

## ENERGIA

Tutti i sistemi viventi richiedono un apporto continuo di ENERGIA. Essa è definita come:

- la capacità di compiere un lavoro
- la capacità di causare specifici cambiamenti fisici o chimici (questa definizione sottolinea la dipendenza di tutte le forme di vita dalla continua disponibilità di vita)

Quali tipi di attività cellulari danno origine a questi cambiamenti? Esistono sei categorie di cambiamento che definiscono sei tipi di lavoro:

- **LAVORO DI SINTESI (lavoro chimico):** è un'attività necessaria in ogni momento di una cellula, ed è anche definito come il lavoro di BIOSINTESI. Consiste nella formazione di nuovi legami chimici e nella sintesi di nuove molecole. Questa sua funzione è evidente nelle cellule in fase di crescita, in quanto nuove molecole devono essere sintetizzate affinché le cellule possano aumentare di dimensione e di numero. Il lavoro di sintesi è inoltre necessario per mantenere le strutture cellulari esistenti: poiché la maggior parte dei costituenti strutturali di una cellula è in uno stato di costante turnover, tali molecole sono continuamente degradate e sostituite.
- **LAVORO MECCANICO:** è un'attività che implica un cambiamento fisico nella posizione o nell'orientamento di una cellula o di alcune sue strutture subcellulari. Esempi possono essere (1) il movimento di una cellula rispetto all'ambiente grazie all'azione di ciglia o flagelli (richiedono energia per spingere avanti la cellula), (2) il movimento dell'ambiente ad opera della cellula, come quando le ciglia che tappezzano la trachea battono verso l'alto per spazzare via dai polmoni le cellule inalate, (3) la contrazione muscolare che coinvolge un elevato numero di cellule, (4) il movimento dei cromosomi lungo le fibre del fuso durante la mitosi, (5) le correnti citoplasmatiche, (6) il movimento degli organelli e delle vescicole lungo i microtubuli e (7) la traslocazione di un ribosoma lungo il filamento di RNA messaggero.
- **LAVORO DI CONCENTRAZIONE (lavoro di trasporto):** ha la funzione di accumulare le sostanze in una cellula o in un organello, facendo muovere le molecole attraverso la membrana contro un gradiente di concentrazione, e di eliminare i prodotti collaterali delle attività cellulari potenzialmente tossici. La diffusione di molecole, che procede sempre da aree ad alta concentrazione verso aree a bassa concentrazione, è un processo SPONTANEO che non richiede energia aggiuntiva. Per questo motivo, il processo contrario richiede apporto energetico. Ne sono esempi l'importazione di certi zuccheri e amminoacidi da bassa ad alta concentrazione attraverso la membrana plasmatica, la concentrazione di specifiche molecole ed enzimi all'interno di organelli e l'accumulo di enzimi digestivi in vescicole secretorie destinate ad essere rilasciate durante la digestione del cibo.
- **LAVORO ELETTRICO (lavoro di trasporto):** è considerato un caso particolare del lavoro di concentrazione. Consiste nel trasporto degli ioni attraverso una membrana contro un gradiente elettrochimico: il risultato non è solo un cambiamento di concentrazione, ma anche l'instaurarsi di una differenza di carica tra i due lati della membrana, chiamata *potenziale elettrico* o *potenziale di membrana*. Una differenza nella concentrazione di protoni ai due lati della membrana dei mitocondri forma un potenziale elettrico che è essenziale per la produzione di ATP, sia nella respirazione, sia nella fotosintesi. Il lavoro elettrico è importante anche nel meccanismo di conduzione dell'impulso nelle cellule nervose.
- **CALORE:** la produzione di calore rappresenta uno degli impieghi più importanti dell'energia in tutto gli omeotermi (animali che regolano e mantengono la loro temperatura corporea indipendentemente dall'ambiente). Il calore viene liberato come prodotto di molte reazioni chimiche, e l'uomo trae vantaggio da questo "prodotto di scarto" ogni giorno. I due terzi della nostra energia metabolica sono usati per tenerci caldi, vicino alla temperatura di 37°: a questa temperatura infatti il corpo funziona in modo più efficiente poiché si trova alla temperatura ottimale per l'attività

degli enzimi e per il metabolismo cellulare. Quando fa freddo i muscoli utilizzano energia per produrre i brividi, che generano calore per mantenere caldo il corpo.

- **BIOLUMINESCENZA:** consiste nella produzione di luce che utilizza ATP o l'ossidazione chimica come fonti di energia. Essa comprende inoltre la **FLUORESCENZA**, ovvero la produzione di luce a seguito dell'assorbimento di luce di lunghezze d'onda più corte. La luce è prodotta solitamente da numerosi organismi bioluminescenti, come le lucciole, alcune meduse e funghi luminescenti. Lo studio di questo processo ha aiutato lo sviluppo delle tecniche di microscopia a fluorescenza: grazie alla presenza di proteine fluorescenti si è in grado di seguire la distribuzione e il movimento della proteina di interesse nelle cellule vitali.

#### ORGANISMI CHE OTTENGONO ENERGIA DALLA LUCE DEL SOLE O DALL'OSSIDAZIONE DI COMPOSTI CHIMICI

Quasi tutta la vita sulla terra è mantenuta dall'energia irradiata dalla luce del sole, ma non tutti gli organismi sono in grado di ottenerne direttamente energia.

Sulla base della sorgente di energia che utilizzano, gli organismi e le cellule, possono essere classificati come **FOTOTROFI** ("che si nutrono di luce") o **CHEMIOTROFI** ("che si nutrono di composti chimici"). Gli organismi inoltre possono essere classificati come **AUTOTROFI** ("che si nutrono da sé") o **ETEROTROFI** ("che si nutrono da altri") a seconda se utilizzino come fonte di carbonio, rispettivamente, CO<sub>2</sub> o molecole organiche.

- I fototrofi sono organismi che possono ottenere tutta l'energia di cui necessitano dall'energia luminosa del sole, che catturano tramite sistemi di pigmenti specifici e trasformano in energia chimica che accumulano sotto forma di ATP.  
I fotoautotrofi sono in grado di utilizzare l'energia solare per produrre tutti i composti organici a partire dalla CO<sub>2</sub> (piante, alghe, cianobatteri e batteri fotosintetici).  
I fotoeterotrofi possono anch'essi utilizzare l'energia solare per sostenere le attività cellulari, ma dipendono dall'assorbimento di molecole organiche per soddisfare il proprio fabbisogno di carbonio organico (alcuni batteri).
- I chemiotrofi dipendono dall'ossidazione di legami chimici di molecole organiche o inorganiche per fornire energia alle attività cellulari.  
i chemioautotrofi tipicamente ossidano composti inorganici per ottenere l'energia necessaria a sintetizzare tutti i composti organici a partire dalla CO<sub>2</sub> (alcuni batteri).  
I chemioeterotrofi richiedono invece l'assorbimento di composti organici, come carboidrati, proteine e grassi, per produrre l'energia e il carbonio per le necessità cellulari (tutti gli animali, i protisti, i funghi e molti batteri).

#### L'ENERGIA FLUISCE CONTINUAMENTE ATTRAVERSO LA BIOSFERA

Per la comprensione del flusso di energia nelle cellule e negli organismi è necessario riprendere i concetti di ossidazione e riduzione.

L'*ossidazione* è la rimozione di elettroni da una sostanza. In biologia in genere coinvolge la rimozione di ioni idrogeno più un elettrone, e l'aggiunta di atomi di ossigeno. Le reazioni di ossidazione rilasciano energia. La *riduzione* è la reazione inversa, e coinvolge di solito l'aggiunta di atomi di idrogeno e la perdita di atomi di ossigeno. Questo tipo di reazione richiede un apporto di energia, come quando l'anidride carbonica viene ridotta a glucosio durante la fotosintesi:  $\text{energia} + 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2$

Esiste un flusso unidirezionale di energia attraverso la biosfera, in cui l'energia si muove dal sole ai fototrofi, ai chemiotrofi ed è infine rilasciata nell'ambiente come calore. La materia fluisce in modo ciclico tra i fototrofi e i chemiotrofi, quando gli atomi di carbonio e azoto vengono, alternativamente, ridotti o ossidati.

## BIOENERGETICA

I principi che governano il flusso di energia sono trattati dalla TERMODINAMICA: essa studia le leggi che governano le trasformazioni di energia, le quali accompagnano la maggior parte dei processi fisici e tutte le reazioni chimiche. Non prende in considerazione solo il calore, ma anche altre forme di energia e processi. La BIOENERGETICA può essere considerata come la *termodinamica applicata*, ovvero l'applicazione delle leggi della termodinamica alle reazioni e ai processi del mondo biologico.

## SISTEMI, CALORE E LAVORO

L'energia esiste in tante forme ed è distribuita in ogni parte dell'universo. In alcuni casi è necessario considerare l'energia totale dell'universo (in genere rimane costante ed è utilizzata a scopi puramente teorici), in altri si è interessati al contenuto energetico di una piccola parte di esso (una reazione in provetta per esempio).

Per convenzione, la parte ristretta dell'universo che si vuole studiare in un determinato momento è detta SISTEMA, e tutto il resto dell'universo costituisce l'AMBIENTE.

I sistemi possono essere a loro volta aperti o chiusi a seconda che scambino o meno energia con l'ambiente. Un SISTEMA CHIUSO è isolato dal suo ambiente e non può né assumere né rilasciare energia in alcuna forma, mentre in un SISTEMA APERTO è possibile aggiungere o togliere energia. I livelli di complessità e di organizzazione dei sistemi biologici sono possibili solo perché le cellule e gli organismi sono sistemi aperti.

Tutte le volte che si parla di un sistema, bisogna specificarne lo STATO. Si dice che un sistema è in un determinato stato se ciascuna delle sue proprietà variabili (temperatura, pressione e volume) è mantenuta costante a un determinato valore. Se questo sistema cambia da uno stato all'altro, il cambiamento della sua energia totale è determinato unicamente dagli stati iniziale e finale del sistema. Questa è una proprietà molto utile, perché consente di determinare i cambiamenti di energia indipendente dal percorso seguito.

Lo scambio di energia tra un sistema e l'ambiente avviene sotto forma di calore o di lavoro. Il CALORE è il trasferimento di energia da un corpo ad un altro, a seguito di una differenza di temperatura tra i due corpi (trasferimento spontaneo di energia dal corpo più caldo a quello più freddo). Nei sistemi biologici, il LAVORO è l'uso di energia per far avvenire qualunque processo diverso dal flusso di calore (muscolo che si contrae, fotosintesi, ecc.).

Per quantificare i cambiamenti di energia durante le reazioni chimiche o i processi fisici è necessario disporre di un'unità di misura con cui esprimere l'energia: la CALORIA (cal), definita come la quantità di energia necessaria per innalzare di 1 grado la temperatura di 1 grammo di acqua alla pressione di 1 atmosfera. Un'unità di misura alternativa dell'energia è il JOULE (J).

$$1\text{kCal} = 4,184\text{kJ}$$

Tutte le attività del nostro universo, dalla vita alla morte delle cellule, dalla vita alla morte delle stelle, sono governate dalle LEGGI DELLA TERMODINAMICA.

1.PRIMA LEGGE DELLA TERMODINAMICA (legge della conservazione dell'energia)

Afferma che: **in ogni cambiamento chimico o fisico, la quantità di energia rimane costante. L'energia può essere convertita da una forma all'altra, ma non può mai essere creata o essere distrutta.** Applicata ad un sistema aperto, quale la cellula, afferma che durante qualunque reazione o processo la quantità totale di energia che entra nel sistema deve essere uguale alla quantità di energia che esce dal sistema, meno qualunque energia che rimanga nel sistema e che quindi sia immagazzinata nel sistema stesso.

L'energia totale immagazzinata in un sistema è detta ENERGIA INTERNA DEL SISTEMA (E). non è possibile misurare E direttamente, ma è possibile calcolare il CAMBIAMENTO DI ENERGIA INTERNA ( $\Delta E$ ):  $\Delta E = E_f - E_i$

O nel caso di una reazione chimica:  $\Delta E = E_{prodotti} - E_{reagenti}$

Nel caso delle reazioni e dei processi biologici si è più interessati però al CAMBIAMENTO DI ENTALPIA (H). L'entalpia è il contenuto interno di energia, o calore, di un sistema + il prodotto della sua pressione per il suo volume:

$$H = E + PV$$

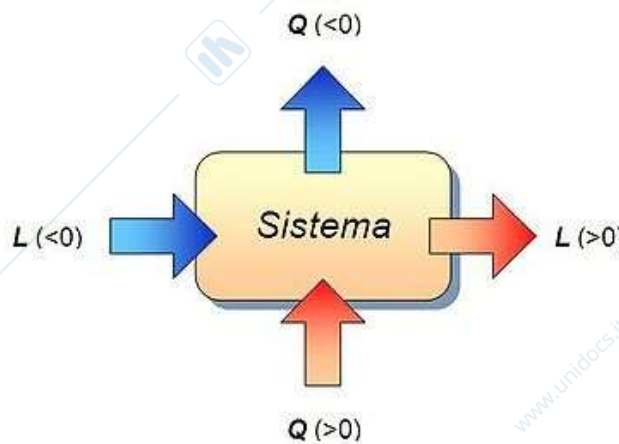
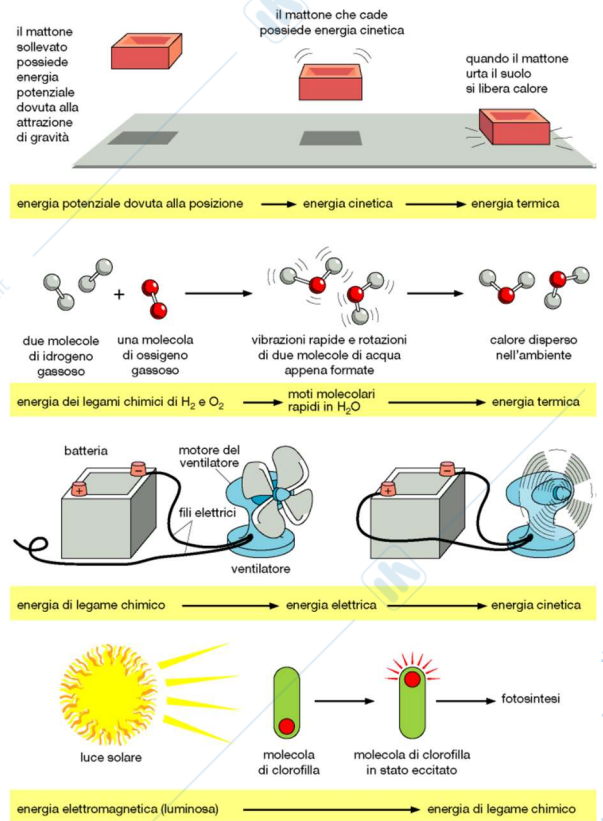
Non è possibile calcolare direttamente H, perciò:

$$\Delta H = \Delta E + \Delta(PV) = \text{circa } \Delta E$$

Circa  $\Delta E$  poiché le reazioni biologiche avvengono in genere con cambiamenti piccoli o nullo di pressione o di volume ( $\Delta P$  e  $\Delta V$  sono in genere uguali a zero). Il cambiamento di entalpia che accompagna le reazioni chimiche è la differenza di contenuto di calore tra i prodotti e i reagenti.

Se il contenuto di calore dei prodotti è inferiore a quello dei reagenti, viene rilasciato calore,  $\Delta H$  è negativo e la reazione viene detta ESOTERMICA (un esempio è la combustione della benzina). Se il contenuto di calore dei prodotti è maggiore di quello dei reagenti, viene assorbito calore,  $\Delta H$  è positivo e la reazione viene detta ENDOTERMICA (un esempio è un cubetto di ghiaccio che si scioglie).

Perciò il valore di  $\Delta H$  di una reazione è semplicemente una misura del calore che è liberato o assunto dalla reazione, in condizioni di temperatura e pressione costanti.



2. La prima legge della termodinamica non consente di predire se e in che misura il processo o la reazione avverranno in condizioni normali.

La SPONTANEITA' TERMODINAMICA misura se una reazione o un processo *può avvenire*. DIREZIONALE è una reazione, la cui reazione opposta non può avvenire (foglio di carta che brucia, cubetto di ghiaccio che si scioglie).

Non sempre però ci si può basare su esperienze precedenti per fare delle previsioni: quando si passa dal mondo dei processi fisici famigliari a quello delle reazioni chimiche nelle cellule è necessario disporre di un modo affidabile per determinare se un dato cambiamento fisico o chimico possa verificarsi in determinate condizioni, senza doversi basare sull'esperienza o sull'intuizione. → la termodinamica fornisce la misura della spontaneità di una reazione nella seconda legge della termodinamica.

## SECONDA LEGGE DELLA TERMODINAMICA

Afferma che: **in ogni cambiamento chimico o fisico, l'universo tende sempre verso il maggiore disordine o casualità (entropia)**. Essa consente di prevedere la direzione in cui procederà una reazione in determinate condizioni, la quantità di energia rilasciata dalla reazione e il modo in cui l'energetica della reazione sarà influenzata da specifici cambiamenti nelle condizioni. Nessun processo o reazione disobbedisce alla seconda legge della termodinamica.

La spontaneità termodinamica può essere misurata dai cambiamenti in uno dei seguenti parametri: entropia o energia libera.

## ENTROPIA

È la misura della casualità o del disordine. È indicata con il simbolo  $S$ , e in ogni sistema il cambiamento di entropia  $\Delta S$  rappresenta un cambiamento nel grado di casualità o di disordine delle componenti del sistema. La combustione della carta per esempio comporta un aumento dell'entropia perché gli atomi di carbonio, ossigeno e idrogeno sono distribuiti nello spazio in modo più casuale quando sono trasformati in anidride carbonica e acqua. Al contrario, l'entropia diminuisce quando un sistema diventa più ordinato, come accade quando le molecole mobili di acqua vengono immobilizzate nel ghiaccio.

Tutti i processi o reazioni che avvengono spontaneamente determinano un aumento dell'entropia totale dell'universo: il valore di  $\Delta S_{\text{universo}}$  è positivo per ogni processo spontaneo. È necessario però tenere presente che questa formulazione della seconda legge si riferisce all'universo nel suo complesso e potrebbe non essere adeguata per lo specifico sistema in esame: l'entropia può aumentare, diminuire o rimanere la stessa. Per questo motivo tale formulazione è di scarso valore per predire la spontaneità dei processi biologici (è molto più conveniente un parametro che consenta di predire la spontaneità considerando solo il sistema).

## ENERGIA LIBERA

Rappresenta la quantità di energia in un sistema che può compiere un lavoro utile a pressione e volume costanti. Rappresenta la misura della spontaneità nell'ambito del solo sistema ed è indicata con il simbolo  $G$  (da William Gibbs).

Per le reazioni biologiche a pressione, volume e temperatura costanti, il cambiamento di energia libera  $\Delta G$  dipende dall'energia libera dei prodotti e dei reagenti:

$$\Delta G = G_{\text{prodotti}} - G_{\text{reagenti}}$$

La variazione di energia libera è inoltre legata alla variazione di entalpia ed entropia:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

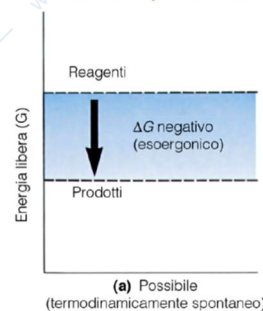
Il  $\Delta G$  fornisce esattamente una misura della spontaneità basata solo sulle proprietà del sistema in cui avviene una reazione: questo ci dice se una reazione avviene spontaneamente come è scritta da sinistra a destra. Ogni reazione spontanea è caratterizzata da una diminuzione dell'energia libera del sistema e da un aumento di entropia dell'universo.

- Le reazioni o processi che prevedono la diminuzione dell'energia libera del sistema, in cui cioè l'energia libera dei prodotti è minore dell'energia libera dei reagenti, prendono il nome di **ESOERGONICI**
- Le reazioni o processi che prevedono l'aumento dell'energia libera del sistema, in cui cioè l'energia libera dei prodotti è maggiore dell'energia libera dei reagenti, prendono il nome di **ENDOERGONICI**: questa tipologia richiede energia e per questo motivo non può procedere nelle condizioni per le quali si sta calcolando  $\Delta G$

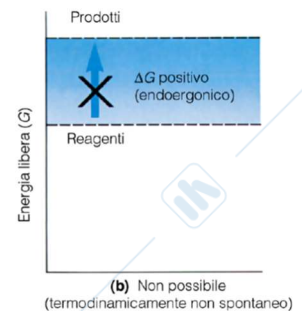
Poiché i valori di  $\Delta H$  e  $-T\Delta S$  possono essere sia negativi che positivi, il valore di  $\Delta G$  dipende dal segno e dal valore numerico di tali termini:

- Se entrambi i termini sono positivi, ossia la reazione è endotermica e accompagnata da una diminuzione di entropia,  $\Delta G$  sarà positivo e la reazione sarà endoergonica, e pertanto non spontanea
- Se una reazione è esotermica, ossia con  $\Delta H$  negativo, e accompagnata da un aumento di entropia, con  $\Delta S$  positivo e  $-T\Delta S$  negativo, avrà un  $\Delta G$  negativo e pertanto sarà una reazione esoergonica e spontanea

**$\Delta G$  è NEGATIVO**  
Reazione spontanea



**$\Delta G$  è POSITIVO**



## LE VIE METABOLICHE

Il **METABOLISMO** è l'insieme delle reazioni chimiche che avvengono nella cellula. Nel metabolismo si distinguono due fasi: il **CATABOLISMO** (comprendente tutte le reazioni di demolizione delle molecole fornite dall'ambiente sotto forma di sostanze nutritive) e l'**ANABOLISMO** (comprendente tutte le reazioni di sintesi delle macromolecole biologiche e il lavoro cellulare come il movimento, la divisione, il trasporto attraverso la membrana).

Le reazioni cataboliche sono reazioni esoergoniche in quanto avvengono con liberazione di parte dell'energia contenuta nei legami chimici delle molecole demolite. Queste reazioni spesso comportano l'idrolisi di macromolecole o ossidazioni biologiche. Nelle cellule svolgono due funzioni:

- Rilasciano l'energia libera necessaria per svolgere le funzioni cellulari
- Danno origine ai **METABOLITI**

Al contrario, le reazioni anaboliche sono reazioni endoergoniche, cioè avvengono con consumo di energia. Esempi ne sono la sintesi di polimeri, come amido e glicogeno dalle unità di glucosio, allo scopo di immagazzinare energia per usi futuri. Alcuni ormoni steroidei sono chiamati steroidi anabolizzanti perché stimolano la sintesi delle proteine del muscolo a partire dagli amminoacidi.

L'energia necessaria per tutte le reazioni deriva dall'energia chimica dei legami presenti nelle molecole delle sostanze alimentari o dall'energia radiante proveniente dal Sole.

Le reazioni del metabolismo sono spesso raggruppate in VIE METABOLICHE. Per via metabolica si intende una sequenza di reazioni controllate da ENZIMI, concatenate in modo tale che i prodotti di alcune di tali reazioni fungono da reagenti per altre. Le vie metaboliche principali sono la fotosintesi, attraverso la quale l'energia solare viene catturata e immagazzinata come energia chimica, e la GLICOLISI, completata dalla respirazione cellulare o dalla fermentazione, attraverso cui l'energia chimica viene estratta e resa disponibile alle cellule. La fotosintesi è svolta dagli organismi autotrofi (le piante, le alghe e alcuni batteri), che sono cioè in grado di produrre le proprie sostanze alimentari a partire da sostanze inorganiche semplici. Gli organismi eterotrofi, invece, per il loro fabbisogno alimentare dipendono dai materiali organici elaborati e sintetizzati dagli organismi autotrofi (sono organismi eterotrofi i funghi, gli animali e la maggior parte dei batteri). Esistono altre vie metaboliche, sfruttate soprattutto dai batteri, che utilizzano come fonti d'energia il metano (metanobatteri), composti dello zolfo (solfobatteri), dell'azoto (batteri nitrificanti) e del ferro (ferrobatteri).

### ENERGIA DI ATTIVAZIONE

Ogni reazione possiede una specifica ENERGIA DI ATTIVAZIONE, che è la quantità minima di energia che due molecole devono possedere prima che una loro possibile collisione dia luogo ad una reazione. È necessario che i reagenti raggiungano uno stato chimico intermedio detto STATO DI TRANSIZIONE, la cui energia libera è più elevata di quella dei reagenti iniziali.

La maggior parte delle cellule del nostro organismo si trova in uno STATO METASTABILE, ovvero non hanno energia sufficiente per superare la barriera dell'energia di attivazione. Questa condizione è necessaria: se non fosse per lo stato metastabile tutte le reazioni procederebbero velocemente verso l'equilibrio e la vita non esisterebbe. La vita, per questo motivo, dipende dalle elevate energie di attivazione, che impediscono il verificarsi della maggior parte delle reazioni cellulari a velocità elevate.

Affinchè questa barriera sia superata (quando è necessario), il contenuto energetico medio di tutte le molecole deve essere aumentato (immettendo calore nel sistema), oppure deve essere abbassata la richiesta di energia di attivazione.

### CATALIZZATORI

Un catalizzatore è un agente che aumenta la velocità di una reazione abbassando la richiesta di energia di attivazione. Esso non è permanentemente modificato o consumato al procedere della reazione, ma fornisce semplicemente una superficie e un ambiente appropriati per favorire la reazione.

Essi agiscono formando complessi transitori e reversibili con le molecole di substrato, legandosi ad essi in un modo che facilita la loro interazione e stabilizza lo stato di transizione intermedio.

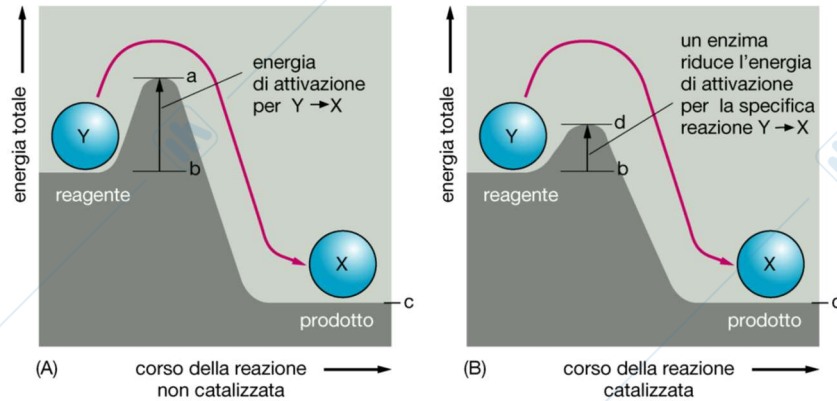
Quasi tutte le catalisi nelle cellule sono effettuate da molecole organiche, dette ENZIMI (proteine).

### ENZIMI

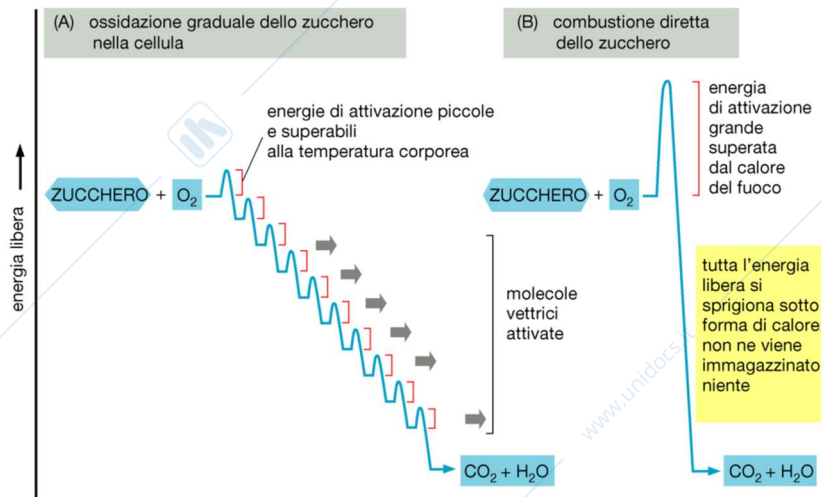
È una proteina altamente specializzata che interviene in qualità di catalizzatore nelle reazioni chimiche del metabolismo cellulare. Attualmente gli enzimi sono distinti in sei classi fondamentali, in base al tipo della reazione chimica catalizzata: ossido-riduttasi, transferasi, idrolasi, liasi, isomerasi, ligasi o sintetasi.

Ogni classe è a sua volta divisa in sottoclassi e queste in sottosottoclassi. Come le altre sostanze proteiche, gli enzimi possono essere suddivisi in proteine semplici e proteine coniugate: tale suddivisione è valida anche sotto il profilo funzionale, in quanto parte degli enzimi è capace di svolgere la propria funzione catalitica come semplice proteina; altri enzimi, invece, sono attivi solo quando si combinano con strutture non proteiche, dette coenzimi, che possono essere ioni metallici oppure strutture organiche più complesse.

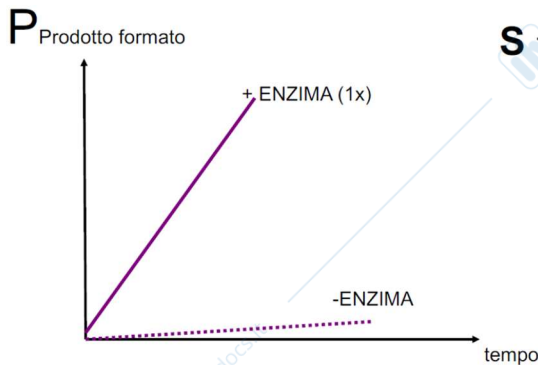
La funzione biologica degli enzimi è quella di ridurre l'energia di attivazione necessaria per dar vita alle trasformazioni metaboliche, e di permettere quindi lo svolgimento di attività chimiche cellulari che sarebbero altrimenti troppo dispendiose, in termini energetici.



Le reazioni biologiche non avvengono però in un unico momento, ma in modo lento e attraverso numerosi step, a partire dal citoplasma (processo di glicolisi), per arrivare fino al mitocondrio. Ogni sotto-reazione viene catalizzata da un diverso enzima e l'energia presente nei legami dello zucchero viene immagazzinata sottoforma di ATP (sia a livello della glicolisi che della respirazione cellulare). In questo modo la reazione risulta più efficiente e l'energia viene immagazzinata in molecole vettrici attivate.



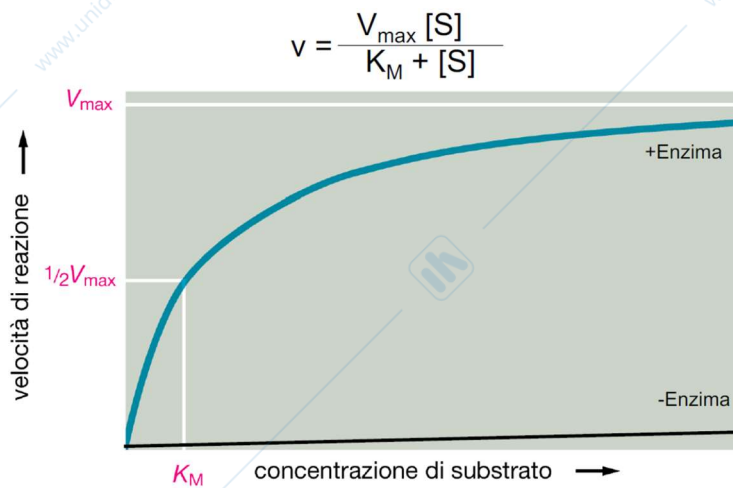
Gli enzimi aumentano la velocità delle reazioni, che dal punto di vista termodinamico sono possibili.



Indipendentemente dal substrato e dal prodotto, la velocità di una reazione si calcola misurando la quantità di prodotto finale che si produce nell'unità di tempo.

Se la reazione viene catalizzata dal suo specifico enzima, la reazione risulterà più veloce (linea viola).

La velocità di reazione è proporzionale alla quantità di enzima che funge da catalizzatore.



Questo grafico aiuta a valutare come varia la velocità di reazione se si aumenta la quantità di substrato all'interno della reazione. Ci permette di identificare il range di concentrazione nel quale uno specifico enzima funziona

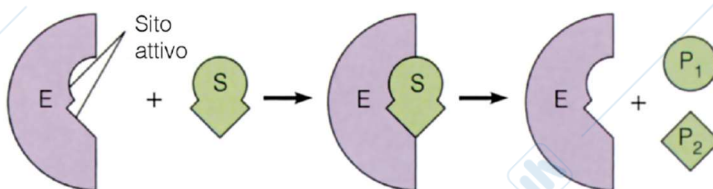
La relazione tra la velocità e la concentrazione del substrato è di tipo iperbolico: al tendere di S all'infinito, V tende ad un valore limite chiamato VELOCITA' MASSIMA.

In queste condizioni di reazioni, tutto l'enzima presente nella provetta di reazione è "occupato" in una reazione. Anche se si aumenta la quantità di substrato, le molecole di enzima presenti non possono produrre prodotto con una velocità maggiore. Il valore di  $V_{\max}$  può essere quindi aumentato aggiungendo una quantità maggiore di enzima.

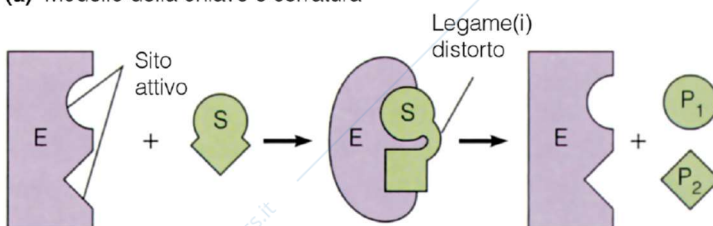
Quando l'aggiunta di substrato non produce un ulteriore incremento della velocità di reazione, si dice che la reazione è giunta a saturazione.

#### SITO ATTIVO

Ogni enzima contiene una serie di amminoacidi che formano il SITO ATTIVO, dove si lega il substrato e avviene l'evento catalitico. Questi amminoacidi non per forza si trovano l'uno di seguito all'altro nella struttura primaria: essi si ritrovano vicini quando la catena polipeptidica assume il suo caratteristico ripiegamento tridimensionale dato dalla struttura terziaria. Il sito attivo è in genere una tasca con proprietà chimiche e strutturali tali da permettere l'inserimento dei substrati con alta specificità. Alcuni enzimi contengono specifici cofattori non proteici che sono localizzati nel sito attivo e sono indispensabili per l'attività catalitica. Questi cofattori, chiamati GRUPPI PROSTETICI, sono conosciuti come COENZIMI, derivati da vitamine (importanza dell'assunzione delle vitamine nella dieta): essi fungono da accettori di elettroni, in quanto sono principalmente ioni carichi positivamente, e perché nessuna delle catene laterali degli amminoacidi del sito attivo è un buon accettore di elettroni.



(a) Modello della chiave e serratura



(b) Modello dell'adattamento indotto

Spesso, quando un substrato si lega al sito attivo, l'enzima cambia la propria conformazione e struttura per aderire meglio al substrato. Inoltre avviene la distorsione di alcuni legami interni del substrato, in modo tale da esporre maggiormente i reagenti durante l'azione catalitica.

Caratteristiche degli enzimi:

- Ogni enzima catalizza un solo tipo di reazione, come una idrolisi, una polimerizzazione
- Hanno la capacità di discriminare tra molecole molto simili. La reazione avviene a carico di un ristrettissimo numero di composti tra loro simili, detti substrato. Nella maggior parte dei casi, il substrato è rappresentato da un solo composto.
- Non sempre gli enzimi sono così specifici. Alcuni enzimi accettano sostanze tra loro correlate, purché queste posseggano un gruppo chimico comune. Riguarda soprattutto enzimi coinvolti nella sintesi o degradazione dei polimeri.  
Un esempio possono essere le PEPTIDASI, enzimi in grado di scindere il legame peptidico indipendentemente dagli amminoacidi presenti (come gli enzimi idrolitici dei lisosomi).

In generale gli enzimi sono molto specifici per quanto riguarda il substrato: la cellula deve quindi possedere tanti enzimi quasi quante sono le reazioni da catalizzare. Considerando tutte le cellule del nostro corpo, ogni secondo avvengono  $10^{24}$  reazioni.

Esempi di enzimi che sono in grado di scindere dei legami peptidici in modo specifico: la peptidasi del collagene (), le peptidasi di segnale (partecipano all'importo co-traduzionale delle proteine nel RE rugoso, hanno la funzione di eliminare la sequenza segnale della proteina importata), le peptidasi dei mitocondri (partecipano all'eliminazione della sequenza segnale delle proteine che entrano nel mitocondrio).

#### INIBITORI ENZIMATICI

Gli enzimi sono influenzati anche dai prodotti, da farmaci, da tossine e da regolatori (effettori allosterici). La maggior parte di queste sostanze ha un effetto inibitorio sull'attività enzimatica, riducendo la velocità di reazione o bloccando completamente la reazione.

L'inibizione dell'attività enzimatica è molto importante nelle cellule, in quanto svolge un ruolo essenziale come meccanismo di controllo. È utile anche nel meccanismo d'azione di farmaci e veleni, che spesso esercitano i loro effetti inibendo specifici enzimi (trattamento di alcune malattie).

Gli inibitori possono essere IRREVERSIBILI o REVERSIBILI:

- Un inibitore irreversibile si lega all'enzima in modo covalente, determinando una perdita irreversibile dell'attività catalitica (in genere questi tipi di inibitori sono tossici per la cellula).  
Esempi ne sono gli ioni di metalli pesanti, i gas nervini e alcuni insetticidi: queste sostanze si legano agli enzimi essenziali per la trasmissione degli impulsi nervosi, provocando una rapida paralisi delle funzioni vitali e alla morte. Alcuni inibitori possono essere utilizzati come agenti terapeutici: l'aspirina si lega all'enzima ciclo-ossigenasi-1 che produce prostaglandine e altri segnali chimici che causano infiammazione. L'aspirina è quindi capace di alleviare le infiammazioni minori e le cefalee. L'antibiotico penicillina è un inibitore irreversibile dell'enzima richiesto per la sintesi della parete cellulare dei batteri.
- Un inibitore reversibile si lega ad un enzima in modo non covalente. Le due forme più comuni sono dette inibitori competitivi e inibitori non competitivi.  
Un inibitore competitivo si lega direttamente al sito attivo di un enzima (compete direttamente con il substrato per lo stesso sito attivo), riducendo così l'attività enzimatica direttamente. Un inibitore non competitivo si lega invece alla superficie dell'enzima, inibendo l'attività enzimatica indirettamente, producendo un cambiamento nella conformazione della proteina che può o inibire il legame con il substrato o ridurre l'attività catalitica del sito attivo.

## REGOLAZIONE ENZIMATICA

L'attività enzimatica può essere regolata dalla cellula tramite i cambiamenti di concentrazione del substrato e degli enzimi: in quest'ultimo caso la cellula aumenta la trascrizione dello specifico gene che codifica per un determinato enzima (rendendo più efficiente la traduzione di questo particolare messaggero) in modo tale da aumentare la disponibilità di prodotto. Questo processo però non è abbastanza veloce ed efficiente. Esistono infatti dei meccanismi in grado di regolare e modulare l'attività di enzimi già presenti, di cui non si va a modificare la traduzione e la trascrizione: la modificazione covalente (fosforilazione e defosforilazione), la regolazione allosterica e la regolazione mediante taglio proteolitico.

## MODIFICAZIONE COVALENTE

In questo tipo di regolazione l'attività di un enzima è influenzata dall'aggiunta o dalla rimozione di specifici gruppi chimici, tramite legame covalente. Modificazioni comuni comprendono l'aggiunta di gruppi fosfato, di gruppi metile, di gruppi acetile o di derivati dei nucleotidi. L'effetto della modificazione è di attivare o inattivare l'enzima, o almeno di aumentarne o diminuirne l'attività.

## FOSFORILAZIONE E DEFOSFORILAZIONE

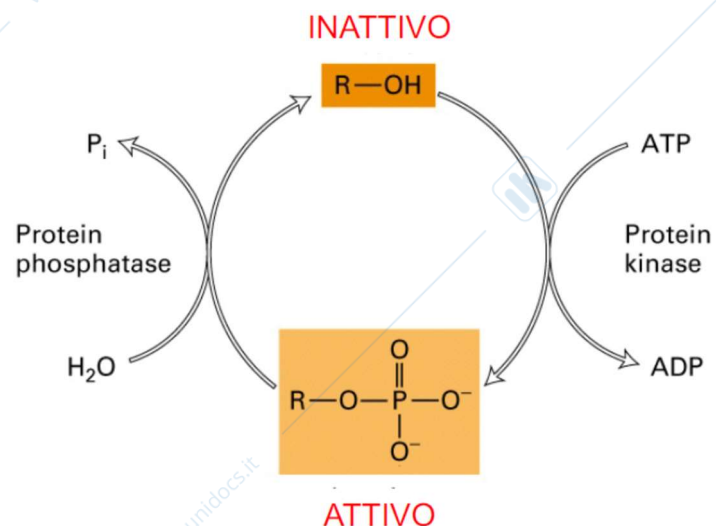
Una delle modifiche covalenti più frequenti avviene attraverso l'aggiunta reversibile di gruppi fosfato. Questo processo è detto FOSFORILAZIONE e avviene in genere per trasferimento del gruppo fosfato dall'ATP al gruppo ossidrilico di una serina, treonina o tirosina di una proteina (unici tre amminoacidi che presentano il gruppo ossidrilico). Gli enzimi che catalizzano la fosforilazione di altri enzimi (o di altre proteine) sono detti PROTEIN CHINASI. A seconda dell'enzima, la fosforilazione può attivare o inibire l'attività enzimatica.

L'opposto di questo processo è detto DEFOSFORILAZIONE, essa comporta la rimozione di un gruppo fosfato da una proteina fosforilata ed è catalizzata da enzimi detti PROTEIN FOSFATASI.

Fosforilazione e defosforilazione sono la chiave di moltissimi processi in quanto permettono di avere a disposizione, quasi immediata, enzimi attivi quando c'è la necessità (e di inattivarli quando non c'è la necessità). In assenza di chinasi e fosfatasi, quando si produce una proteina (trascrizione e traduzione), l'attività dell'enzima aumenta lentamente e rimane elevata anche quando il processo è terminato.

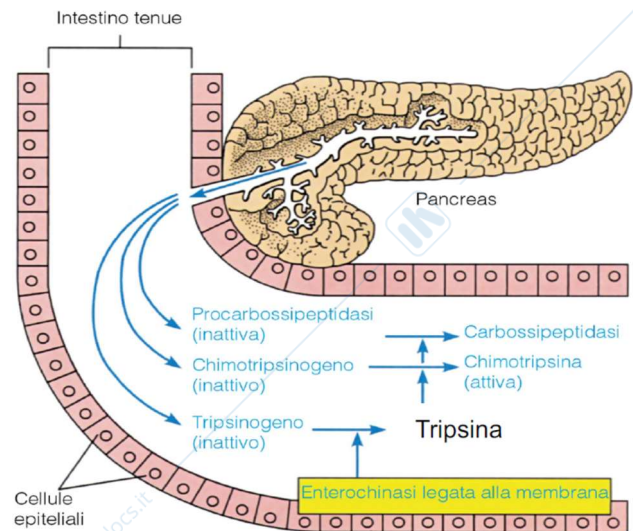
Nelle cellule muscolari, l'enzima fornisce il glucosio come fonte energetica per la contrazione muscolare e nel fegato rende disponibile il glucosio per la secrezione affinché venga mantenuto un livello costante di glucosio nel sangue.

La glicogeno-fosforilasi (formata da due forme interconvertibili, una attivata detta fosforilasi A, e una inattiva detta fosforilasi B) degrada il glicogeno mediante rimozioni successive di unità di glucosio sotto forma di glucosio-1-fosfato: quando nella cellula è richiesta la degradazione del glicogeno, la forma inattiva B dell'enzima è trasformata nella forma attiva A mediante l'aggiunta di un gruppo fosfato a una particolare serina su ciascuna delle due subunità della molecola fosforilasi. La reazione è catalizzata dalla fosforilasi chinasi. Quando non è più necessaria la demolizione del glicogeno, i gruppi fosfato vengono rimossi dalla fosforilasi A dell'enzima fosforilasi fosfatasi.



## TAGLIO PROTEOLITICO

Un altro tipo di attivazione covalente degli enzimi si basa sulla rimozione irreversibile di una parte della catena polipeptidica tramite uno specifico ENZIMA PROTEOLITICO (che degrada le proteine). Questo tipo di modificazione può essere spiegata tramite gli enzimi proteolitici del pancreas: la TRIPSINA, la CHIMOTRIPSINA e la CARBOSSIEPTIDASI (tutti enzimi digestivi). Questi enzimi, dopo essere stati sintetizzati nel pancreas, sono secreti in forma inattiva nel duodeno dell'intestino tenue in risposta ad uno stimolo ormonale. Queste proteasi possono degradare quasi tutte le proteine ingerite nei singoli aminoacidi liberi, che possono essere quindi assorbiti dalle cellule epiteliali dell'intestino.



Le proteasi pancreatiche non sono sintetizzate nella loro forma finale attiva, in quanto causerebbe problemi alle cellule del pancreas: sono infatti sintetizzate nella forma inattiva, leggermente più lunga, detta ZIMOGENO. Per esempio, la TRIPSINA è inizialmente sintetizzata sotto forma di TRIPSINOGENO: quando il tripsinogeno raggiunge il duodeno, viene a contatto con un pH acido, dovuto al contenuto acido dello stomaco. Questa riduzione di pH causa a) la rimozione di sei aminoacidi dalla sua estremità N-terminale per azione dell'ENTEROPEPTIDASI, una proteasi/proteina di membrana legata alla membrana apicale dell'intestino tenue e con il dominio catalitico rivolto verso il lume, e b) la successiva ATTIVAZIONE dello zimogeno. La tripsina così generata, a sua volta, attiva altri zimogeni mediante specifici tagli proteolitici.

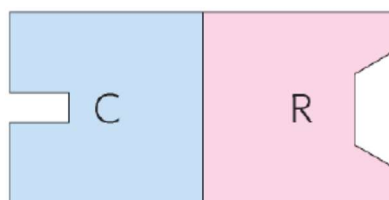
## REGOLAZIONE ALLOSTERICA

Gli ENZIMI ALLOSTERICI sono enzimi che hanno la proprietà di poter esistere in due forme diverse (quando sottoposte a regolazione allosterica): nella prima forma l'enzima ha una bassa affinità con il suo substrato, producendo un'attività catalitica bassa o nulla, nella seconda forma ha un'alta affinità con il suo substrato e ciò si traduce in un'elevata attività. Queste due forme sono facilmente interconvertibili tra loro.

Il fatto che sia favorita la forma attiva o inattiva dipende dalla concentrazione cellulare della sostanza regolatoria, chiamata EFFETTORE ALLOSTERICICO. Esso influenza l'attività di un enzima legandosi a una delle due forme interconvertibili:

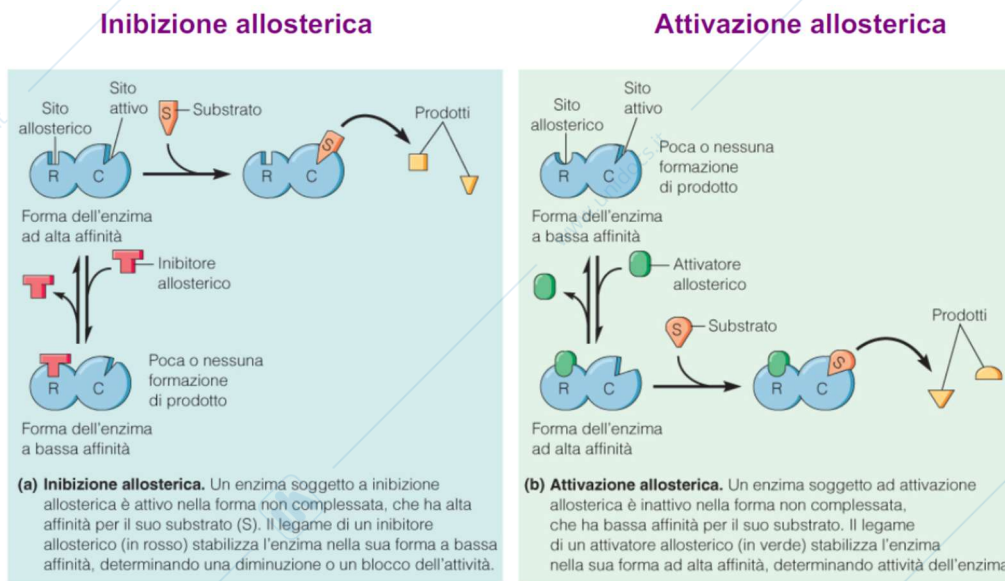
- Se l'enzima è nella forma inattiva, l'effettore lo stabilizza nella sua forma ad alta attività (ATTIVAZIONE ALLOSTERICA, aumento dell'attività)
- Se l'enzima è nella forma attiva, l'effettore lo stabilizza nella sua forma a bassa affinità (INIBIZIONE ALLOSTERICA, diminuzione o blocco dell'attività)

Nell'enzima sono sostanzialmente presenti due domini funzionali (regione di una proteina che svolge una specifica funzione): il primo presenta il sito catalitico, in cui avviene l'attività catalitica, mentre il secondo ha una funzione regolatoria.

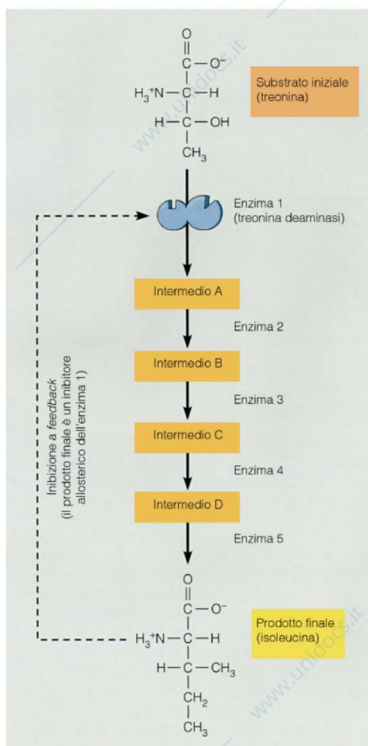


**ATTIVAZIONE ALLOSTERICA** (regolazione allosterica positiva) → nel caso di un enzima allosterico nella forma iniziale inattiva, il sito attivo dell'enzima non è in grado di legare il substrato finché al sito regolatorio non si lega l'effettore (attivatore allosterico): il legame con l'effettore causa una modifica alla struttura tridimensionale e quaternaria della proteina, in grado così di modificare la conformazione del sito attivo per accettare il substrato.

**INIBIZIONE ALLOSTERICA** (regolazione allosterica negativa) → nel caso di un enzima allosterico nella forma iniziale attiva, il sito attivo dell'enzima è sempre in grado di legare il substrato. Quando l'attività di un particolare enzima allosterico non è più necessaria, al sito regolatorio si lega l'effettore (inibitore allosterico): questo causa una modifica alla struttura tridimensionale e quaternaria della proteina, in grado così di modificare la conformazione del sito attivo per non poter accettare più il substrato.



Un esempio di inibizione allosterica, è l'INIBIZIONE A FEEDBACK (esistono processi anche all'opposto):



Se potesse procedere a velocità costante e senza limitazioni, la catena metabolica potrebbe trasformare grandi quantità dell'amminoacido TREONINA nell'amminoacido ISOLEUCINA, con possibili effetti negativi derivanti dall'esaurimento di A o da un accumulo eccessivo del prodotto P.

L'interesse della cellula è far funzionare le vie metaboliche ad una velocità commisurata all'esigenza cellulare di P: analogamente ad un sistema di riscaldamento che deve risentire della temperatura nella stanza, gli enzimi di questa via metabolica devono risentire del livello di P.

In questo caso, il primo enzima della catena metabolica, la TREONINA DEAMINASI, è regolato dalla concentrazione di ISOLEUCINA nella cellula. Se la cellula utilizza isoleucina (in genere per sintetizzare proteine), la concentrazione si abbasserà e la cellula ne avrà ulteriormente bisogno: in queste condizioni la treonina deaminasi è attiva e la via metabolica funziona. Se diminuisce la richiesta di isoleucina, questa inizierà ad accumularsi nella cellula: l'aumento della sua concentrazione, fino ad una specifica quantità, permette all'isoleucina di diventare l'inibitore stesso della treonina deaminasi, la quale si legherà al sito regolatorio bloccando la via metabolica.

