

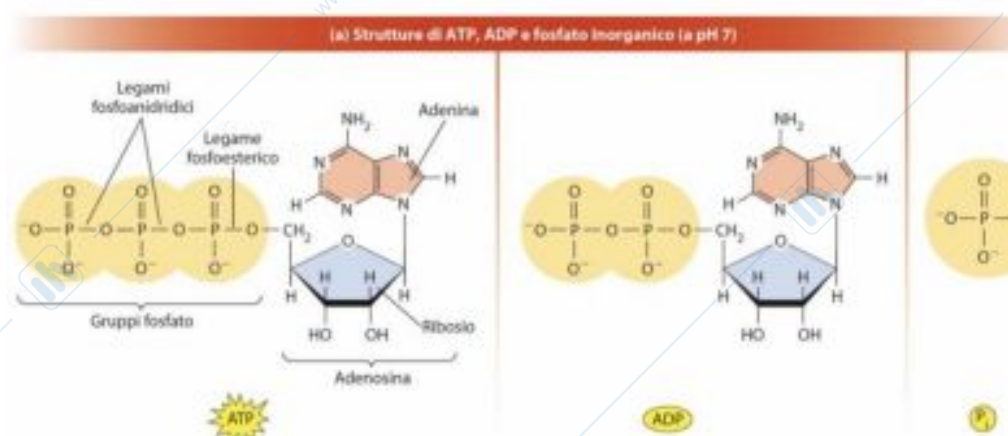
Riprendiamo il discorso sul metabolismo energetico chemioetrofo, ne abbiamo parlato già di ATP. L'energia ricavata dal catabolismo dei nutrienti serve per produrre ATP come molecola di riserva di energia e di questo abbiamo già parlato. Ma importante, sottolineato in questa slide, è che l'**energia** che viene **estratta dalle molecole organiche durante il metabolismo chemiotrofo** può essere anche **immagazzinata sotto forma di coenzimi ridotti** ed è proprio di questo che parliamo oggi.

COENZIMI RIDOTTI

I **coenzimi ridotti** sono **molecole che conservano nel loro interno un potenziale energetico**, appunto come **potenziale riducente** che può essere **sfruttato per far compiere delle reazioni endoergoniche, per far compiere lavoro nelle cellule**.

Allora, concetto che dobbiamo aver chiaro è che, **degradando i nutrienti**, non solo si può costruire ATP e immagazzinarlo, ma **si possono anche costruire coenzimi ridotti da utilizzare poi per compiere lavoro**.

L'ATP è formato da adenosina (adenina + ribosio) più tre gruppi fosfato legato al carbonio 5 dello zucchero ribosio.



OSSIDORIDUZIONE

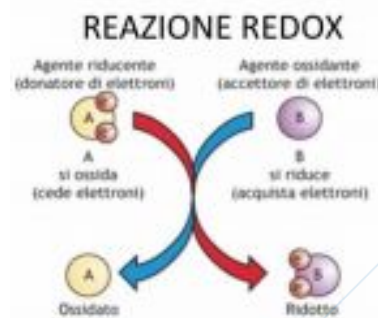
Facciamo un piccolo ripasso di ossidoriduzione, soprattutto di come è combinata una reazione di ossidoriduzione in senso di combinazione di coppie di molecole che partecipano come reagenti e si trasformano in prodotti.

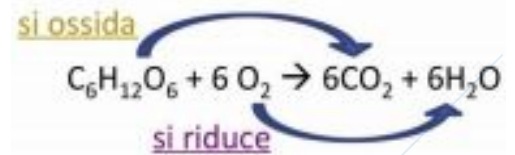
Se guardate sia questa immagine sulla sinistra che

simbolizza la **reazione redox** ma anche la classica

reazione riepilogativa del catabolismo del glucosio,

vedete evidenziati tra i reagenti due molecole che hanno destini redox diversi.





Una molecola di glucosio **si ossida** ad anidride carbonica,

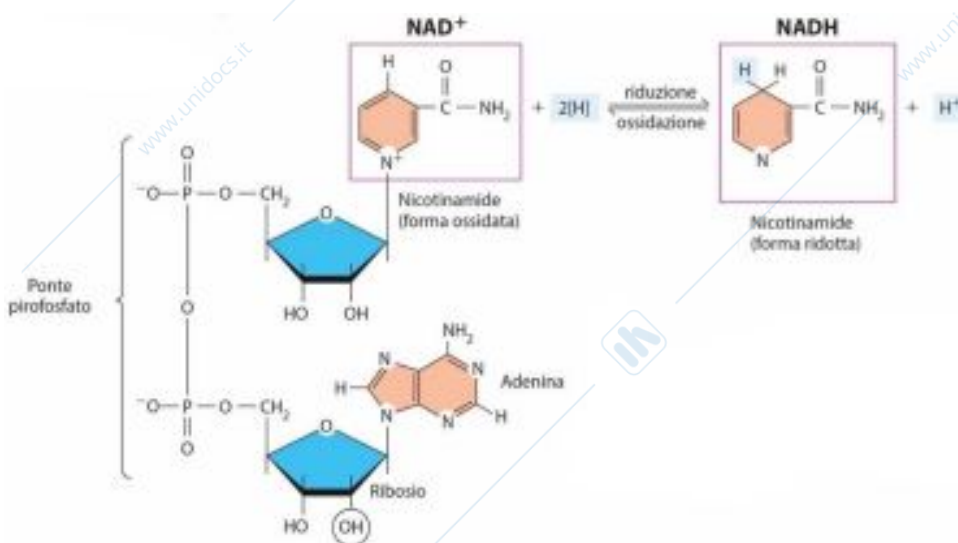
l'altra molecola, l'ossigeno, **si riduce** ad acqua.

Quindi in una redox possiamo individuare delle semi coppie di sostanze che vengono trasformate in modo opposto dalla redox: una si ossida e una si riduce.

In termini di movimento di elettroni questo significa che c'è una **molecola** (chiamiamola reagente A) che, nella sua condizione iniziale, ha degli elettroni che possono essere ceduti e che quindi, trasformandosi in questa reazione, **perde elettroni e quindi si ossida**.

Un'altra **molecola B** è una sostanza che nello stato iniziale della reazione non ha elettroni cedibili, anzi **tende ad acquistare**. Ha delle caratteristiche chimiche per cui facilmente può acquistare elettroni e infatti questa è la molecola che **si riduce** e che prende su di sé gli elettroni ceduti dalla molecola che viene individuata con la lettera A.

E questo è molto importante perché abbiamo detto che **il catabolismo dei nutrienti prevede delle reazioni di ossidazione**, quindi stiamo parlando di redox, catalizzate da enzimi (ricordate enzimi, proteine ecc. che hanno un sito catalitico) che utilizzano per queste redox, come una sorta di aiutanti, dei **coenzimi** che, molto spesso, sono proprio quelle **molecole capaci di entrare nella redox come reagenti e quindi ossidarsi o ridursi a seconda della reazione in corso catalizzata da un certo enzima**. Quindi aggiungiamo questo importante concetto: che nelle reazioni di ossidoriduzione, che avvengono nei processi metabolici, gli elettroni che passano da una specie all'altra possono coinvolgere coenzimi.



Coenzimi come ad esempio **NAD⁺**, che è qui rappresentato, e che, vedete, è una molecola composta da basi, zuccheri ed è un

nicotinammide adenin-dinucleotide. Ma la porzione che più ci interessa per comprendere il fenomeno redox in cui è coinvolto il NAD⁺/NADH

nelle sue forme rispettivamente ossidata e ridotta, è proprio la porzione della nicotinammide, in cui, vedete, l'anello eterociclico può subire una modificazione ossidoriduttiva e, vedete, può legare idrogeno a questo livello, al carbonio opposto nell'anello 6, opposto all'azoto. Quindi il NAD⁺ può essere ridotto a NADH legando un elettrone e un protone. Quindi questo è un po' il riepilogo delle reazioni redox.

REAZIONE CATABOLICA

Un altro concetto importante da aggiungere a questo punto è che nei processi catabolici, e stiamo parlando in particolare di quelli che permettono di estrarre energia dai nutrienti, questa degradazione ossidativa non avviene in modo esplosivo, per così dire, quindi *non si ha una trasformazione del glucosio a CO₂ e Acqua* come si potrebbe avere ad esempio nella combustione, la trasformazione della cellulosa in CO₂ e acqua, ma è **una trasformazione graduale, per step controllati da enzimi**, che hanno il compito di modificare step by step le molecole dal glucosio fino alla CO₂ e all'acqua, in modo tale da riuscire a estrarre, step dopo step, un quanto di *energia che può essere immagazzinato* appunto sotto forma di *ATP*, ma anche come *coenzimi ridotti*, come stiamo sottolineando oggi.

Quindi in queste reazioni ossidative cataboliche non si ha una trasformazione improvvisa che porta a CO₂ e H₂O, ma piuttosto una cascata a salti e in queste immagini viene evidenziato anche il valore di energia libera e ce lo aspettiamo sicuramente che queste **reazioni cataboliche sono reazioni esoergoniche che permettono quindi di compiere un lavoro endoergonico di sintesi di ATP e coenzimi ridotti**.

Quindi vi richiamo il concetto in cui **reazione endoergoniche sono accoppiate a reazioni esoergoniche per riuscire a compiere un lavoro**.

Quindi vedete i salti esoergonici passaggio dopo passaggio che permettono di accumulare energia chimica sotto forma di ATP e di coenzimi ridotti. Capito il senso generale, dal punto di vista bioenergetico, che cosa significa catabolizzare dei nutrienti per poter estrarre energia? Vediamo un esempio classicissimo di catabolismo, quello del glucosio, che tra l'altro è una molecola che permette con massima efficienza l'estrazione di energia dal composto organico di partenza, quindi è diciamo il nutriente principe.

DIFFERENZA TRA CATABOLISMO, ANABOLISMO E METABOLISMO

Sicuramente abbiamo già parlato della differenza tra catabolismo, anabolismo e metabolismo, ma mi è venuto in mente un attimo adesso a causa del mio lapsus precedente. Vi ricordo:

- **catabolismo** è la degradazione, è la **demolizione di un prodotto complesso a molecole derivanti dalla frammentazione che sono più piccole e più semplici** (es. il glucosio dà CO₂ e H₂O), questa è una via catabolica.
- La **via anabolica** è invece quella opposta (ana vuol dire verso l'alto), e quindi è una **via biosintetica che da molecole piccole, più semplici**, come ad esempio CO₂ e H₂O **permette la sintesi** di glucosio, di zuccheri. Pensiamo alla fotosintesi clorofilliana nelle piante.
- **Metabolismo** è invece un termine più generico che **mette l'accento** non tanto sulla demolizione o sulla costruzione, quanto piuttosto **sulla trasformazione**, quindi è un termine con un'accezione neutra.

CATABOLISMO DEL GLUCOSIO

Oggi parliamo di catabolismo perché consideriamo la degradazione del glucosio che, per una massima efficienza di estrazione dell'energia da questo nutriente, deve essere condotta fino ad anidride carbonica e ad acqua. Questa è *un'ossidazione completa* che può verificarsi nelle nostre cellule in presenza di ossigeno con la respirazione cellulare che, passo dopo passo, oggi vedremo e si articola in **glicolisi e ossidazione del piruvato** e nella **catena di trasporto degli elettroni**.

Questo, nelle nostre cellule, può avvenire in presenza di ossigeno proprio perché la catena di trasporto degli elettroni prevede che ci sia l'ossigeno come accettore finale degli elettroni che nelle redox che si susseguono vengono trasportati. Questa **respirazione aerobica** può essere condotta anche da microorganismi che possono essere **aerobi obbligati**, il che significa che, per poter estrarre energia dai nutrienti, come noi, *hanno bisogno di ossigeno* perché se non muoiono, come noi in assenza di ossigeno moriamo (si pensi al soffocamento e all'annegamento). Il soffocamento è una morte che deriva dalla privazione di ossigeno e quindi dall'impossibilità delle cellule di estrarre energia e di compiere quindi lavoro. Altri microorganismi sono degli **aerobi facoltativi**, quindi vuol dire che in assenza di ossigeno se la possono cavare, sfruttando altri percorsi metabolici per estrarre energia dai nutrienti.

Questo è quello che ad esempio fanno anche i batteri che sono anaerobi e che utilizzano invece che l'ossigeno, lo Zolfo H⁺ e lo ione ferrico +3 come accettori di elettroni.

Anche questi **anaerobi** possono o vivere **obbligatoriamente** in assenza di ossigeno, quindi sono quelli che in presenza di ossigeno muoiono, contrariamente a noi. Oppure altri tipi di microorganismi possono essere **anaerobi facoltativi**, quindi preferire delle

condizioni in assenza di ossigeno, ma sfruttare percorsi metabolici diversi che permettono loro la sopravvivenza anche in presenza di ossigeno.

Quindi vedete in realtà nell'evoluzione non c'è stata una "scelta" univoca del catabolismo energetico. Diverse specie si sono evolute in modo da sfruttare percorsi catabolici diversi per accumulare energia.

GLICOLISI

Adesso partiamo dalla **glicolisi** che è un processo che **si svolge nel citoplasma** per il quale **non è necessario ossigeno**. È una tappa precoce per il catabolismo dei nutrienti che avviene in assenza di ossigeno, nel senso che l'ossigeno non partecipa quindi la sua assenza o presenza è ininfluenza. In questo processo di glicolisi, tanto per riassumerlo all'osso in questo schema riepilogativo, il glucosio inizia il suo percorso in questa via catabolica ossidativa, quindi viene ossidato in più tappe catalizzate da enzimi che adesso vedremo.

La glicolisi quindi **parte con il glucosio e termina con la produzione di piruvato**.

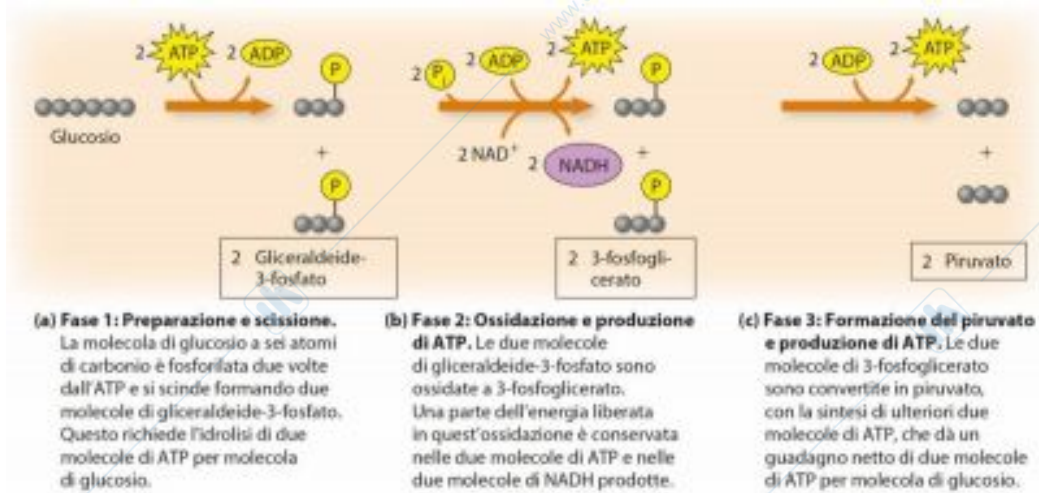
In questo passaggio dal glucosio al piruvato si ha un **guadagno energetico netto di 2 molecole di ATP e 2 molecole di coenzima ridotto NADH**.

Allora vediamo prima concettualmente poi con qualche dettaglio in più il processo di glicolisi.

Allora già vi dico che per questi processi e per i successivi compresa anche la fotosintesi clorofilliana, nel Becker giustamente vengono inseriti vari dettagli biochimici, nel senso che vengono mostrate nelle figure successive le formule di struttura dei composti che vengono modificati in modo da poter proprio vedere e anche capire in modo più pieno dove avviene la fosforilazione, la carbossilazione, quando un gruppo aldeidico passa a carbossilico... Però questo non ve lo chiederò all'esame perché questa è competenza del docente di biochimica quando arriverete a quell'insegnamento. Però in fase di studio date un'occhiata alle formule di struttura anche per capire cosa succede ad una molecola, poi se non le memorizzate o non riuscite a riscriverle per ora non importa, non è questo che chiedo.

Tant'è che apro questa trattazione della glicolisi, come pure fa il Becker, sottolineando in modo concettuale cosa avviene nella glicolisi ossia che il **glucosio**, che è un **composto organico a 6 atomi di Carbonio**, viene prima **frammentato in 2 molecole da 3 atomi di C ciascuna e cioè in 2 molecole di gliceraldeide-3-fosfato**. L'altra cosa importante da sottolineare è che **per questa trasformazione si spende energia**.

Iniziamo male, dovevamo accumularla ATP e qui invece iniziamo a spendere energia. E invece serve proprio spendere energia, spendere 2 molecole di ATP per ogni molecola di glucosio, per formare più intermedi reattivi che permettono dei passaggi esoergonici accoppiati con le reazioni endoergoniche di sintesi di ATP e di coenzima ridotto NADH.



Quindi da 2 molecole di gliceraldeide-3-fosfato vengono formate 2 molecole di 3-fosfoglicerato, con produzione di 2 ATP e 2 NADH.

Per ciascuna molecola di 3-fosfoglicerato si potrà avere un'ulteriore produzione di ATP passando a 2 molecole di piruvato, una per ogni molecola di 3-fosfoglicerato che era stata prodotta prima.

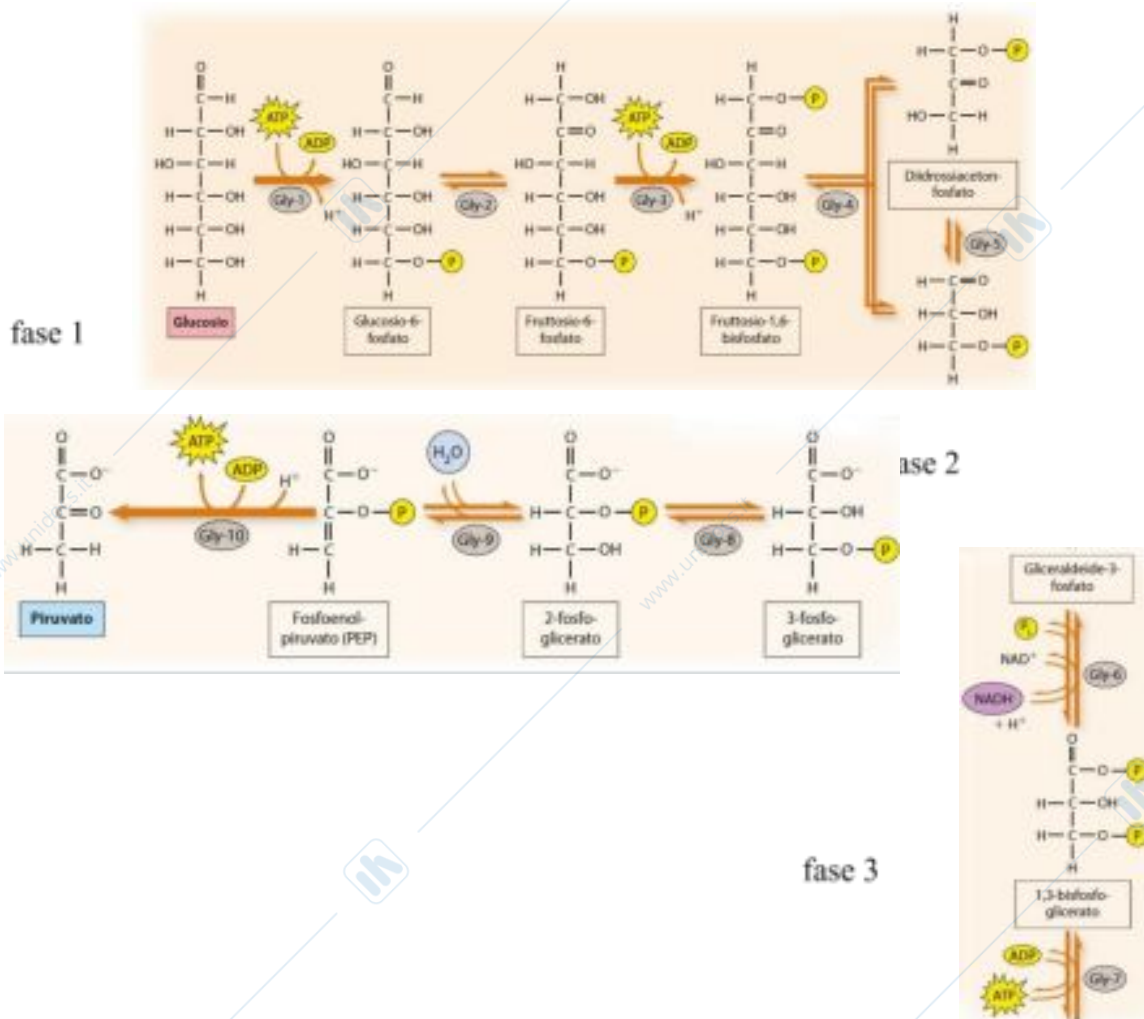
Partiamo dal glucosio che qui viene rappresentato nella sua forma aperta con la funzione aldeidica. Viene utilizzata ATP per eseguire una fosforilazione, poi c'è una moltiplicazione dell'isomeria della molecola, ma rimane la fosforilazione che era stata eseguita grazie alla spesa di ATP.

Quello che succede poi nello step seguente è di nuovo un'altra fosforilazione, e adesso forse capiamo meglio perché dalla molecola di glucosio con 2 molecole di ATP che erano due punti di fosforilazione distinti, si può avere poi la scissione e la formazione di 2 molecole di gliceraldeide-3-fosfato per ogni glucosio. Allora capiamo che questo *fosfato deriva dall'ATP* e capiamo che continua ad esserci una funzione aldeidica come c'era nel glucosio, quindi questo vuol dire che non c'è stata ancora ossidoriduzione.

Infatti lo **step redox** è quello successivo, quello cioè in cui la **funzione aldeidica viene trasformata in funzione carbossilica e viene ossidata**. Per un aldeide che viene ossidato ad acido carbossilico c'è un coenzima NAD^+ che viene ridotto. Ci torna come accoppiamento di reazioni redox.

Quindi questo 1,3-difosfoglicerato era una di quelle molecole la cui idrolisi del gruppo fosfato è fortemente esoergonica, cioè dà un'energia libera maggiore di quanta ne viene richiesta per sintetizzare un ATP. Ricordate il discorso che ADP può servire da accettore di fosfato in altre reazioni da parte di composti più in alto nella tabella. Quindi questa coppia, 1,3-difosfoglicerato e $\text{ADP} + \text{fosfato inorganico}$ son proprio le coppie che troviamo nella glicolisi e anche qui ci torna il discorso che la defosforilazione di questo composto permette la fosforilazione dell'ATP.

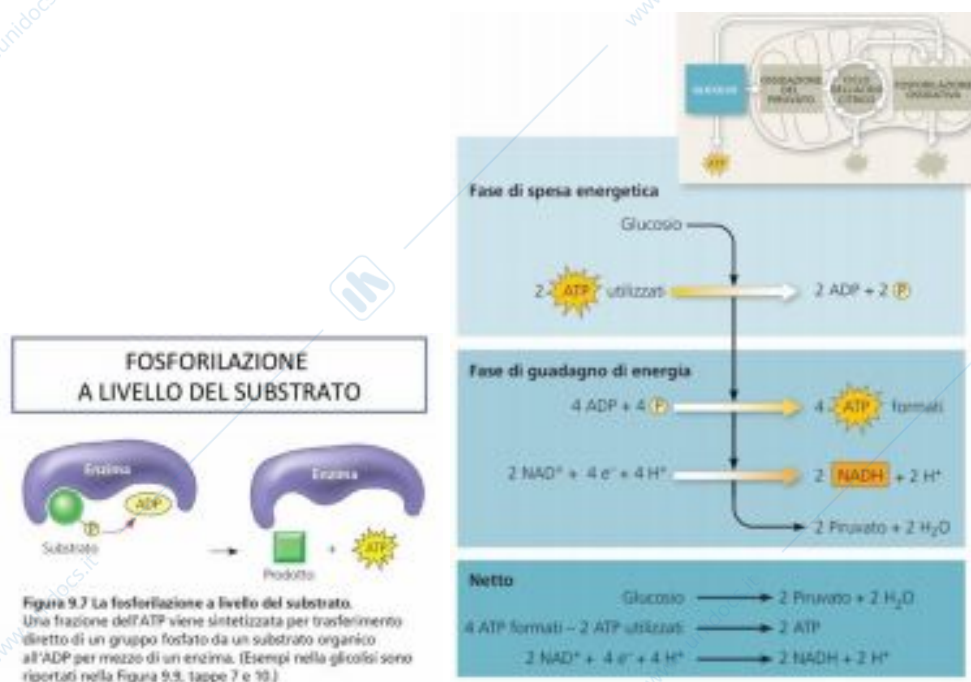
FOSFORILAZIONE A LIVELLO DEL SUBSTRATO



Si ha proprio in questi passaggi precedenti dove ATP fosforila i substrati organici e poi questa fosforilazione serve per sintetizzare del nuovo ATP.

Alla slide successiva c'è un'immagine che rende piuttosto chiaro questo concetto e cioè l'1,3-difosfoglicerato che è simbolicamente rappresentato da questa sfera verde in cui viene messo in evidenza che c'è un gruppo fosfato legato a questa molecola e che questo gruppo fosfato, grazie alla catalisi di un enzima, può essere trasferito all'ATP. Quindi questo è il **processo di fosforilazione a livello del substrato** che si verifica nella glicolisi, ma anche, vedremo poi, nel **Ciclo di Krebs**.

E allora poi, nei passaggi successivi vedrete che, grazie alla catalisi di enzimi che si susseguono nel modificare i composti, si mantiene comunque un substrato organico a 3 atomi di Carbonio e con l'ultimo passaggio è possibile ottenere il piruvato che è il prodotto ultimo della glicolisi, come è rappresentato qua in questo schema più concettuale. Quindi arriviamo ad avere 2 molecole di piruvato per ogni glucosio che viene demolito.



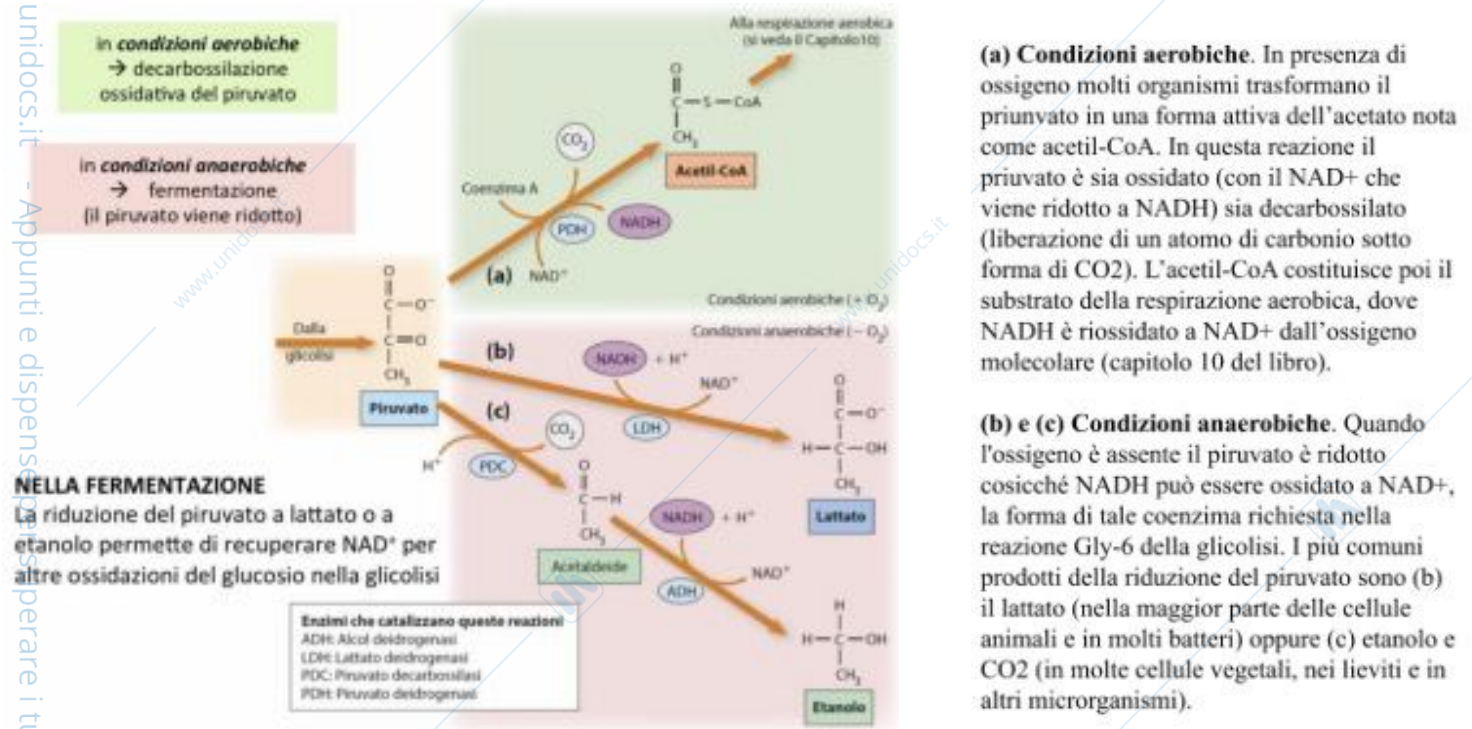
Un ultimo schema che riassume l'aspetto energetico della glicolisi e cioè che il glucosio viene trasformato a piruvato in un processo complessivamente esoergonico, anche se alcune tappe della trasformazione di questi composti organici sono endoergonici, ad esempio quelli in cui si spende inizialmente ATP per formare intermedi reattivi che poi permettono al processo di proseguire esoergonicamente.

Il *catabolismo ossidativo esoergonico del glucosio* permette il verificarsi di **reazioni endoergoniche** che consentono di **accumulare energia sotto forma di ATP e coenzima ridotto NADH**.

Se consideriamo la spesa iniziale di 2 ATP, la produzione di 4 ATP finali e la produzione netta dei 2 NADH, abbiamo un bilancio complessivo di 2 molecole di ATP e 2 molecole di NADH, come era scritto qua. Quindi il netto significa che viene considerata la **spesa dei 2 ATP iniziali** da sottrarre al **guadagno dei 4 ATP** di questa fase. Questa reazione della glicolisi avviene nel citosol, mi preme ricordarvelo, perché tra poco parleremo della restante parte del catabolismo del piruvato, che invece avverrà all'interno del mitocondrio, ma ancora siamo nel citosol e ancora di ossigeno non abbiamo parlato.

FERMENTAZIONE

Prima però di andare avanti e di valutare l'ossidazione del piruvato, come è scritto in questo schema, soffermiamoci un attimo sul **processo di fermentazione**, che è un **processo che permette la trasformazione del piruvato in assenza di ossigeno secondo percorsi catabolici**, qua rappresentati, **che prevedono la riduzione del piruvato**.



D'altra parte il **piruvato può anche seguire un altro percorso**, e questo avviene **quando** nell'ambiente è **disponibile ossigeno**. In tal caso il piruvato non viene ridotto come avviene invece nella fermentazione, ma **viene ossidato**.

Quindi queste due zone colorate in **rosa** e in **verde** ci permettono di distinguere due ambienti diversi: assenza di ossigeno, presenza di ossigeno, perché si svolgono due percorsi catabolici diversi del piruvato.

Quello in presenza di ossigeno lo discuteremo dopo perché è quello che ci porta alla respirazione cellulare, quella che avviene nelle nostre cellule.

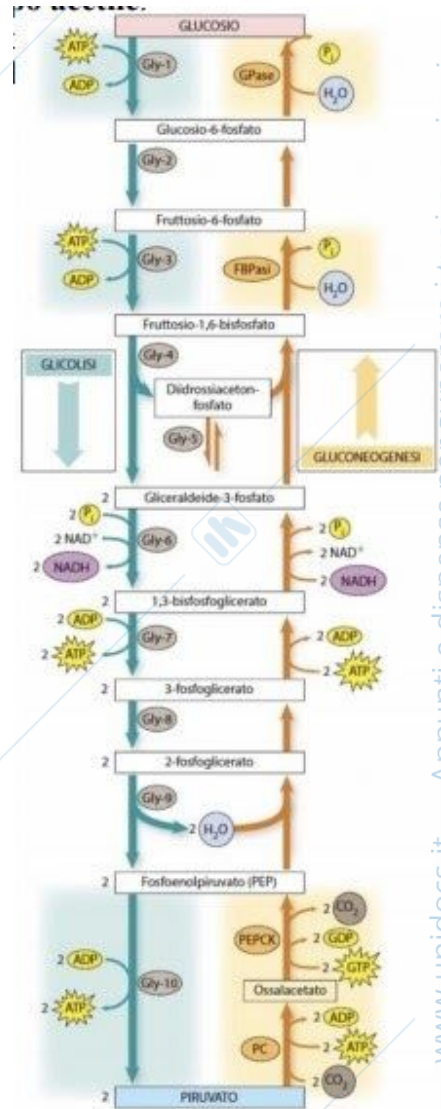
In questa parentesi in cui parliamo di fermentazione ci dobbiamo occupare della zona rosa, quella in cui i processi avvengono in assenza di ossigeno e in cui il **piruvato** viene **ridotto**, e può essere ridotto, a seconda dell'enzima che lo utilizza come substrato, a **lattato**, e questa è la **fermentazione lattica**: nei formaggi, nello yogurt ma anche dentro i muscoli quando lo sforzo muscolare è alto e con la respirazione polmonare non si fornisce abbastanza ossigeno perché i muscoli riescano a sfruttare l'energia prodotta dalla respirazione cellulare. Quindi è una forma di **carenza di ossigeno** anche se comunque continua ad esserci la respirazione polmonare. In queste condizioni, la fermentazione lattica, che avviene nel tessuto muscolare, **produce lattato**, il famoso

acido lattico, e apparentemente *non è utile dal punto di vista energetico* perché non vediamo nessuna molecola di ATP che viene sintetizzata, però attenzione perché in quella trasformazione del piruvato in lattato, viene prodotto NAD^+ . NAD^+ può essere a ritroso utilizzato nella glicolisi che comunque è un processo che produce ATP ed anche NADH, *poco però un po' ne produce*. D'altra parte nel processo glicolitico questo NAD^+ che permette di fare NADH non è infinito, quindi un percorso metabolico che rifornisca la glicolisi di NAD^+ è **comunque utile**, è comunque importante. Quindi la trasformazione di piruvato in lattato che avviene nel nostro muscolo ha lo scopo di fornire ai muscoli di NAD^+ per il processo glicolitico.

D'altra parte la **fermentazione** può essere anche **alcolica** ed è quella che prevede la **riduzione del piruvato fino ad etanolo** ed è una riduzione in cui il piruvato viene decarbossilato. Infatti il piruvato ha 3 atomi di carbonio, l'alcol etilico ha 2 atomi di carbonio, quindi da qualche parte un carbonio deve essere stato tagliato via e infatti eccolo qua! La decarbossilazione del piruvato permetta la liberazione di anidride carbonica che è quella che ritroviamo nel pane lievitato, le bolle nella mollica del pane lievitato, nella birra anche. Infatti il **Saccharomyces Cerevisiae** è uno dei microorganismi che utilizza piruvato per dar luogo a un processo di fermentazione. Ho bypassato la didascalia di questo specchietto, comunque ci torniamo un attimo, tanto per mettere ancora in evidenza che il piruvato nella fermentazione sia lattica che alcolica viene ridotto e in entrambi i casi viene formato NAD^+ che rifornisce la via glicolitica. Nella fermentazione alcolica oltre a NAD^+ si forma anche anidride carbonica.

A questo punto quindi dobbiamo occuparci dell'altra via di trasformazione del piruvato, quella cioè che avviene in presenza di ossigeno. In queste condizioni, il piruvato non è substrato degli enzimi prima citati che lo riducono, ma di altri complessi enzimatici che adesso vedremo più in dettaglio che lo ossidano. Infatti in questo percorso il piruvato subisce una **decarbossilazione ossidativa** perché il piruvato viene trasformato in un composto, il gruppo acetile, che è ossidato rispetto al piruvato, quindi vuol dire che una coppia NAD^+ NADH è stata parallelamente trasformata.

Quindi NAD^+ si riduce a NADH e il piruvato si ossida a gruppo acetile. Prima di analizzare nel dettaglio questa trasformazione vorrei soltanto mettere l'accento su un aspetto, senza che voi vi diate tanta pena di imparare tutti gli enzimi che catalizzano queste trasformazioni. Vorrei mettere l'accento sul fatto che nelle nostre cellule è possibile sia un processo di glicolisi come abbiamo visto ora, ma anche un processo di gluconeogenesi, cioè permette la sintesi di glucosio. E allora dobbiamo capire un aspetto bioenergetico importante perché



ci convince il fatto che la **glicolisi sia esoergonica**, perché abbiamo detto che è **una demolizione del glucosio**, il processo è nel suo complesso esoergonico e in particolare questi passaggi che vengono evidenziati con questa macchia celeste, sono quelli più esoergonici di tutti, cioè a livello dei quali, con una catalisi enzimatica di senso opposto, non si può invertire la direzione della trasformazione. Quindi nel complesso **il processo avviene in modo spontaneo**, e spontaneo significa che il bilancio delle reazioni accoppiate, comprese quelle in cui si spende energia per far andare avanti il processo è favorevole, è esoergonico, è verso la spontaneità. E allora ci potremmo domandare: ma com'è che il processo opposto, quello di sintesi, comunque può avvenire con un bilancio complessivo di spontaneità?

Cioè come una sintesi può essere spontanea?

Può esserlo perché non dobbiamo pensare al bilancio energetico delle singole trasformazioni dei composti organici, ma *dobbiamo pensare al complesso delle reazioni accoppiate*, cioè dobbiamo

mettere insieme reazioni in cui si demolisce ATP accoppiate con reazioni di sintesi e considerare il bilancio energetico totale.

Quindi nel processo di gluconeogenesi, visto che viene idrolizzato tanto ATP, l'accoppiamento di questo processo esoergonico di demolizione dell'ATP e di quelli endoergonici di sintesi è comunque favorevole, permette che il processo avvenga spontaneamente. Ma **attenzione: alcuni**

passaggi, quelli più esoergonici della glicolisi, sono catalizzati nella gluconeogenesi da enzimi diversi. E qui sta il trucco perché sennò non ci tornerebbero i conti. Quindi il processo opposto alla glicolisi, cioè la gluconeogenesi, può avvenire spontaneamente grazie alla catalisi di enzimi diversi nei passaggi critici e alla spesa di ATP e allora tornano i conti energetici, altrimenti la cellula potrebbe solo demolire. Se non fosse in grado di eseguire processi di sintesi non costruirebbe niente, e invece ovviamente la cellula costruisce. Lo fa spendendo ATP, e il bilancio energetico delle reazioni accoppiate è favorevole, è spontaneo.

A questo punto dobbiamo iniziare a parlare della **seconda parte del catabolismo energetico chemiotrofo, quello cioè che origina dal piruvato che viene decarbossilato e ossidato fino a dare CO₂ ed acqua.**

Nell'ossidazione del piruvato in CO₂ ed acqua vengono distinte delle tappe, caratterizzate da passaggi ben precisi e la prima è quella della **produzione di acetil-coenzima A, da piruvato ad acetil-coenzima A**, poi come ricordate dagli studi precedenti, il **ciclo degli acidi tricarbossilici**, noto anche come **ciclo di Krebs** o dell'**acido citrico**, che permette la liberazione di quella CO₂ che nella reazione complessiva vediamo come prodotto finale del catabolismo del glucosio che viene ossidato a CO₂ e acqua, avviene qua a livello del ciclo degli acidi tricarbossilici, e infine gli ultimi due punti fanno parte più o meno dello stesso argomento, ciò che avviene a livello della cresta mitocondriale cioè la **catena di trasporto degli elettroni** che permette di legare gli elettroni all'ossigeno come accettore finale, e quindi l'ossigeno che viene ridotto da acqua, e poi alla fine la **sintesi di ATP ad alta resa**, ben più alta di quella che si ha con la glicolisi.

E allora contestualizziamo questi processi, perché fino a adesso abbiamo parlato di glicolisi, che avviene nel citosol, dove il glucosio che deriva dai nutrienti che in un

organismo pluricellulare vengono assorbiti a livello del sistema digerente, gastrointestinale e trasportati alle varie cellule, iniziano la loro trasformazione.

Questa figura vi ricorda anche il doppio percorso metabolico

del piruvato verso etanolo o lattato in caso di fermentazione,

in assenza di ossigeno, e questo è il percorso di riduzione piruvato. L'altro percorso è quello verso il mitocondrio, verso

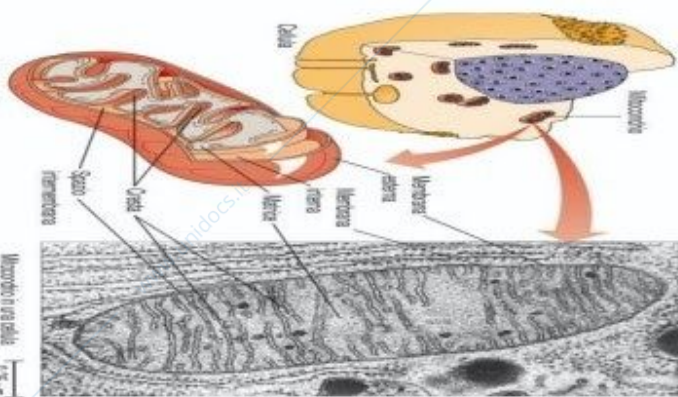
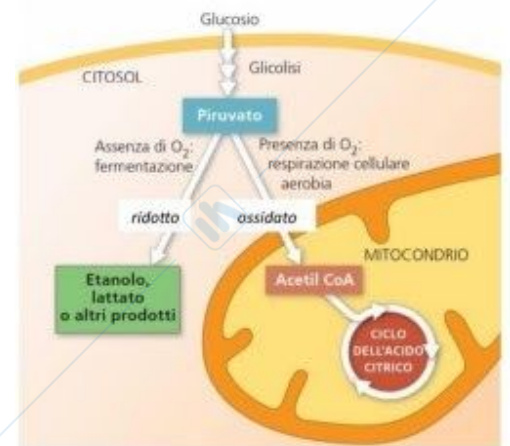
la respirazione cellulare in cui il piruvato viene ossidato.

Di questo aspetto abbiamo già parlato, della respirazione aerobia in cui l'accettore finale è l'ossigeno, quella che utilizzano le nostre cellule. Nella respirazione anaerobia,

altri percorsi metabolici fanno sì che esistano altri accettori finali di gli elettroni, per avere una produzione di ATP, che

possono essere lo Zolfo elementare, i protoni oppure lo ione ferrico. Ma torniamo alla cellula animale, poi faremo dei passaggi che ci fanno capire bene il metabolismo nella cellula vegetale, però intanto sappiamo già che **la respirazione cellulare**

avviene nel mitocondrio, che è un organello che ha le dimensioni di alcune unità di micron e che **è presente sia nelle cellule animali che nelle cellule vegetali e nei funghi**, e dove viene prodotta ATP per mezzo di una respirazione cellulare che **utilizza imprescindibilmente l'ossigeno.**



Il mitocondrio ha una forma che spesso viene rappresentata come una specie di fagiolo, con una forma un po' allungata. In realtà le forme dei mitocondri possono essere varie, poi vedremo che formano delle vere e proprie reti, quindi per semplicità di rappresentazione, spesso viene mostrato così che d'altra parte è uno degli aspetti che realmente

assume se consideriamo questa fotografia al microscopio elettronico.

E allora vediamo le **creste mitocondriali** che sono delle **invaginazioni della membrana mitocondriale interna**, una sostanza gelatinosa (nel cui interno la matrice), e vediamo anche che nella cellula è a stretto contatto con dei comparti che richiedono energia. Ad esempio, vedete che qui c'è il reticolo endoplasmatico rugoso, e questo ci torna d'accordo perché la sintesi proteica richiede molta energia, e quindi l'ATP sintetizzato dentro il mitocondrio, molto velocemente, senza percorrere tanta strada, arriva subito là dove serve, cioè ai ribosomi, ma non solo ovviamente. Per i **mitocondri si parla di semi autonomia**, e questo significa che il mitocondrio

può autogestirsi ma solo in parte. Lo fa perché **possiede un DNA circolare** che codifica per vari RNA, ad esempio degli enzimi che vengono coinvolti nella catena respiratoria. Quindi può produrre tRNA, rRNA e mRNA ma, perché questo avvenga, serve un **aiuto** da parte dell'esterno del mitocondrio,

ovvero **da parte del citosol**, e questo aiuto consiste sia nel rifornimento di amminoacidi ma anche di proteine che servono

per la biosintesi dei vari RNA, quindi le RNA polimerasi che sono codificate dall'RNA genomico. Quindi questa autonomia

nel produrre ciò che serve nella respirazione cellulare non è totale, ha bisogno comunque sia dell'informazione genetica del DNA nucleare sia di proteine prodotte dai ribosomi della cellula, nel citosol intendo, che possono essere trasferite all'interno del mitocondrio.

Quindi **il genoma mitocondriale è un DNA che ci ricorda quello dei batteri.** Per la verità l'intero mitocondrio ricorda un procariota e a proposito del DNA, non è solo un DNA circolare, ma ha anche delle caratteristiche di sequenza, ad esempio un alto contenuto di C e G, che ce lo fa assimilare molto a quello lì dei procarioti.

Inoltre, come il DNA procariotico non ha proteine istoniche che lo avvolgono in modo complesso o estremamente ordinato com'è il DNA lineare nucleare, e poi anche nella replicazione del

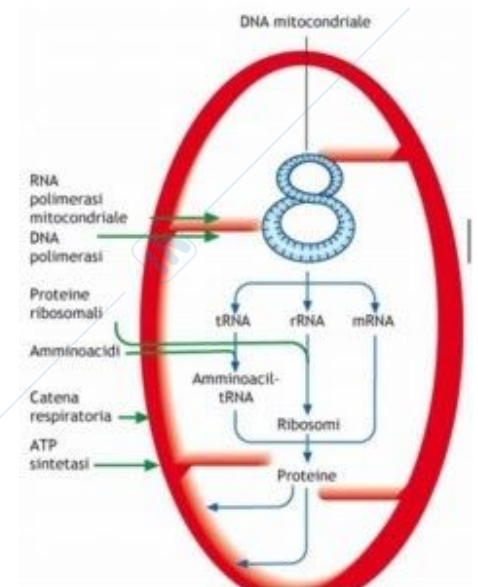
DNA mitocondriale ci sono alcune analogie con il metodo di replicazione dei batteri. In particolare nel DNA mitocondriale, viene sintetizzata prima una catena, la l chain, quindi la light chain.

Comunque tanto per dire che veramente **tra batterio e mitocondrio il passo è breve** e questo ce lo possiamo spiegare sulla base della

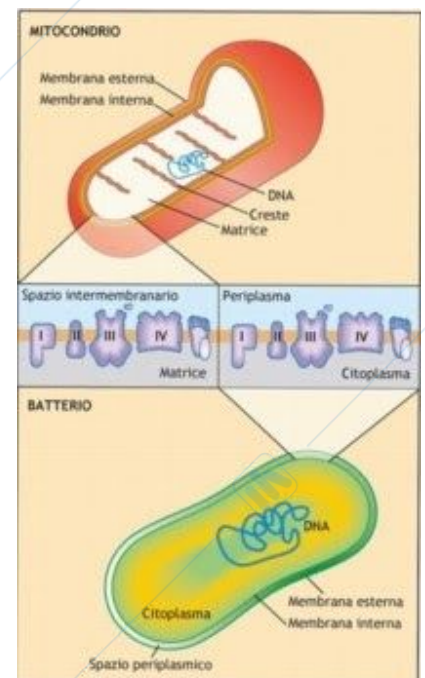
teoria endosimbiontica, di cui mi sembra già abbiamo parlato, in cui si suppone che dei procarioti originariamente capaci di seguire

un catabolismo aerobio ad alta resa, siano stati inglobati da dei protoeucarioti cioè delle cellule già dotate di nucleo e di organuli,

ma ancora non capaci di eseguire questo catabolismo aerobio ad alta resa che è stato fornito, scambiato in una condizione di iniziale simbiosi, da questi batteri che hanno trovato ospitalità, protezione e



Schema che mostra le principali attività che si svolgono all'interno del mitocondrio.



nutrimento all'interno della cellula protoeucariote, e hanno dato in cambio la capacità di eseguire un catabolismo aerobio dei composti organici.

Questo processo di endosimbiosi può essere anche esteso alla presenza dei cloroplasti nelle cellule vegetali, che può essere spiegata con un analogo meccanismo in cui i cianobatteri sono stati inglobati in questi protoeucarioti dotati già di quelli che adesso sono i mitocondri, e questi cianobatteri hanno dato un gep evolutivo enorme a queste cellule, fornendo il macchinario biosintetico che permette la fotosintesi clorofilliana.

Quindi questa è la storia di come si pensa si sia evoluta la cellula vegetale, capace di eseguire la sintesi clorofilliana e al contempo di catabolizzare i substrati organici con una ossidazione che utilizza l'ossigeno, quindi un'ossidazione aerobia. Per

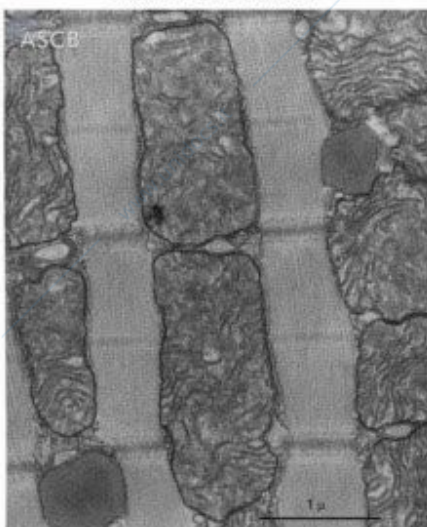
concludere il discorso sui **mitocondri** possiamo aggiungere che, come vi accennavo, si **sono localizzati laddove più c'è bisogno di ATP**, ad esempio nel muscolo cardiaco striato che consuma una quantità enorme di ATP col suo lavoro incessante, si alternano proprio le fibre muscolari e i mitocondri. D'altra parte altre cellule che **consumano molta energia** sono le cellule mobili come ad esempio gli **spermatozoi nei quali i mitocondri non hanno** questa forma allungata a bastoncino corto, ma a spirale tutto intorno il citoscheletro della coda dello spermatozoo, che è quella che deve, utilizzando ATP, muoversi in virtù di movimenti reciproci di cordoni, microtubuli, che scorrono gli uni sugli altri, e questo può avvenire perché ci sono delle proteine motrici tra fasci di microtubuli che appunto, utilizzando ATP, cambiano conformazione e quindi tirano questo sistema di microtubuli che imprime questo movimento ondulare alla coda degli spermatozoi, ma questo avviene anche in altre cellule mobili anche procariotiche.

Quindi **i mitocondri non hanno solo quella forma tozza**, ma possono avere forme varie che grazie all'avvolgimento attorno al citoscheletro li porta a formare una vera e propria rete interconnessa tra **mitocondri che porta l'energia laddove serve all'interno della cellula.**

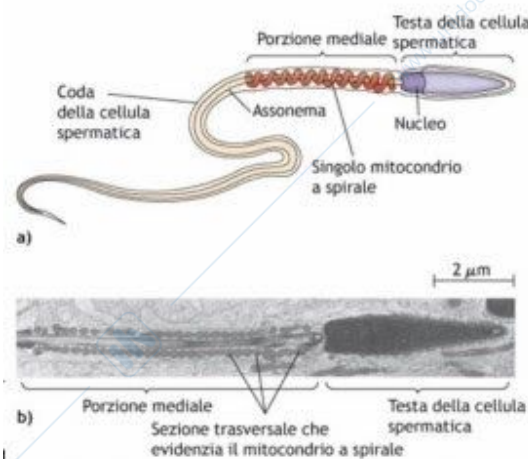
STRUTTURA DEL MITOCONDRIO

C'è una **membrana mitocondriale esterna** che è **molto permeabile**, addirittura **ci sono dei pori**, non delle proteine canale, proprio grandi strutture dei pori, vuol dire che sono complessi proteici che delimitano un grande canale attraverso il quale **possono passare molecole di grandi dimensioni**, quindi non è una membrana selettivamente permeabile, caratteristica che invece possiamo attribuire alla **membrana mitocondriale interna** che è una vera e propria **membrana impermeabile alle tante molecole che transitano tra citoplasma e spazio intermembrana**. A livello della membrana mitocondriale interna troviamo delle estroflessioni che aumentano

Cellule muscolari: mitocondri numerosi e diffusi



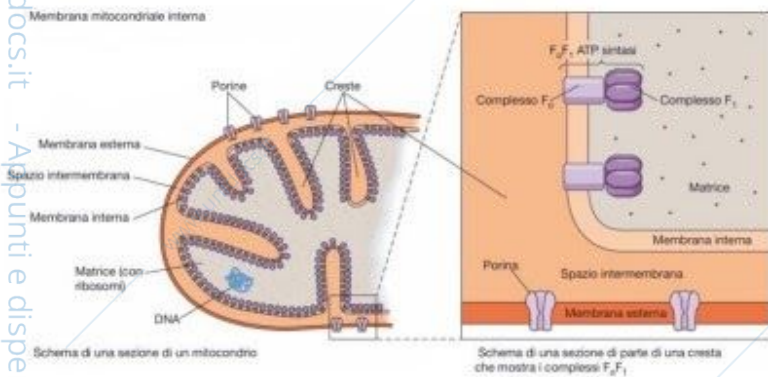
Spermatozoi: serie di mitocondri avvolti a spirale lungo l'assonema



Mitocondrio all'interno di uno spermatozoo. Nella porzione mediale di uno spermatozoo, un singolo mitocondrio può essere strettamente associato all'assonema avvolgendosi a spirale. **(a)** Rappresentazione schematica di uno spermatozoo. **(b)** Micrografia elettronica della testa e di parte della porzione mediana di uno spermatozoo di marmotta.

tantissimo la superficie della membrana interna, che in virtù di questa superficie aumentata può ospitare i complessi enzimatici per la catena di trasporto degli elettroni e anche i complessi proteici che permettono la sintesi dell'ATP. **Racchiusa dalla membrana mitocondriale interna c'è la matrice mitocondriale** che è una **sostanza gelatinosa** con un'alta concentrazione di **proteine** nella quale è localizzato il **DNA**

mitocondriale e nella quale sono presenti anche i **ribosomi**, quindi ricordiamo questa struttura dei mitocondri molto simile a quella dei procarioti nei quali sono presenti i ribosomi, come nei procarioti anche negli eucarioti essi sono presenti. Parlando del processo del catabolismo ossidativo dei substrati organici **le parti più importanti del mitocondrio sono la membrana interna, le creste mitocondriali e la matrice**, sono i comparti **dove si verifica la maggior parte delle reazioni**. Ma vedremo anche l'esistenza di uno spazio intermembrana, soprattutto a livello della cresta, è un comparto di straordinaria importanza che è fondamentale per il processo di sintesi dell'ATP.



MEMBRANA ESTERNA:

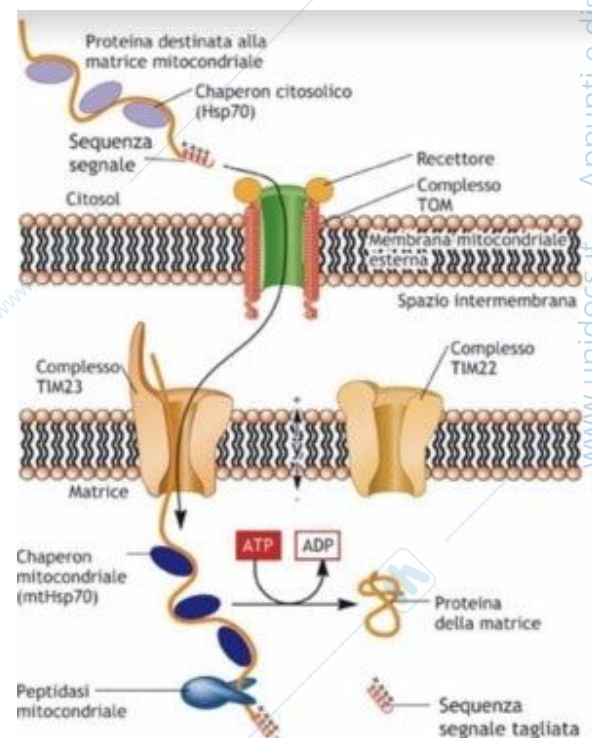
- liscia
- provvista di canali (proteine) per l'importazione di proteine e fosfolipidi dal citosol

MEMBRANA INTERNA:

- vera **barriera impermeabile** a ioni e piccole molecole
- **complessi per il trasporto di elettroni e Fo/F1**
- **creste mitocondriali lamelli e tubulari** aumento della superficie e formazione di una terza regione mitocondriale grazie alle giunzioni di cresta

Quest'ultima slide vi ricorda come una **proteina può passare dal citosol dentro il mitocondrio**. Vi ricordo che a causa della semi autonomia del mitocondrio è indispensabile che **molecole di grandi dimensioni sintetizzate nel citosol possano essere localizzate invece dentro il mitocondrio**.

Allora abbiamo parlato di meccanismi di attraversamento della membrana ma qui si tratta proprio di un passaggio attraverso dei pori, più che altro dei **traslocatori della membrana mitocondriale esterna** "outer membran", quindi questo è il TOM, e questo è il traslocatore della membrana mitocondriale interna e quindi è "inner membran" TIM (la i sta per inner e la o per outer). Considerate che perché questo processo avvenga è necessario un aiuto da parte di proteine chaperon, cioè delle assistenti che srotolano la struttura terziaria della proteina e la infilano dentro questo traslocatore e altre proteine chaperon poi provvedono a tirarla dentro alla matrice mitocondriale, il tutto con una spesa di ATP perché questo è un processo che richiede energia.



RUOLO DEL MITOCONDRIO NELLA RESPIRAZIONE AEROBIA

L'ossigeno viene ridotto ad acqua proprio nella matrice mitocondriale. Quindi, nello spazio intermembrana vengono pompati i protoni, nella matrice mitocondriale l'ossigeno prende su di sé gli elettroni passati dalla catena di trasporto, viene ridotto ad acqua e, sempre nella matrice mitocondriale, viene prodotto ATP. Con questa panoramica da tenere bene a mente, ci occupiamo, non esageratamente, dei dettagli biochimici. Iniziamo dal primo passaggio, quello cioè della decarbossilazione ossidativa del piruvato e del ciclo dell'acido citrico.

Il piruvato, da 3 atomi di carbonio, passa ad avere atomi di carbonio perché ne viene eliminato uno per

decarbossilazione (ecco la prima molecola di CO₂ che si forma) ed è una decarbossilazione ossidativa

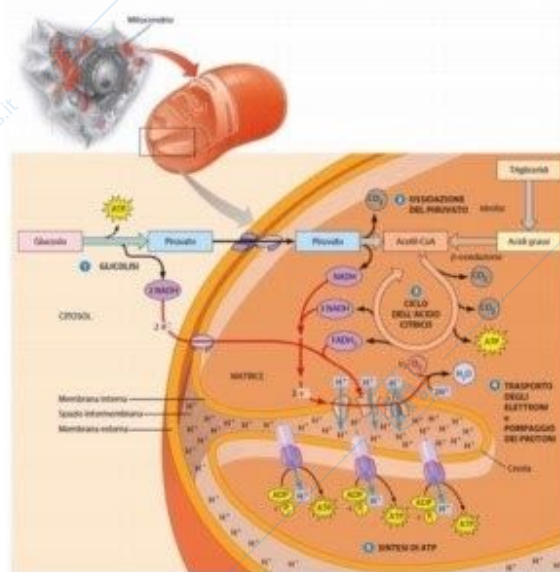
in cui il **NADH si riduce**. Quindi, il **piruvato ossidato a gruppo acetile e il NAD⁺ viene ridotto**.

Il ciclo dell'acido citrico viene alimentato appunto dall'acetile dell'Acetilcoenzima A e in questo ciclo,

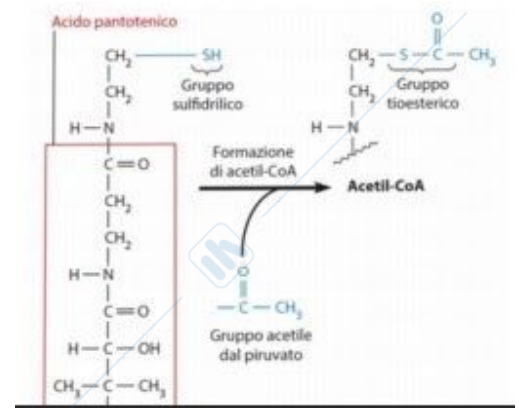
di cui tra poco ci occuperemo, un acido a 4 atomi carbonio (C₄) viene legato a questi due atomi di carbonio del gruppo acetile e quindi, dà il **citrato**, un **composto a 6 atomi di carbonio che viene**

decarbossilato in due passaggi. Si hanno due decarbossilazioni ossidative di nuovo, si produce CO₂ e coenzima ridotto. Successivamente, nel ciclo si ha una fosforilazione a livello del substrato nella quale interviene il GTP, la possibilità di produrre ATP, e successive e ulteriori conversioni a succinato, fumarato, malato, ossalacetato che abbiamo incontrato inizialmente nel ciclo tutto ciò accompagnato da ulteriore produzione di coenzimi ridotti. Quindi, nel ciclo dell'acido citrico, si ha l'eliminazione di **2 molecole di CO₂ per ogni acetile derivante da un piruvato**, e la formazione di **4 coenzimi ridotti: 3 NADH e 1 FADH₂**.

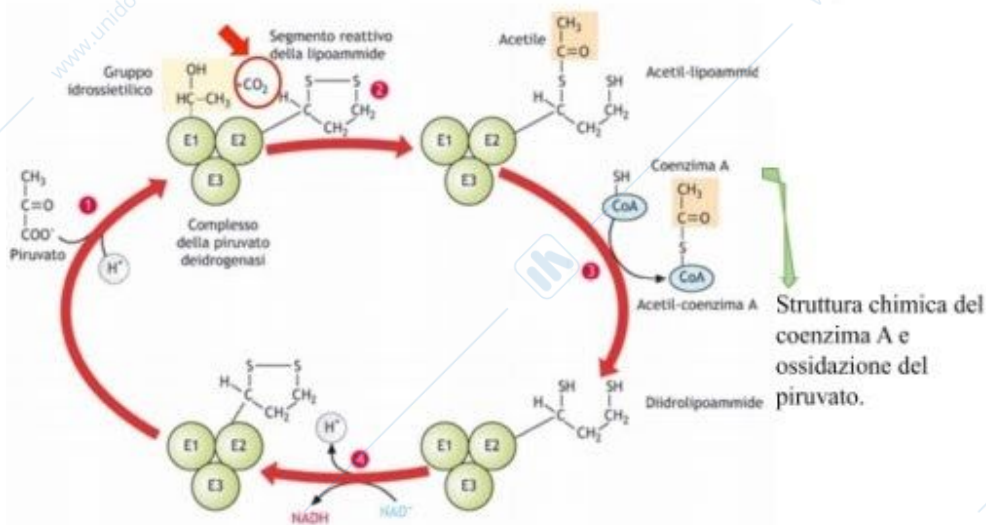
Questo primo passaggio di decarbossilazione ossidativa del piruvato utilizza una molecola molto importante che è il coenzima A, strutturato da un nucleotide, un acido pantotenico, che ha alla sua estremità un gruppo suffidrilico (che è il gruppo funzionale chiave per legare l'acetile che deriva dal piruvato). E 'così che si forma **l'Acetilcoenzima A che serve per accogliere**, per così dire, **ciò che rimane del piruvato dopo la sua decarbossilazione**, la quale avviene con la catalisi di un complesso enzimatico, il piruvato deidrogenasi,



che lega il piruvato e lo decarbossila. Subito la CO_2 viene eliminata e quel che rimane del piruvato lo troviamo qui legato. Le successive modificazioni prevedono una riduzione del gruppo lipoamminico; il gruppo acetile si lega ad un gruppo reattivo (si vede sporgente nella lipoammide) e poi, il gruppo acetile, viene trasferito al coenzima A che abbiamo visto prima. C'è un trasferimento di questo gruppo a 2 atomi di carbonio prima al complesso enzimatico, e poi all'AcetilCo A che si porta via quel che resta del piruvato. L'enzima, d'altra parte, **deve essere di nuovo ossidato** per poter agganciare a questo gruppo funzionale un nuovo piruvato. Ecco allora dove interviene l'ossidazione seguita dal NAD^+ che si riduce a NADH . **Ciò che viene ossidato non è una parte della molecola di piruvato o quel che ne rimane, ma il complesso enzimatico che ha permesso la decarbossilazione del piruvato e l'aggancio dell'acetile all'Acetilcoenzima A.** Quindi, è importante che il NAD^+ (che trovate scritto qui) ossida il complesso enzimatico che permette la decarbossilazione del piruvato e il trasferimento dell'acetile all'Acetilcoenzima A.

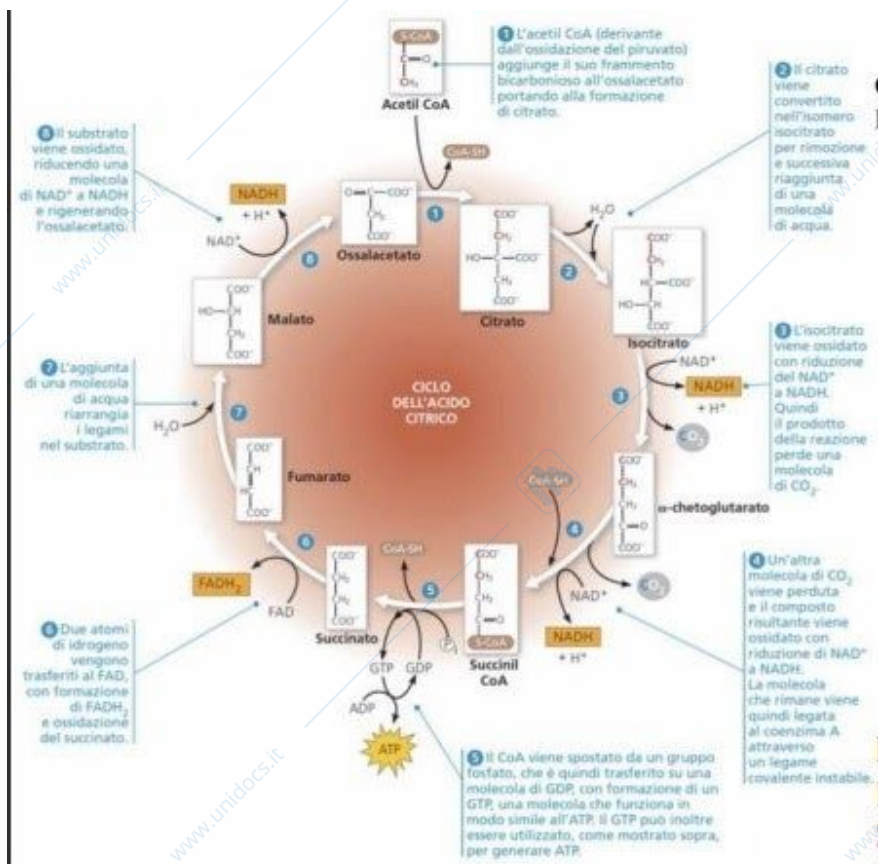


L'Acetilcoenzima A può entrare nel ciclo degli acidi decarbossilici ed è la molecola chiave per la produzione di energia. Inoltre, è un punto di convergenza metabolica perché i macronutrienti (lipidi, carboidrati, proteine) vengono degradati, con diversi percorsi metabolici, a gruppo acetile che viene legato dal coenzima A. Quindi, in definitiva, **qualunque sia la sorgente del macronutriente, perchè avvenga il ciclo di Krebs e poi la respirazione cellulare, è necessario avere acetilcoenzima A.**



Nelle cellule animali, il ciclo di Krebs può essere meglio descritto dal ciclo in cui, prima della formazione di succinato, c'è la fosforilazione di un GDP a GTP. Il **GTP è un nucleotide analogo per struttura chimica all'ATP** (ha solo la **guanina al posto dell'adenina**) e quindi è anch'esso **una molecola che può fornire energia conseguentemente all'idrolisi**. L'idrolisi del GTP, inteso come il substrato fosforilato: come abbiamo visto durante la glicolisi, il substrato di un enzima con un gruppo fosfato può essere trasferito all'ADP.

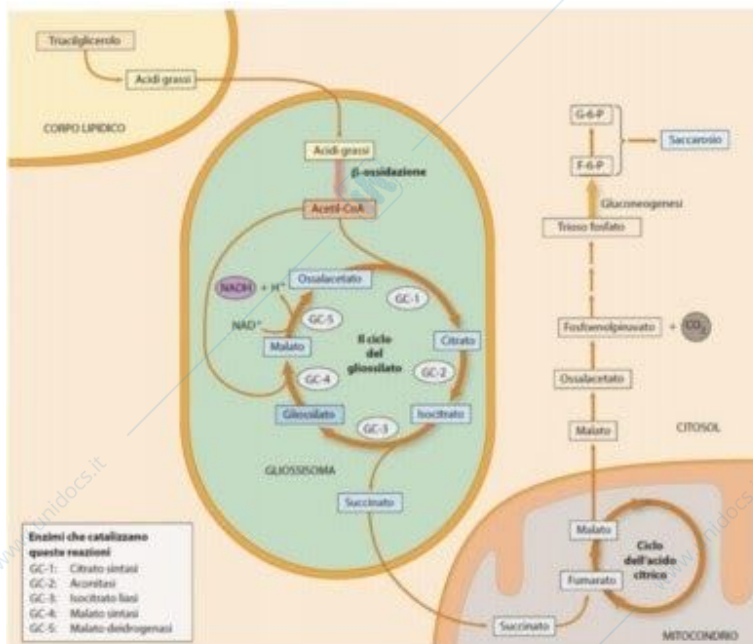
In questo senso, quel passaggio del ciclo di Krebs è una fosforilazione a livello del substrato. Per quanto riguarda l'aspetto biochimico, da notare che i due atomi di carbonio che entrano nel ciclo di Krebs, colorati in rosso, non escono subito come CO_2 , sono altri carboni che vengono staccati per la reazione di decarbossilazione; i carboni rossi rimangono fino al succinato, fumarato, malato, ossalacetato, perché sarà nel ciclo successivo che verranno eliminati come CO_2 .



METABOLISMO ENERGETICO NELLE SPECIE VEGETALI

È importante prima ricordare qualche cosa sul metabolismo energetico degli altri nutrienti diversi dagli zuccheri. La possibilità per proteine, carboidrati, lipidi di avere nell'acetilcoenzima A un punto di convergenza diretto oppure indiretto. A livelli diversi nelle catene metaboliche, possono essere fatti entrare i prodotti del metabolismo di zuccheri, amminoacidi, trigliceridi, acidi grassi, e quindi rifornire di substrati le reazioni enzimatiche successive. **Il ciclo di Krebs è quello che rifornisce di coenzimi ridotti la fosforilazione ossidativa che avviene nella cresta mitocondriale. Nelle cellule vegetali, nei semi vengono accumulati grassi all'interno dei corpi lipidici come scorta di energia** (anche noi nel tessuto adiposo accumuliamo molecole molto ricche di energia perché il loro metabolismo permette di produrre molto ATP). Nei semi vengono accumulati trigliceridi in questi corpi lipidici per poi, all'occorrenza, quando il seme germoglia, trasformare questi lipidi in carboidrati, in particolare saccarosio. Il saccarosio è la molecola

energeticamente più vantaggiosa per il fabbisogno energetico altissimo che il seme ha quando inizia a germogliare. Inizialmente c'è accumulo di trigliceridi nei corpi lipidici dei semi, e poi c'è un processo di conversione dei grassi in carboidrati, nelle cellule vegetali, che prevede il passaggio attraverso le vie metaboliche illustrate: dai corpi lipidici ai gliossisomi, corpuscoli a stretto contatto con il mitocondrio, anche dal punto di vista anatomico. Nei corpi lipidici i trigliceridi vengono idrolizzati e gli acidi grassi, liberati dal trigliceride, possono essere trasferiti al gliossisoma. **Nel gliossisoma avviene la β -ossidazione degli acidi grassi, un processo che frammenta l'acido grasso e permette la formazione di gruppo acetile che vengono legati all'acetilcoenzima A.** Quindi l'acetilcoenzima A entra in un percorso metabolico che ricorda in certi aspetti il ciclo di Krebs, ma non lo è, e permette la formazione di intermedi che si distinguono dal ciclo di Krebs in "questo punto". Il gliossilato passa poi al mitocondrio ed entra, trasformato in fumarato, nel ciclo di Krebs. Il fumarato, poi trasformato in malato, è una ricongiunzione del ciclo di Krebs. Questo percorso metabolico che permette nelle piante la conversione di acidi grassi in carboidrati, e che coinvolge il gliossilato, rifornisce il ciclo di Krebs, ma non in modo che il ciclo di Krebs vada a conclusione, come abbiamo visto precedentemente, perché il malato formato nel ciclo di Krebs esce e viene esportato fuori dal mitocondrio per poter rifornire un'altra via biosintetica, quella che porta alla sintesi dei carboidrati (dei triosi, gli zuccheri a 3 termini, fino agli zuccheri a 5,6 termini, fino al saccarosio). **Il gliossisoma fa questa conversione che non può avvenire nelle cellule animali, nelle quali i carboidrati si trasformano in grassi** (quando ci nutriamo di carboidrati in eccesso, essi possono essere stoccati nella forma energeticamente molto ricca dei lipidi invece viceversa può essere fatto solo nelle cellule vegetali per alimentare un percorso che serve alla pianta per far germogliare il seme).



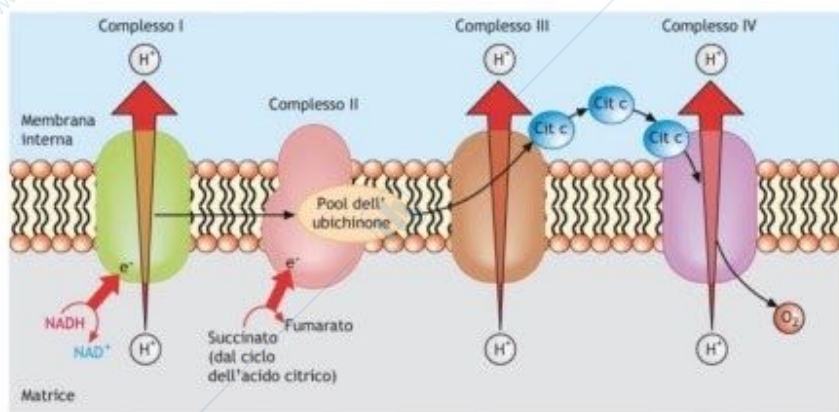
Ciclo glicolico e gluconeogenesi nei germogli che immagazzinano grassi.

Dobbiamo riprendere il discorso del metabolismo ossidativo del glucosio, dopo il ciclo degli acidi tricarbossilici in cui i vari coenzimi ridotti formati, in esito al completamento del ciclo, forniscono il potenziale riducente per il trasporto di elettroni nella catena respiratoria. Prima di analizzare la catena respiratoria dobbiamo analizzare anche che il **potenziale riducente derivante dalla glicolisi, cioè NADH formato nel citoplasma, può non proprio entrare, ma trasferire il proprio potenziale riducente all'interno del mitocondrio per mezzo di un sistema shuttle, o sistema navetta**, che non fa passare il NADH che viene introdotto, ma garantisce che molecole ridotte dal NADH possano entrare esse come forma ridotta, e poi ridurre a loro volta altri coenzimi all'interno del mitocondrio, che può essere FAD che diventa FADH₂ o il NAD⁺ stesso che passa a NADH. Perciò, **fisicamente non passa il NADH ma passa la molecola da lui ridotta**, ad esempio il glicerolo 3- fosfato oppure il malato (forma ridotta dell'ossalacetato).

CATENA DI TRASPORTO DEGLI ELETTRONI

Nella catena di trasporto degli elettroni avviene una serie di reazioni di ossidoriduzione in cui gli elettroni passano da un coenzima all'altro, o comunque da gruppi proteici ad altri capaci di passare da una forma ossidata a una forma ridotta. La maggior parte dell'energia ormai estratta dai composti organici, perché abbiamo detto che ormai si è formata CO₂, è quindi immagazzinata sotto forma di coenzimi ridotti, NADH e FADH₂. In più abbiamo già prodotto una piccola quantità di ATP (4 molecole di ATP per ogni molecola di glucosio è solo una piccola quota rispetto alla grande quantità di ATP che potrà essere prodotta successivamente per mezzo dell'ATP sintasi). **Il sistema di trasporto degli elettroni è ciò che permette di creare le condizioni adatte per la sintesi di ATP**, in particolare dobbiamo concentrare l'attenzione sulla cresta mitocondriale, cioè sulla membrana mitocondriale interna dove sono incastonate

proteine che formano complessi enzimatici che contengono dei coenzimi capaci di passare dalla forma ossidata alla forma ridotta.



Ad esempio le **flavoproteine contengono FAD**, un coenzima che ha una porzione che può accettare 2 protoni, e quindi è questo il nucleo che passa dalla forma ossidata alla forma ridotta. Questa è una delle proteine che può caricare elettroni e iniziare questa sorta di passa-mano. Altre proteine sono **ferro-zolfo proteine che hanno al loro interno dei nuclei ferro-zolfo che possono eseguire ossidoriduzione**, ma non sono inseriti in gruppi prostetici Eme, come si chiamano quelle invece contenute nei citocromi che contengono gruppi prostetici chelanti il ferro e che hanno dei gruppi come questi vinilici che possono essere legati covalentemente o non covalentemente ai residui amminiacidici della proteina che ha questi **gruppi Eme** come gruppi prostetici. Queste proteine sono dei citocromi di diverse forme, quindi vari tipi di citocromi possono intervenire in questi sistemi di trasporto degli elettroni. **Altri citocromi contengono rame, ferro.** Una molecola importante per il trasporto degli elettroni è il **coenzima Q o ubiquinone**, una piccola molecola che può avere due stati di ossidoriduzione e quindi legare uno o 2 protoni, non è una coenzima di una proteina. Il coenzima Q, grazie alla sua caratteristica chimico-fisica idrofobica, può muoversi all'interno dello spessore del doppio strato fosfolipidico della membrana mitocondriale interna (caratteristica di mobilità nella compagine lipidica della membrana). Fa da navetta da un complesso all'altro mentre c'è un citocromo che può muoversi anche al di fuori dello spazio intermembrana e può anch'esso funzionare da navetta di trasporto. Il flusso di elettroni può andare da NADH attraverso questi complessi (ubichinone, citocromo ecc...) fino alla molecola di ossigeno. Da ricordare che **la molecola di ossigeno è l'accettore finale di elettroni.**

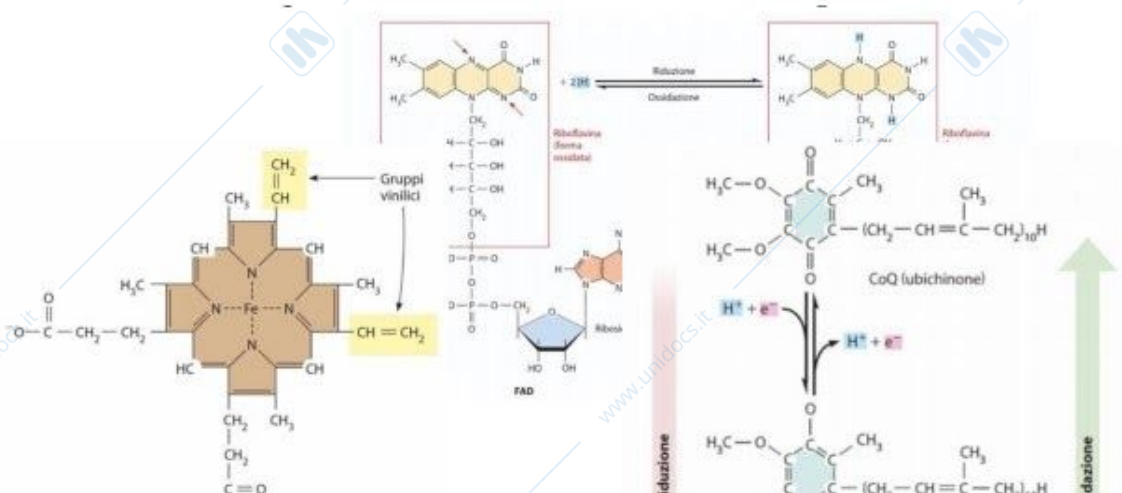


TABELLA 10.2 Potenziali standard di riduzione delle coppie redox di importanza biologica*

| Coppia redox (forma ossidata → forma ridotta) | N. di elettroni | E_0' (V) |
|--|--------------------|------------|
| Acetato → piruvato | 2 | -0,70 |
| Succinato → α -chetoglutarato | 2 | -0,67 |
| Acetato → acetaldeide | 2 | -0,60 |
| 3-fosfoglicerato → gliceraldeide-3-P | 2 | -0,55 |
| α -chetoglutarato → isocitrato | 2 | -0,38 |
| NAD ⁺ → NADH | 2 | -0,32 |
| FMN → FMNH ₂ | 2 | -0,30 |
| 1,3-bisfosfoglicerato → gliceraldeide-3-P | 2 | -0,29 |
| Acetaldeide → etanolo | 2 | -0,20 |
| Piruvato → lattato | 2 | -0,19 |
| FAD → FADH ₂ | 2 | -0,18 |
| Ossalacetato → malato | 2 | -0,17 |
| Fumarato → succinato | 2 | -0,03 |
| 2H ⁺ → H ₂ | 2 | 0,00** |
| CoQ → CoQH ₂ | 2 | +0,04 |
| Citocromo b (Fe ₂ ⁺ → Fe ₂ ³⁺) | 1 | +0,07 |
| Citocromo c (Fe ₂ ⁺ → Fe ₂ ³⁺) | 1 | +0,25 |
| Citocromo a (Fe ₂ ⁺ → Fe ₂ ³⁺) | 1 | +0,29 |
| Citocromo a ₃ (Fe ₂ ⁺ → Fe ₂ ³⁺) | 1 | +0,55 |
| Fe ₂ ⁺ → Fe ₂ ³⁺ (ferro inorganico) | 1 | +0,77 |
| $\frac{1}{2}$ O ₂ → H ₂ O | 2 | +0,816 |

* I valori di $\Delta E_0'$ sono indicati per le seguenti semireazioni generali, dove n è il numero di elettroni trasferiti:

forma ossidata + nH⁺ + ne⁻ → forma ridotta

** Per definizione, questa coppia redox rappresenta il punto di riferimento per la determinazione dei valori di tutte le altre coppie redox, essa richiede che [H⁺] = 1,0 M e perciò specifica un pH 0,0. A pH 7,0 il valore per la coppia 2H⁺/H₂ è -0,42 V.

debole
accettore
di e⁻

↓

buon
accettore
di e⁻

In questo schema possiamo ulteriormente vedere le

differenze di potenziale di ossidoriduzione tra i diversi membri di questa catena di trasporto di elettroni, considerando che alcuni citocromi, o coenzimi, hanno un potenziale redox più basso di altri. Il potenziale di riduzione standard (numericamente inserito in tabella) dell'ossigeno è quello che ha il valore più alto. Quindi, per meglio capire il significato della tabella, gli elettroni che passano da un anello all'altro della catena, fluiscono in modo esoergonico, spontaneo, dalla coppia redox che ha un più debole accettore di elettroni a quella che ha un miglior accettore di elettroni. Il **migliore accettore è l'ossigeno** che, prendendo per ultimo gli elettroni, si riduce ad acqua. Il potenziale standard di riduzione che va da valori negativi a positivi, può essere ancor meglio compreso in funzione della spontaneità del processo, considerando anche i valori di ΔG (i valori di **energia libera posseduta da ciascun anello della catena di trasporto**).

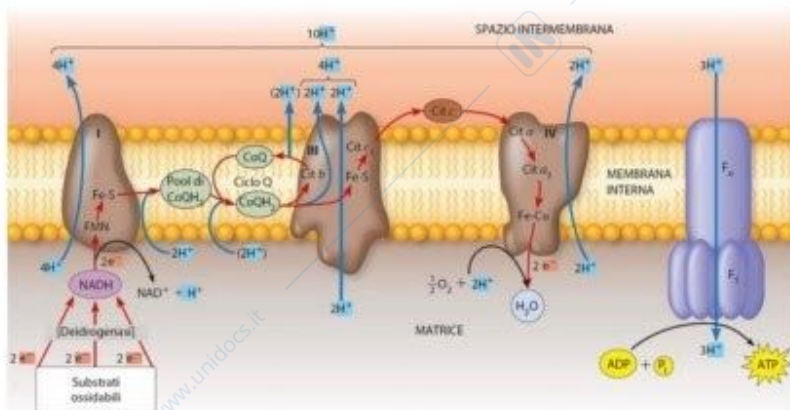
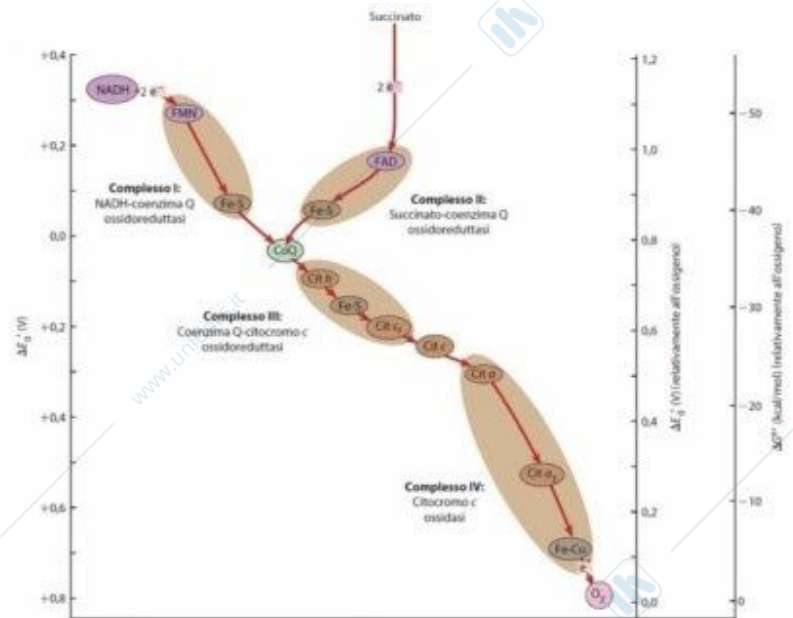
Possiamo immaginare, che i **primi anelli della catena**, che per **primi prendono gli elettroni dai coenzimi ridotti, che cedendoli si ossidano**,

sono quelle che hanno un minore potenziale di riduzione e una maggiore energia libera; sono quelli più instabili nel tenere gli elettroni che hanno accettato e che più facilmente lo passano all'anello successivo della catena. In questo modo, con una posizione anche spazialmente ordinata dei diversi composti, protagonisti nelle reazioni redox all'interno di questa catena di trasporto, gli elettroni possono passare da una coppia all'altra, da un coenzima all'altro, riducendo via via il complesso immediatamente successivo, che si trova allo stato ossidato e che quindi, prendendo gli elettroni, si riduce, in una cascata esoergonica che avviene a step; ad ogni ossidoriduzione di un anello della catena che passa elettroni al successivo, si ha una liberazione di energia e, per meglio dire, si ha a disposizione un quantitativo di energia che permette di compiere un lavoro. Questo significa che, via via che avvengono le reazioni redox e via via che gli elettroni passano al coenzima/complesso successivo, avviene una modificazione conformazionale della proteina del complesso 1, ad esempio, tale per cui protoni possono essere trasferiti dalla matrice mitocondriale allo spazio intermembrana. Questa serie di processi esoergonici, di riduzioni esoergoniche a catena, forniscono l'energia necessaria per compiere il **processo accoppiato, ovvero l'accumulo endoergonico di protoni nello spazio intermembrana**. La collocazione spaziale dei vari coenzimi, citocromi, ubiquinone e via dicendo fino all'ossigeno, in questa precisa serie ordinata per potenziali di riduzione via via crescenti, ha lo scopo di rilasciare dei quanti di energia che permettono di compiere il lavoro di trasferimento di protoni dalla matrice mitocondriale allo spazio

intermembrana. Il ΔG via via si assottiglia, mentre è molto negativo all'inizio, alla fine del processo, l'energia libera per la riduzione dell'ossigeno è ormai arrivata a un Δ prossimo allo 0. Quando gli elettroni passano all'ossigeno, siamo arrivati al punto in cui la cascata di eventi non può più procedere; non a caso l'ossigeno, che è il migliore accettore di elettroni, si trova in fondo, perché accettando gli elettroni li tiene e non li passa.

Nella catena di trasporto rappresentata si vede come sono ordinati i diversi complessi uno dopo l'altro, nell'ordine di passaggio di elettroni. Il complesso 1 passa gli elettroni al pull libero di coenzima Q che è una molecola lipofila, in grado di muoversi nello spazio della membrana e in più, oltre a trasportare gli elettroni, esegue essa stessa un trasferimento di protoni, dalla matrice allo spazio intermembrana,

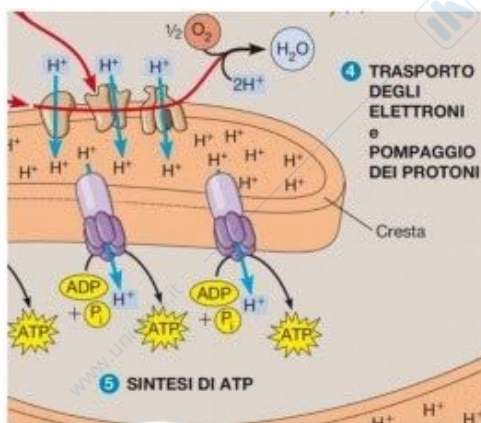
oltre a trasportare elettroni. Nei passaggi successivi, dai vari citocromi fino all'ultimo complesso, il quarto, si continuano ad avere, soprattutto nel complesso terzo, modificazioni conformazionali delle proteine che permettono il trasferimento endoergonico di protoni, e a livello del complesso quarto, un ulteriore compagine di protoni, gli elettroni vengono trasferiti all'ossigeno che lega protoni nella matrice e diventa H_2O . Per ogni molecola di O vengono legati 4 protoni e 4 elettroni e quindi si forma una molecola di acqua. Siamo quindi riusciti a costruire le **condizioni**, grazie alle quali, si può avere la **sintesi di ATP**, ovvero l'**accumulo di protoni nello spazio intermembrana**. Attraverso il passaggio di protoni nella ATP sintasi si avrà energia sufficiente per sintetizzare ATP, in particolare ogni 10 protoni che passano nel canale si possono sintetizzare 3 molecole di ATP.



Il flusso di elettroni dal NADH attraverso i complessi respiratori I, III e IV causa il pompaggio direzionale di protoni.

Questa immagine relativa alla catena di trasporto degli elettroni ci permette di visualizzare a livello dei vari centri di ossidoriduzione delle proteine dove avviene questo passaggio di elettroni incluso il pool di coenzima Q ridotto che fluttua all'interno dello strato lipidico e permette l'esportazione di protoni, il citocromo c è la quota mobile che arriva fino al processo 4. Se vogliamo capire come viene sintetizzato ATP a livello della ATP sintasi, dobbiamo iniziare a parlare di questo **modello**

dell'accoppiamento chemiosmotico, cioè una descrizione dell'evento di sintesi di ATP che tiene conto della traslocazione di protoni dallo spazio intermembrana alla matrice mitocondriale, e che fornisce proprio la forza motrice per muovere la macchina enzimatica che sintetizza ATP. Quindi, la sintesi di ATP è accoppiata con l'esistenza di un gradiente elettrochimico (di protoni). Quando abbiamo parlato di attraversamento della membrana si parlava di **gradiente di concentrazione**, che indica la diversa concentrazione di una molecola nei due compartimenti. Nel **gradiente elettrochimico** vengono considerati non solo la diversa concentrazione (**gradiente chimico**), ma anche il **gradiente di carica**, cioè la differenza di localizzazione di carica da una parte all'altra della membrana. Perciò si parla di gradiente elettrochimico di H^+ perché la sostanza in questione, di cui si discute la diversa concentrazione, porta carica netta. Il gradiente elettrochimico lo ritroveremo quando si parlerà di impulso nervoso. Serve che ci sia gradiente elettrochimico per far avvenire la sintesi di ATP; **l'intero processo che permette la sintesi di ATP viene detto fosforilazione ossidativa** perché si parla di fosforilazione quando il gruppo fosfato si lega per formare ATP, ed è ossidativa perché dipende da un processo di ossidazione dei substrati organici. Il trasporto di elettroni e la sintesi di ATP sono eventi accoppiati. La disponibilità di ADP condiziona il processo perché è il reagente della fosforilazione che genera ATP; l'ossidazione di coenzimi determina il pompaggio di un numero di protoni sufficiente per formare 3 ATP per molecola di NADH e 2 ATP per molecola di $FADH_2$. Ogni 2 elettroni trasportati da una molecola di NADH, quindi ogni molecola di NADH, 10 protoni passano dallo spazio intermembrana, e per ogni 10 protoni derivanti dall'ossidazione del NADH si ha la formazione di 3 molecole di ATP. Vediamo come questo movimento di protoni all'interno di una struttura molecolare estremamente complessa permette di sintetizzare ATP, e capiamo come questa spinta, derivante dal gradiente chemiosmotico, è la spinta motrice, perché dipende dal movimento del protone e motrice perché al movimento del protone è accoppiato il movimento del complesso enzimatico stesso che consente la sintesi di ATP.



Il gradiente elettrochimico di H^+ è la chiave dell'accoppiamento energetico

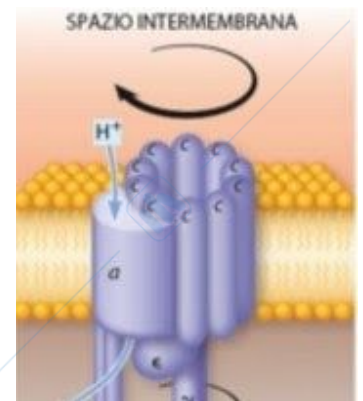
- Il pompaggio di elettroni potrebbe verificarsi sia attraverso il movimento fisico di una molecola trasportatrice, sia attraverso la modificazione conformazionale di un polipeptide all'interno del complesso respiratorio
- Il gradiente elettrochimico di H^+ esercita una **forza motrice protonica (pmf)** che spinge H^+ , secondo gradiente, verso la matrice.

Come è fatta la ATP sintasi?

È una pompa formata da due componenti FOF1 costituite da due porzioni, una statica e una dinamica. Analizziamo la porzione che permette il passaggio di protoni all'interno della macchina molecolare, indicata con la subunità a; questo è il canale attraverso il quale i protoni possono inserirsi per passare dallo spazio intermembrana alla matrice. Collegata a questa subunità a, vediamo che è una porzione statica come statiche sono il peduncolo e la parte finale che si agganciano con le porzioni catalitiche vere e proprie; accanto alla subunità statica, troviamo un anello costituito da 10 subunità c disposte a cerchio. Queste **subunità c interagiscono con la subunità a per mezzo del legame ionico** che si può stabilire tra un amminoacido arginina, carico positivamente, e un aspartato che invece è carico negativamente, e quindi formano un punto di contatto tra a e c. Il contatto rimane tale finché l'interazione non viene rotta, ad esempio quando si avvicina un protone che protona il carbossile dell'aspartato e lo fa scattare, rompendo il legame ionico e conseguentemente le subunità proteiche reciprocamente si trovano in posizioni diverse perché cambia anche di poco la

conformazione, di quel poco che basta perché questa ruota di subunità c compia un decimo di giro e si stacchi dalla subunità a. Così facendo l'aspartato successivo di questa ghiera di anelli di c si trova a contatto con l'arginina e quindi stabilizza un nuovo contatto. Conseguentemente a questo, il protone prima legato dalla subunità c, viene rilasciato ed esce dal canale, quindi **protone dopo protone si ha:**

- 1) **Protonazione dell'aspartato**
- 2) **Un decimo di giro**
- 3) **Il rilascio del protone nello spazio oltre la membrana**



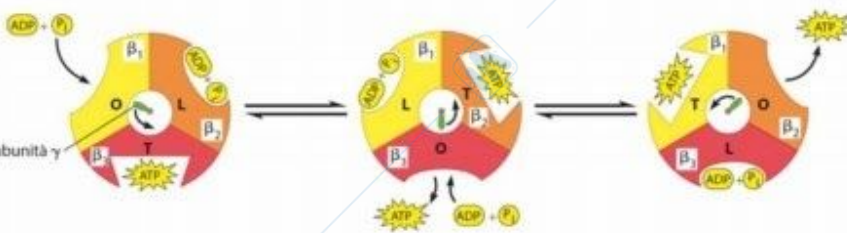
Ogni protone che arriva, spinto dalla forza motrice della forza del gradiente chemiosmotico, dalla grande concentrazione di H^+ , che è nello spazio intermembrana, protone dopo protone, un decimo di giro per volta, questa ghiera ruota e trasmette il movimento all'altra componente che si trova all'interno della matrice mitocondriale e che è costituita da un sistema di α e β subunità anch'esse disposte ad anello. Però, a ogni decimo di giro della ruota di c, compie un decimo di giro anche il peduncolo γ che si innesta nella ghiera di catalisi vera e propria, costituita dall'alternanza delle subunità α e β . Nelle subunità β ci sono siti catalitici per la fosforilazione di ATP, e quindi per la sintesi di ATP, che non hanno contemporaneamente la stessa forma e la stessa apertura. I 3 siti catalitici presenti in ciascuna delle subunità β (β_1 , β_2 , β_3), nello stesso istante T, rintracciano conformazioni diverse corrispondenti a diverse aperture del sito catalitico. Ad esempio, ad un certo istante, mentre la subunità β_1 è in una conformazione tale da mantenere il sito catalitico aperto, pronto per ospitare i reagenti, in quello stesso istante, un'altra subunità β ha una conformazione un po' più stretta, cosiddetta lassa, capace di far avvicinare ADP e fosfato inorganico precedentemente captati, e quindi per farli reagire. Nello stesso istante, la terza subunità ha la conformazione in cui ADP e fosfato inorganico sono abbastanza vicini da reagire e si forma l'ATP.

Contemporaneamente si hanno tre diversi momenti di catalisi:

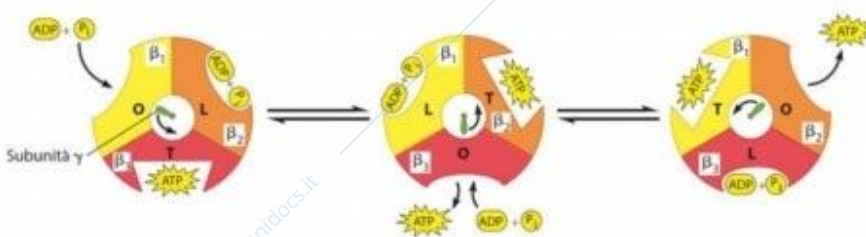
- 1) Accoglienza del substrato
- 2) Avvicinamento del substrato perché reagisca
- 3) Sintesi avvenuta

Nell'istante immediatamente successivo, la conformazione di ciascuna subunità cambia perché il processo al livello del sito catalitico procede; e allora, nella subunità che all'istante precedente era solo aperta per captare i substrati, troviamo la conformazione lassa in cui i substrati sono stati legati e si stanno avvicinando, l'altra subunità in conformazione lassa, ora è diventata T (stretta) in cui avviene la sintesi di ATP, la terza subunità, che prima era in conformazione stretta e aveva fatto già reagire i substrati, ospitava già l'ATP, ora inizia ad aprirsi, cioè si prepara non solo ad accogliere ADP e fosfato inorganico, ma a liberare ATP, quindi rilasciare il prodotto appena sintetizzato. Lo scatto successivo sarà il completamento della conformazione di ciascuno dei siti catalitici: la prima subunità raggiunge la completezza della sintesi dell'ATP nella conformazione "compatta" T, la seconda rilascia l'ATP ormai reagito e

sarà pronta anche ad accogliere i substrati, e la terza fa avvicinare per far reagire ADP e fosfato inorganico prima caricati. Queste sono le 3 conformazioni principali, quelle che meglio simbolizzano i 3 stadi della catalisi enzimatica, ma non è una macchinetta che scatta in posizione 1,2,3 e basta, ovviamente c'è una evoluzione di fotogrammi intermedi tra una e l'altra conformazione open (O)

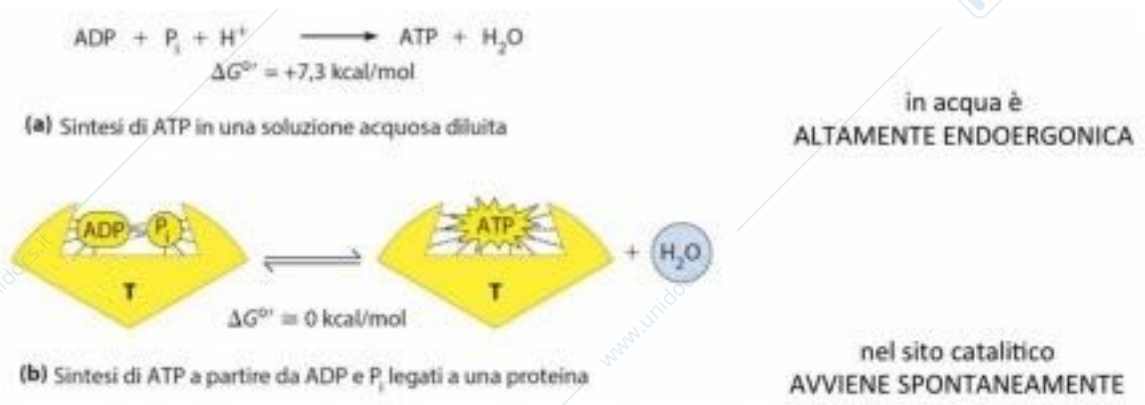


-aperta- e lassa (L) -stretta-. Questo movimento graduale tra le 3 conformazioni è permesso dal fatto che, protone dopo protone, questa ghiera di 10 c si muove trasmettendo il movimento al peduncolo γ che, meccanicamente, spinge le subunità catalitiche e, meccanicamente, impone un cambiamento di conformazione che garantisce alle tre subunità di assumere ora l'una ora l'altra conformazione. **L'ATP sintasi è una macchina molecolare** che, grazie al flusso di protoni, come una sorta di mulino macina i substrati, ma invece di farne polvere, **costruisce ATP**.



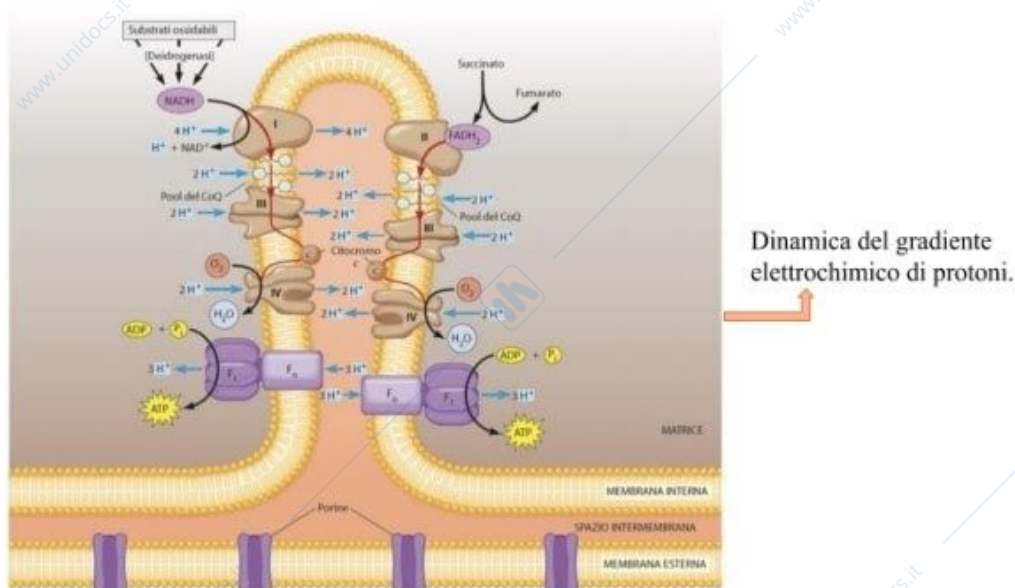
Modello della modificazione di legame per la sintesi di ATP da parte delle subunità del complesso FoF1.

Dal punto di vista energetico, la sintesi a livello del sito catalitico ha un ΔG prossimo allo 0, ma non significa che siamo nelle condizioni di equilibrio e che il processo non può andare avanti; significa solo che il sistema cellulare, questa sintesi endoergonica in provetta, sulla carta, la fa avvenire non spontaneamente (il ΔG non è minore di 0), in riferimento alla sola catalisi di fosforilazione, ma in un processo che va avanti, se consideriamo il bilancio energetico di tutto il catabolismo, dal ciclo di Krebs a venire avanti.

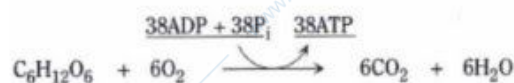


Perché nella catena di trasporto degli elettroni relativa al NADH si parlava solo di complessi 1,3,4?

Perché il complesso 2 è associato al FADH₂. I due coenzimi NADH e FADH₂ sfruttano due catene di trasporto di elettroni, in alcuni passaggi diversi, però il concetto è sempre lo stesso, **in entrambi si ha trasporto di elettroni con l'ossigeno come accettore finale**, e si ha il passaggio di protoni nello spazio intermembrana anche se **il numero di protoni fatti passare dal NADH che avvia la catena di trasporto è maggiore rispetto al FADH₂**, quindi ha una resa energetica maggiore (il NADH).



Dinamica del gradiente elettrochimico di protoni.



Da una molecola di glucosio a sei molecole di ossigeno si ottengono 6 molecole di CO_2 e $6\text{H}_2\text{O}$, possiamo considerare che questo processo alla fine della fosforilazione ossidativa ha un **bilancio netto di circa 38 molecole di ATP**. **A seconda dei percorsi catabolici che vengono usati, e a seconda dei coenzimi ridotti che consideriamo questo calcolo differisce**. In un sistema complesso come quello cellulare non è possibile avere una valutazione della resa netta come in una provetta di laboratorio. **Il rendimento, dal punto di vista termodinamico, di questo processo è altissimo** se paragonato alle macchine che l'uomo riesce a costruire, non c'è paragone con le macchine a benzina in cui la resa termodinamica è il 25% mentre nella cellula è del 34%, quindi vuol dire che, in una macchina, una grande quota di energia viene dissipata come calore, persa, non trasformata in lavoro. C'è un

limite termodinamico oltre il quale una macchina termodinamica non può andare ed è dimostrato dal ciclo di Carnot.

Cosa ne è dell'ATP che viene prodotto nella matrice mitocondriale? L'ATP deve uscire dalla matrice e arrivare quantomeno allo spazio intermembrana, poi, attraverso i pori presenti nella membrana mitocondriale esterna, potrà facilmente raggiungere il citosol e qualunque distretto all'interno della cellula che abbia bisogno di energia. I distretti possono essere i ribosomi (per la sintesi proteica) o qualunque comparto che compia lavoro, nel senso di sintesi, di trasporto. **Non è solo l'ATP la molecola che esce dal mitocondrio**, tra l'altro in un sistema di antiporto in cui ADP entra, per ogni molecola di ATP che viene sintetizzata, per fare andare avanti il processo c'è bisogno di un rifornimento del substrato (ADP e fosfato inorganico, scambiato con OH^-). Altri sistemi di navetta li abbiamo visti per il potenziale riducente e per il piruvato che entra all'interno del mitocondrio durante la glicolisi.

SPECCHIETTO INTRODUTTIVO

Noi respiriamo, con la respirazione polmonare, per approvvigionare le nostre cellule di ossigeno, il quale serve come accettore di protoni alla fine del trasporto di elettroni; la CO_2 deriva dal ciclo di Krebs, dalla decarbossilazione ossidativa del piruvato, e l'acqua deriva dalla riduzione dell'ossigeno.

