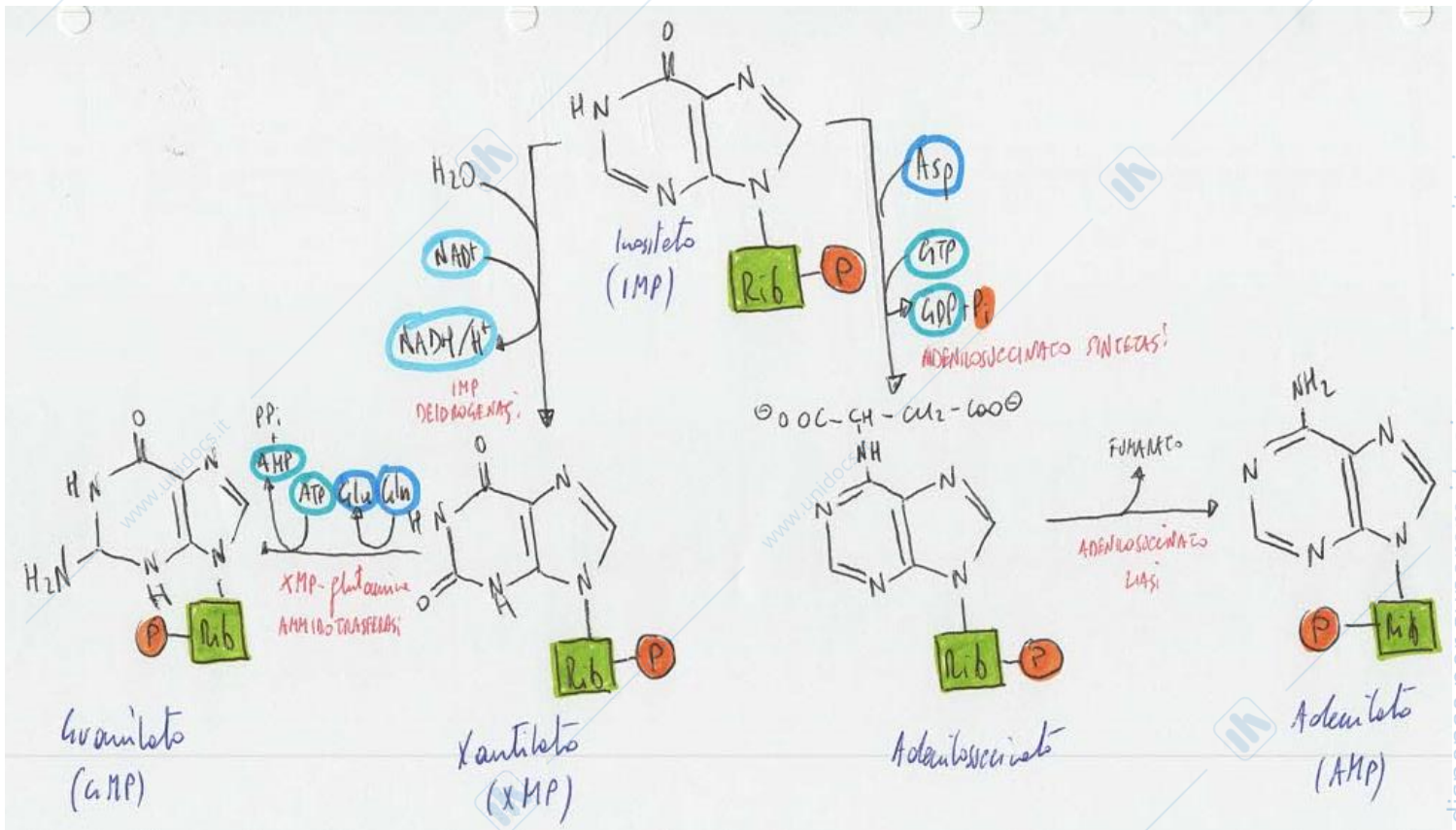
L'ormone adrenocorticotropo (o corticotropina) è un ormone proteico prodotto dall'ipofisi su regolazione dell'ipotalamo. Ha come bersaglio la zona corticale della ghiandola surrenale e stimola la formazione di glucocorticoidi come il cortisolo, importanti nella regolazione del metabolismo degli zuccheri e nella formazione di androgeni con funzione muscolarizzante.



METABOLISMO DEI NUCLEOTIDI

I nucleotidi possono avere diversi ruoli tra cui: componenti degli acidi nucleici, trasportatori di intermedi attivati nella sintesi di carboidrati (UDP-glucosio), lipidi e proteine coniugate (CDP-colina), fonte di energia, componenti strutturali di coenzimi (CoA, FADH₂, NADH e NADPH), secondi messaggeri (cAMP, cGMP) e regolatori metabolici.

Al termine di questa sintesi si ottiene *inositolo monofosfato* (IMP) che può essere convertito in *adenina* e *guanina*.

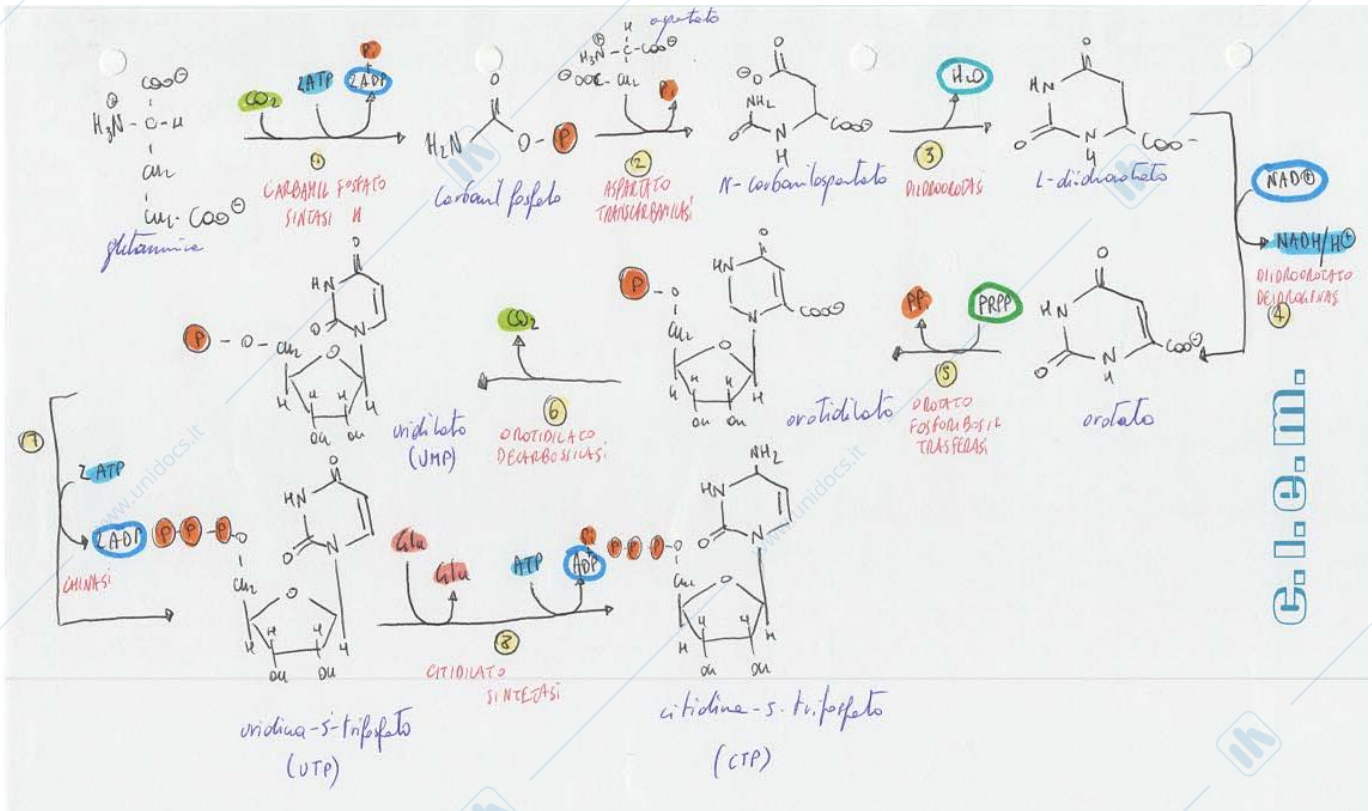


La sintesi delle purine è regolata per via metabolica in diversi punti:

- AMP inibisce la *PRPP sintetas*;
- AMP, GMP, IMP inibiscono allostericamente la *glutammil ammidotrasferasi*;
- AMP inibisce la *adenilossuccinato sintetas*;
- GMP inibisce la *IMP deidrogenasi*.

Diversi enzimi che sintetizzano le purine sono i target di molti farmaci tra cui i sulfamidici (inibitori della sintesi dell'acido folico batterico) e il metotressato (inibitore della diidrofolic reduttasi): entrambi hanno come target enzimi che sintetizzano o sfruttano l'acido folico. I folati sono fondamentali nel processo di sintesi delle purine perché sono in grado di inserire i gruppi formilici all'interno dello scheletro carbonioso.

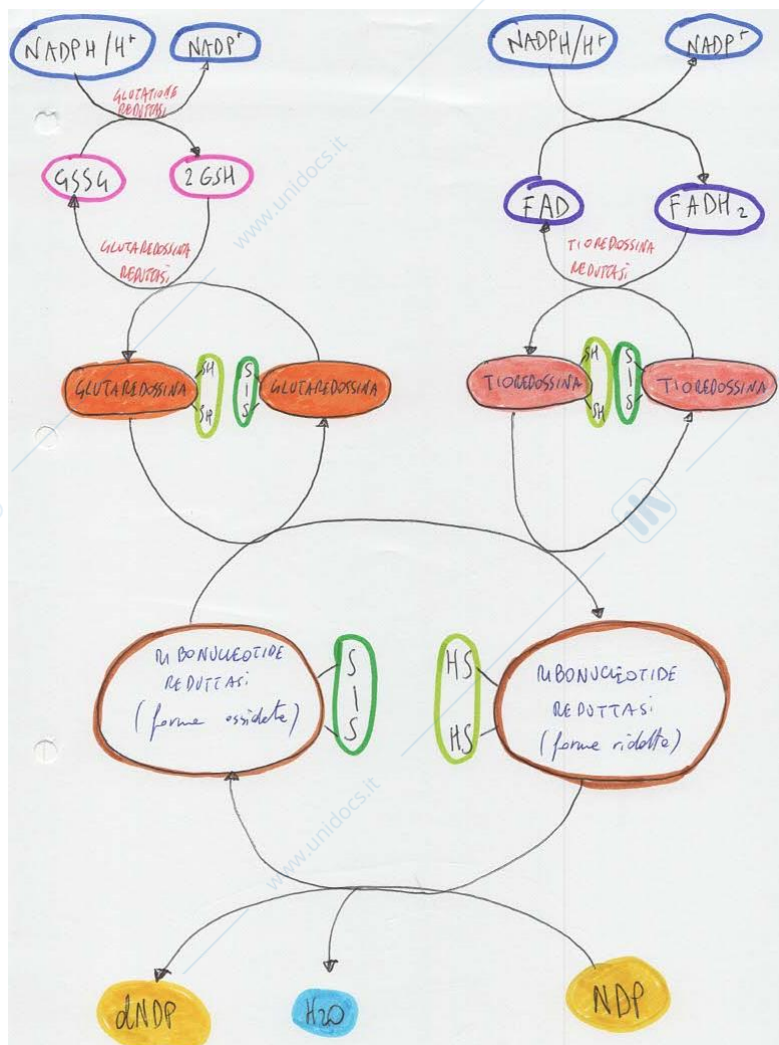
La sintesi delle pirimidine prevede invece di partire da un altro intermedio di reazione, il **carbamil fosfato**, ottenuto per reazione dell'ATP con glutammia e CO₂.



Riduzione di ribonucleotidi a deossiribonucleotidi

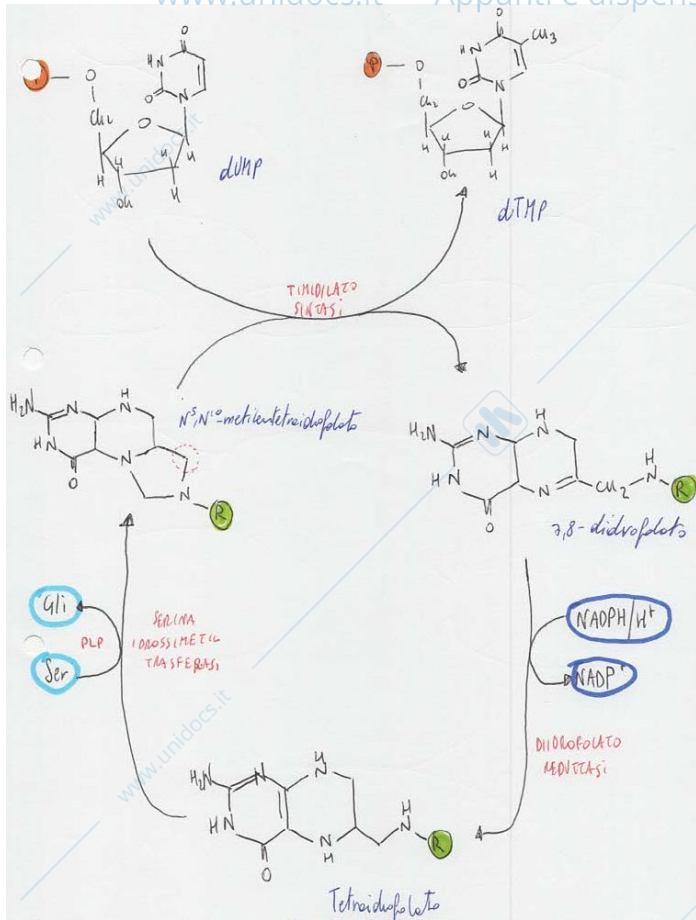
Mentre i ribonucleotidi possono intervenire a livello dell'RNA, non costituiscono lo scheletro del DNA: occorre operare una riduzione calibrata in posizione 2'.

L'enzima che opera questo processo è la **ribonucleotide reduttasi** sfruttando reazioni di ossidoriduzione di coppie di enzimi e trasportatori di elettroni a monte della reazione finale.



www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari



Sintesi della timidina

La timidina è assemblata a partire da dUMP sfruttando come intermedi di reazione i folati.

Le cellule mammifere non sanno produrre autonomamente il folato che deve essere quindi introdotto con la dieta

Degradazione delle pirimidine e delle purine

Le purine (adenina e guanina) seguono due distinti percorsi per la degradazione che convergono in un unico prodotto di metabolizzazione che è la xantina. Il prodotto finale della degradazione delle purine è l'acido urico. La mancata escrezione di

acido urico porta a patologie come la gotta.

Le pirimidine vengono invece degradate a dare urea, tuttavia arrivano a degradarsi fino ad un intermedio di reazione comune con il processo di degradazione degli amminoacidi, ovvero la metilmalonil semialdeide: questa entra poi nel ciclo di degradazione degli amminoacidi e verrà degradata a urea.

