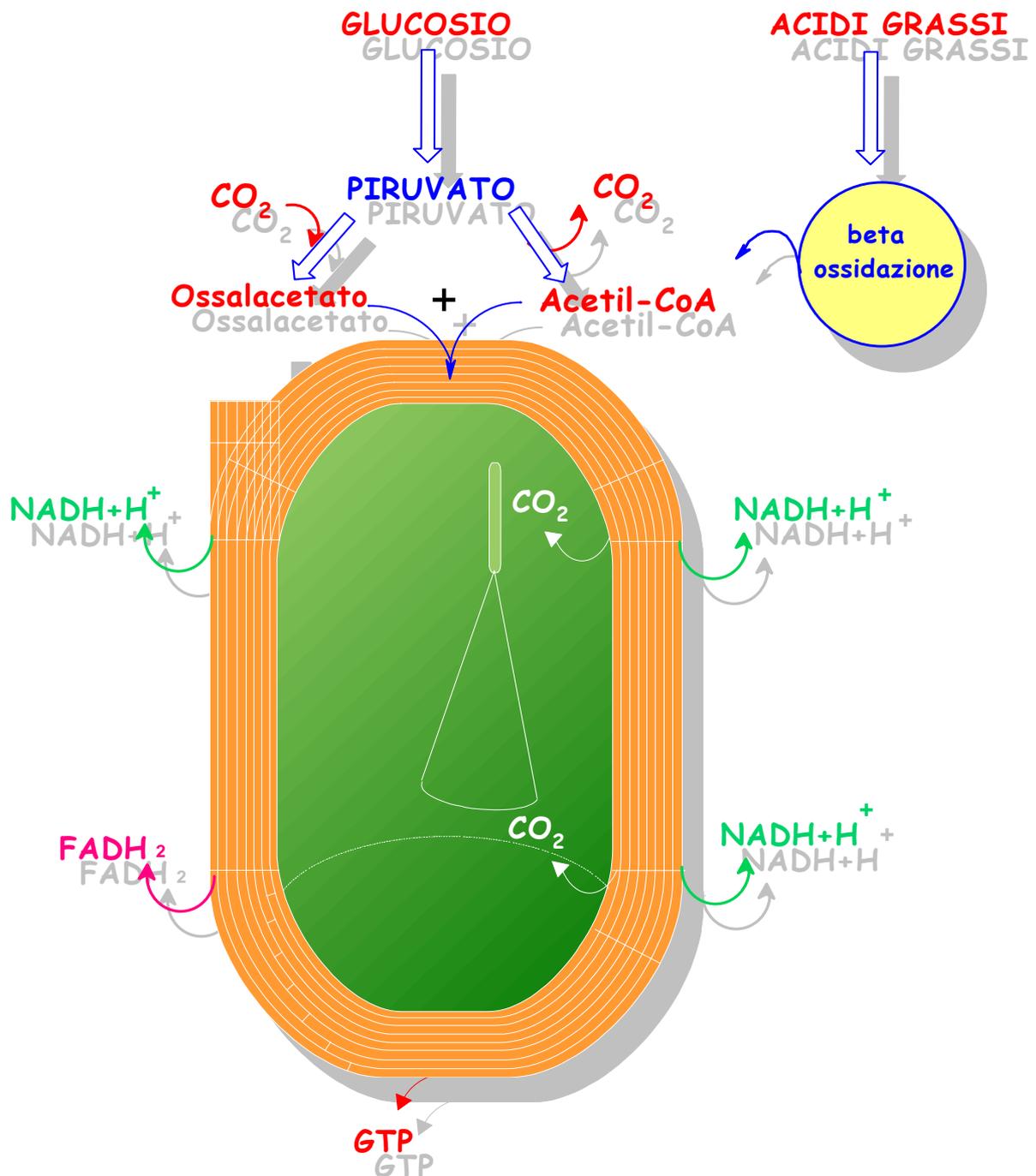


LEZIONI DI BIOCHIMICA

Docente: Prof D.F. Condorelli



a cura di D.F. Condorelli e R. Garozzo

versione marzo 2007

INDICE

Capitolo I: Introduzione al metabolismo

1. *Cenni elementari di termodinamica chimica*
2. *Catalizzatori ed enzimi*
3. *ATP: la principale fonte diretta di energia chimica nei processi biologici*
4. *Definizione di metabolismo*
5. *Le reazioni di ossido-riduzione*
6. *Struttura e funzioni del NAD*
7. *Struttura e funzioni del FAD*
8. *Meccanismi di sintesi dell'ATP*

Capitolo II: Glicolisi

1. *Definizione di zuccheri o glucidi*
2. *Il trasporto del glucosio attraverso le membrane cellulari*
3. *Glicolisi: fasi e reazioni*
4. *La glicolisi anaerobica e la riduzione del piruvato a lattato*
5. *Bilancio energetico della glicolisi*
6. *Schema riepilogativo della glicolisi*

Capitolo III: Decarbossilazione ossidativa del piruvato e Ciclo di Krebs

1. *Il mitocondrio*
2. *Destini metabolici del piruvato (nell'uomo)*
3. *Decarbossilazione ossidativa del piruvato*
4. *Il Coenzima A (CoA): struttura e funzione*
5. *Schema Generale del Ciclo di Krebs*
6. *Le 8 reazioni del Ciclo di Krebs*
7. *Bilancio energetico del ciclo di Krebs*
8. *Il significato catalitico del ciclo di Krebs*
9. *Convergenza delle principali vie metaboliche nel ciclo di Krebs*

Capitolo IV: Catena di trasporto degli elettroni mitocondriale e fosforilazione ossidativa

- 1. La riossidazione del NAD ridotto e la sintesi di ATP*
- 2. Il potenziale di ossido-riduzione standard*
- 3. I componenti della catena respiratoria*
- 4. Il complesso II e gli altri punti di ingresso della catena respiratoria*
- 5. La fosforilazione ossidativa e la teoria chemiosmotica*
- 6. ATP sintasi o F_0F_1 ATPasi*
- 7. Il rapporto P:O*
- 8. Controllo respiratorio*
- 9. Inibitori e disaccoppianti*
- 10. Proteine disaccoppianti*
- 11. Il genoma mitocondriale*
- 12. La teoria dell'origine endosimbiotica dei mitocondri*

Capitolo V: I radicali liberi

- 1. Introduzione*
- 2. Riduzione completa dell'ossigeno*
- 3. Le forme parzialmente ridotte dell'ossigeno*
- 4. Formazione dei radicali liberi nei mitocondri e negli eritrociti*
- 5. Reazioni chimiche innescate dall'anione superossido nei tessuti: la dismutazione, la reazione di Haber Weiss, la reazione di Fenton*
- 6. Reazioni innescate dal radicale idrossile nelle membrane cellulari: la lipoperossidazione*
- 7. Sistemi di difesa enzimatici*
- 8. La vitamina E*
- 9. I radicali liberi nei processi infiammatori*

Capitolo VI : Il glicogeno

- 1. I polisaccaridi*
- 2. L'amido*
- 3. Il glicogeno*
- 4. I depositi di glucosio in forma di glicogeno e la pressione osmotica intracellulare*
- 5. Distribuzione tissutale del glicogeno e significato funzionale*
- 6. Glicogenosintesi*
- 7. Glicogenolisi*
- 8. Schema riepilogativo*

9. *Regolazione della glicogenolisi*
10. *Schema del sistema dell'AMP ciclico e della cascata delle reazioni protein chinasiche nella regolazione della glicogenolisi*
11. *Le attività della glicogeno sintasi e della glicogeno fosforilasi sono regolate in modo speculare*

Capitolo VII: La gluconeogenesi

1. *Definizione di gluconeogenesi epatica*
2. *Reazioni della gluconeogenesi*
3. *Bilancio energetico della gluconeogenesi da piruvato*
4. *Gluconeogenesi da lattato*
5. *Ciclo Lattato-Glucosio (Muscolo – Fegato, Eritrocita-Fegato)*
6. *Significato funzionale della gluconeogenesi durante il digiuno*
7. *Gluconeogenesi da glicerolo*
8. *Gluconeogenesi da aminoacidi e cenni sul catabolismo ossidativo degli aminoacidi*
9. *Relazione fra gluconeogenesi e ciclo di Krebs negli epatociti*
10. *Aminoacidi essenziali*

Capitolo VIII: Digestione, assorbimento e trasporto ematico dei lipidi

1. *Digestione dei lipidi*
2. *Assorbimento degli acidi grassi e dei trigliceridi*
3. *Il trasporto dei lipidi*
4. *Apporto alimentare, attività fisica e lipoproteine plasmatiche*

Capitolo IX: Catabolismo lipidico: β -ossidazione degli acidi grassi e lipolisi

1. *Gli acidi grassi*
2. *Attivazione degli acidi grassi*
3. *Il sistema della carnitina ed il trasporto mitocondriale degli acil-CoA*
4. *Le reazioni della β -ossidazione degli acidi grassi*
5. *Bilancio energetico della beta-ossidazione dell'acido palmitico*
6. *Catabolismo dei trigliceridi nel tessuto adiposo: la lipolisi*
Scheda di approfondimento: perossisomi e β -ossidazione perossisomale

Capitolo X: Sintesi degli acidi grassi (lipogenesi)

1. *Sintesi degli acidi grassi*
2. *Allungamento della catena dell'acido grasso*
3. *Desaturazione degli acidi grassi*
4. *Acidi grassi essenziali*
5. *Biosintesi dei trigliceridi*
6. *Funzione di riserva energetica dei trigliceridi*
7. *Distribuzione del grasso corporeo: grasso essenziale e grasso di deposito*
Scheda di approfondimento: Biosintesi degli acidi grassi

Capitolo XI: Metabolismo e funzione della creatina

1. *Struttura della creatina*
2. *Sintesi della creatina*
3. *Fosfocreatina*
4. *Tamponamento energetico temporale della fosfocreatina*
5. *Tamponamento energetico spaziale della fosfocreatina*
6. *Gli isoenzimi della creatina chinasi citosolica*
7. *Conversione della creatina in creatinina*
8. *Schema del metabolismo della creatina*
9. *Integrazione alimentare di creatina*

Capitolo XII: Biochimica dell'esercizio fisico

1. *Le fonti energetiche della contrazione muscolare: meccanismi anaerobici alattacidi, meccanismi anaerobici lattacidi, meccanismi aerobici*
2. *Potenza, capacità e resa energetica delle vie metaboliche coinvolte nella sintesi di ATP*
3. *Equilibrio acido-base ed acido lattico*
4. *La famiglia dei trasportatori per i monocarbossilati (MonoCarboxylate Transporter: MCT)*
5. *La produzione di lattato durante lo sforzo muscolare e la soglia anaerobica*
6. *La produzione di acido lattico nel singolo muscolo*
7. *Potenza e capacità lattacida*
8. *Debito di Ossigeno*
9. *Utilizzazione del lattato*
10. *Equivalente calorico degli alimenti*
11. *Il quoziente respiratorio*

Appendice 1: *Richiami di Chimica generale*

Appendice 2: *Richiami di Chimica organica*

Capitolo I

Introduzione al metabolismo

- 1) Cenni elementari di termodinamica chimica
- 2) Catalizzatori ed enzimi
- 3) ATP: la principale fonte diretta di energia chimica nei processi biologici
- 4) Definizione di metabolismo
- 5) Le reazioni di ossido-riduzione
- 6) Struttura e funzioni del NAD
- 7) Struttura e funzioni del FAD
- 8) Meccanismi di sintesi dell'ATP

1) Cenni elementari di termodinamica chimica

Energia Libera: *energia che può essere utilizzata per compiere un lavoro.*

In un processo a temperatura e pressione costante, una trasformazione è possibile solo se porta ad una diminuzione dell'energia libera del sistema in esame.

Affinché una reazione chimica possa aver luogo l'energia libera (**G**) basale delle molecole che vanno incontro alla reazione (reagenti R) deve essere superiore a quella posseduta dalle molecole che si producono nella reazione (prodotti P).

Come si calcola la variazione di ENERGIA LIBERA (G) di una reazione

$$G \text{ prodotti (P)} - G \text{ reagenti (R)} = \Delta G \text{ (variazione di energia libera)}$$

$$G(P) - G(R) = \Delta G$$

$\Delta G < 0$ la reazione decorre spontaneamente da sinistra a destra

$\Delta G = 0$ la reazione è all'equilibrio (la quantità di R che si trasforma in P è uguale alla quantità di P che si trasforma in R nella stessa unità di tempo)

$\Delta G > 0$ la reazione decorre spontaneamente da destra a sinistra

L'energia libera dei reagenti e dei prodotti dipende sia dalla loro struttura molecolare che dalle loro concentrazioni. Quando il ΔG viene calcolato a concentrazioni unitarie (1 molare) di reagenti e prodotti si parla di variazione di energia libera standard (ΔG°). In biochimica si usa la variazione di energia libera standard a pH 7 ($\Delta G^{\circ'}$).

Ciascuna reazione chimica ha un caratteristico $\Delta G^{\circ'}$. In biochimica i valori di $\Delta G^{\circ'}$ sono espressi in kcal per mole. La caloria, l'unità di energia più usata in biologia, è

definita come la quantità di energia (calore) che può aumentare la temperatura di 1 g di acqua a 15°C di 1°C.

Quando il ΔG° di una reazione è **negativo** la reazione è **esoergonica** o termodinamicamente spontanea o possibile, in quanto il raggiungimento del suo stato finale (prodotti) non richiede apporto di energia. Quando il ΔG° di una reazione è **positivo** la reazione è **endoergonica**, quindi termodinamicamente non spontanea, e necessita di apporto energetico per decorrere da sinistra a destra.

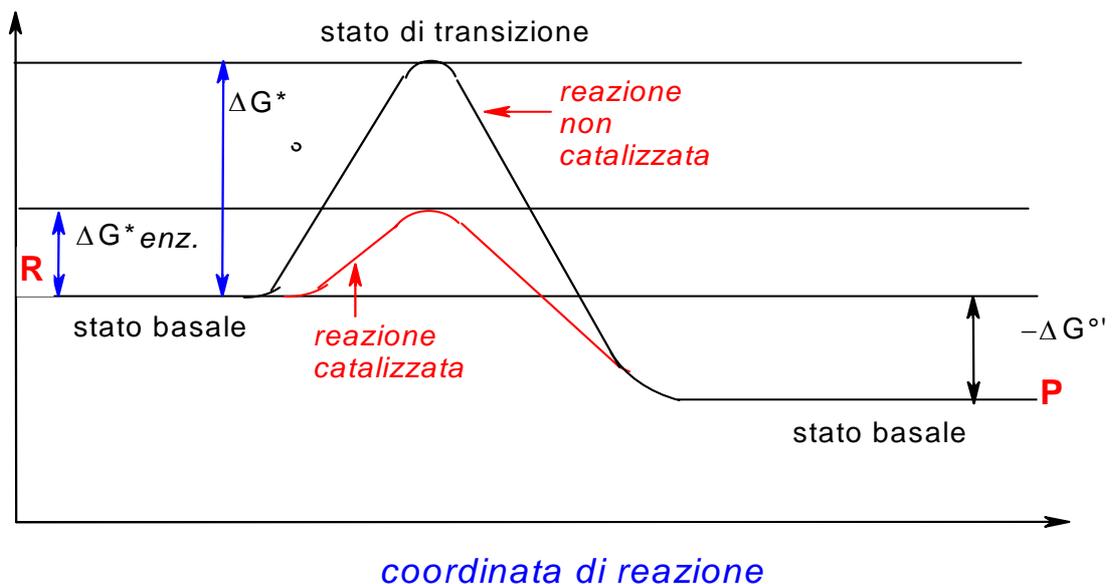
Un elevato valore negativo di ΔG° non fornisce, però, indicazioni sulla velocità di reazione. Una reazione può essere **termodinamicamente spontanea** (ΔG° **negativo**), ma decorrere ad una **velocità così lenta** a temperatura corporea da essere incompatibile con i bisogni fisiologici. La velocità (cinetica chimica) di alcune reazioni termodinamicamente spontanee può essere così lenta da essere trascurabile rispetto alla durata della vita umana. Tali reazioni sono **termodinamicamente possibili, ma cinematicamente impossibili**. Eppure tali reazioni decorrono nel nostro organismo a velocità elevata. Ciò è possibile grazie all'esistenza di catalizzatori biologici, detti **enzimi**, che accelerano la velocità delle reazioni.

2) Catalizzatori ed enzimi

Nella reazione mostrata nel grafico seguente, l'energia libera dei prodotti (P) (indicata in ordinata) è più bassa dell'energia libera dei reagenti (R): la variazione di energia libera è dunque negativa ($\Delta G < 0$) e la reazione è possibile dal punto di vista termodinamico. Tuttavia una seconda condizione da soddisfare per consentire il decorso di una reazione chimica è che le molecole reagenti raggiungano il livello energetico dello **stato di transizione** (vedi grafico). Definiamo **energia di attivazione** di una reazione la quantità di energia che bisogna fornire al sistema perché esso raggiunga il livello energetico dello stato di transizione (indicata come ΔG^* in figura). Quanto più bassa è l'energia di attivazione, tanto maggiore sarà la probabilità che le molecole reagenti raggiungano il livello energetico dello stato di transizione e tanto maggiore sarà la velocità di reazione. Quindi la velocità di una reazione (numero di molecole trasformate nell'unità di tempo) dipende dal valore dell'energia di attivazione e non dal ΔG° .

La maggior parte delle reazioni termodinamicamente possibili si svolge con estrema lentezza in quanto la maggior parte delle molecole reagenti non è in grado di raggiungere lo stato di transizione per carenza dell'energia necessaria. Un **catalizzatore** è in grado di accelerare una reazione chimica abbassando l'energia di attivazione (linea rossa nel grafico e ΔG^* enz.).

energia libera (G)



Un **catalizzatore** è un composto chimico che ha le seguenti proprietà:

- 1) accelera la velocità di una reazione chimica
- 2) nella reazione non compare né tra i reagenti né tra i prodotti
- 3) non viene consumato durante la reazione
- 4) non sposta l'equilibrio della reazione e non modifica il ΔG .
- 5) è usato in quantità minime, non in quantità stechiometriche
- 6) agisce diminuendo l'energia di attivazione

Gli enzimi sono dei catalizzatori biologici. Dal punto di vista strutturale sono delle **proteine** (anche se oggi conosciamo delle molecole di RNA ad attività catalitica, dette ribozimi).

DEFINIZIONE DI ENZIMA: biocatalizzatore specifico di natura proteica

Si denominano **substrati** le sostanze che vengono trasformate nella reazione enzimatica e **prodotti** della reazione quelle che si formano.

Il meccanismo di azione degli enzimi è basato sulla formazione transitoria di legami con i substrati, cioè sulla formazione del cosiddetto **complesso enzima-substrato**.



L'enzima entra nella reazione combinandosi con il substrato per formare il complesso ES. Questo si trasforma nel complesso EP che quindi si dissocia nel

prodotto di reazione P rilasciando l'enzima E allo stato libero. Grazie a questo continuo riciclaggio gli enzimi sono attivi in piccolissime quantità.

Il sito **attivo**, o sito catalitico, di un enzima è la regione della sua molecola che interagisce specificamente con il substrato.

La specificità del sito attivo è stata simbolizzata dal concetto della “chiave-serratura”, che esprime l'adattamento perfetto del substrato al sito attivo. Attualmente si ritiene che tale adattamento non sia di tipo rigido, ma che il sito attivo si adatti al substrato mediante un cambiamento di conformazione che è indotto dal legame iniziale con il substrato stesso (teoria dell'adattamento indotto).

Nomenclatura enzimatica.

La denominazione degli enzimi viene fatta aggiungendo il suffisso **-asi** al nome che indica la reazione catalizzata; questo termine è preceduto dal nome del substrato.

Esempio: lattato deidrogenasi.

Gli enzimi sono stati raggruppati da una Commissione Internazionale in 6 classi:

CLASSI	AZIONE CATALITICA
<i>1) ossidoreduttasi</i>	reazioni di ossido-riduzione
<i>2) trasferasi</i>	trasferimento di gruppi atomici (es: transaminasi)
<i>3) idrolasi</i>	rottura di legami per mezzo dell'acqua (esterasi-fosfatasi-proteasi)
<i>4) liasi</i>	Rottura non idrolitica e formazione di legami covalenti (aldolasi)
<i>5) isomerasi</i>	reazioni di isomerizzazione
<i>6) ligasi</i>	formazione di legami accoppiati all'idrolisi dell'ATP (sintetasi e carbossilasi)

Isoenzimi

Gli isoenzimi sono enzimi esistenti in forme molecolari diverse che tuttavia catalizzano la stessa reazione. Un tipico esempio è l'enzima *lattato deidrogenasi* di cui si parlerà in dettaglio nel capitolo II.

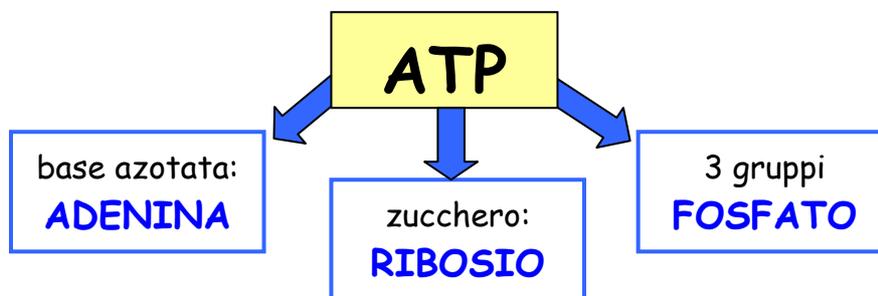
3) ATP: la principale fonte diretta di energia chimica nei processi biologici.

L'ATP è un nucleotide.

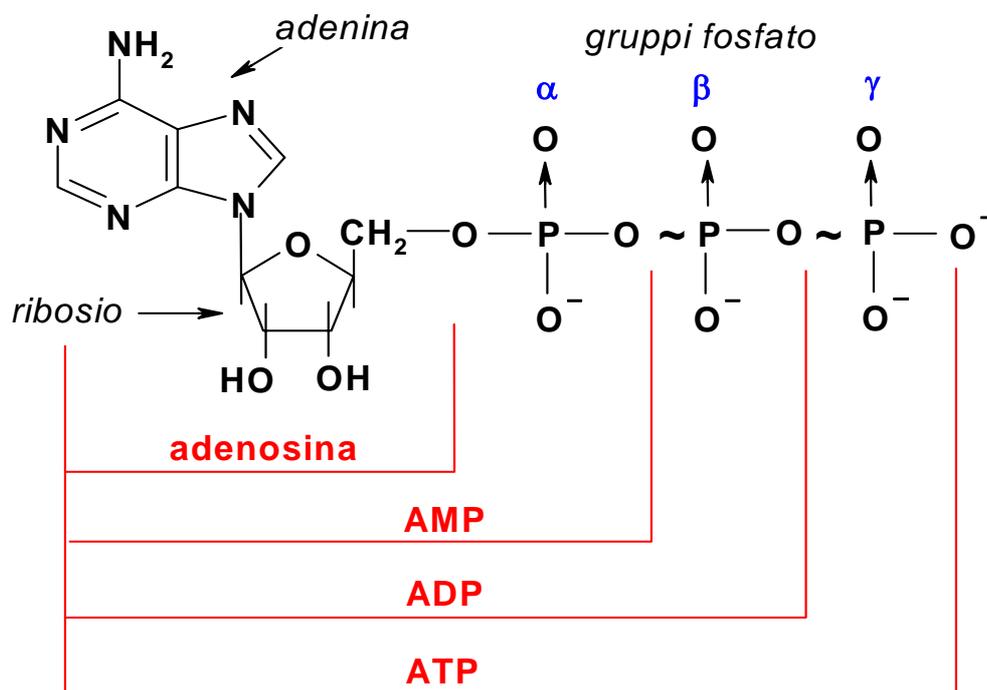
In generale un **nucleotide** è formato da una base azotata eterociclica (purinica o pirimidinica), da uno zucchero (ribosio o deossiribosio) e da uno o più fosfati. Vengono detti **nucleosidi** i composti che si ottengono dall'unione (con legame N-glicosidico) tra la base azotata e il ribosio (ribonucleosidi) o il deossiribosio (deossiribonucleosidi).

Gli esteri fosforici dei nucleosidi sono i nucleotidi.

L' ATP è formato da:



L'adenina e il ribosio formano l'**adenosina**, che è un nucleoside. L'adenosina più un **fosfato** forma una molecola di **AMP (adenosin monofosfato)** o **acido adenilico**. L'**AMP** può legare un altro **fosfato** diventando **ADP (adenosin difosfato)**. Una molecola di **ADP** può legare un altro fosfato diventando **ATP (adenosin trifosfato)**.



I tre fosfati dell'ATP vengono indicati con le lettere dell'alfabeto greco: **alfa** (quello legato al ribosio), **beta** e **gamma** gli altri due (beta il fosfato intermedio e gamma il fosfato terminale). Mentre il residuo fosforico alfa è legato al ribosio con legame estereo, i residui beta e gamma sono legati fra loro, e con l'alfa, mediante legami anidridici. Il legame tra il fosfato alfa ed il fosfato beta ed il legame tra il fosfato beta ed il fosfato gamma sono indicati con il simbolo ~ (**legame ad alta energia**). Il distacco idrolitico dei fosfati beta e gamma libera 7,5 kcal per mole (mentre il distacco del fosfato alfa ne libera solo 3,5).

L'ATP è un tipico esempio di un *composto ad elevato contenuto energetico o ad alta energia*.

Possiamo dire che la reazione di distacco idrolitico del fosfato gamma dell'ATP decorre con una elevata variazione negativa di energia libera:



Nelle reazioni il fosfato inorganico è stato indicato con P_i.

Come vedremo l'energia liberata nel corso di questa reazione verrà utilizzata in numerosi processi biologici per compiere diverse forme di lavoro.

Anche il distacco idrolitico del fosfato beta dell'ADP decorre con una elevata variazione negativa di energia libera:



In realtà le cellule utilizzano l'energia chimica contenuta nella molecola dell'ADP per sintetizzare ATP mediante la seguente reazione:



Si osserva il trasferimento di un fosfato beta dell'ADP ad un'altra molecola di ADP con formazione di ATP ed AMP.

La reazione è catalizzata dall'enzima adenilato chinasi o **miochinasi**.

Il distacco idrolitico del fosfato alfa dell'AMP decorre con una variazione negativa di energia libera di 3,5 kcal/mole e l'AMP non è considerato un composto ad alta energia.



Una molecola sarà definita un "composto ad alta energia" se la reazione di rottura idrolitica di uno specifico legame decorre con una variazione negativa di energia libera superiore a 7,5 kcal/mole.

Esistono composti biologici che hanno una energia più elevata di quella dell'ATP, infatti in una scala energetica l'ATP assume una posizione intermedia:

Variazione dell'energia libera standard in alcuni composti di interesse biologico		
Composto	Legame	ΔG° (kcal/mole)
fosfoenolpiruvato	<i>estereo</i>	-15
1,3-bisfosfoglicerato	<i>anidridico</i>	-12
fosfocreatina	<i>N-fosforico</i>	-10,3
acetil-CoA	<i>tioestereo</i>	-8,2
ATP	<i>anidridico</i>	-7,5
ADP	<i>anidridico</i>	-7,5
AMP	<i>estereo</i>	-3,4
glucosio-6-fosfato	<i>estereo</i>	-3,5

4) Definizione di metabolismo.

L'insieme di tutte le reazioni chimiche che hanno luogo in un organismo vivente.

Il metabolismo si divide in:

- **CATABOLISMO** (degradazione di molecole biologiche)
- **ANABOLISMO** (sintesi di molecole biologiche)

Le reazioni cataboliche sono generalmente di natura ossidativa, producono energia ed alcune di esse sono accoppiate alla **sintesi di ATP**.

Le reazioni anaboliche sono generalmente di natura riduttiva e richiedono energia (**consumo di ATP**).

Questa suddivisione è una semplificazione didattica e spesso le stesse reazioni metaboliche hanno significato catabolico o anabolico a seconda dell'integrazione funzionale in una complessa rete metabolica.

Si definisce **via metabolica** una serie di reazioni chimiche sequenziali dove il prodotto di una reazione è il substrato della reazione successiva. Ogni tappa di una via metabolica è catalizzata da un enzima, per cui ogni via metabolica risulta dall'attività sequenziale di una serie di enzimi che operano "in catena".

Cominceremo ad esaminare le reazioni del catabolismo ossidativo che permette di utilizzare l'energia contenuta negli alimenti per la sintesi dell'ATP. A tale scopo è necessario definire alcuni aspetti elementari delle reazioni di ossido-riduzione in biologia.

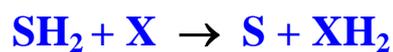
5) Le reazioni di ossido-riduzione.

Una reazione di ossido-riduzione consiste in un **trasferimento di elettroni** da una sostanza che si ossida (donatore di elettroni) ad una che si riduce (accettore di elettroni).

Il **trasferimento di atomi di idrogeno** è equivalente al trasferimento di elettroni, per cui una sostanza può ossidarsi per trasferimento di idrogeni (deidrogenazione) ad una sostanza che si riduce.

Una molecola può anche ossidarsi per incorporazione dell'ossigeno nella molecola del substrato (l'ossigeno possiede un valore elevato di elettronegatività e quando si combina con un altro elemento tende ad acquistare gli elettroni di legame)

Nel corso del metabolismo sono molto comuni le reazioni di ossidazione di un substrato per deidrogenazione (catalizzate da enzimi chiamati **deidrogenasi**). Un sostanza **S** (donatore degli atomi di idrogeno) può ossidarsi per deidrogenazione solo se avviene la simultanea riduzione di un'altra molecola **X** (accettore degli idrogeni).



Mentre il substrato S è diverso nelle varie reazioni metaboliche l'accettore X degli atomi di idrogeno è quasi sempre rappresentato da due molecole biologiche indicate con le sigle:

- **NAD**
- **FAD**

Quindi la riduzione del NAD e del FAD durante le reazioni di deidrogenazione di vari metaboliti è uno degli eventi chiave del catabolismo ossidativo. Infatti la successiva riossidazione del NAD e del FAD in un processo che richiede ossigeno (catena di trasporto degli elettroni mitocondriale) fornisce l'energia per uno dei meccanismi principali di sintesi dell'ATP (fosforilazione ossidativa; vedi avanti).

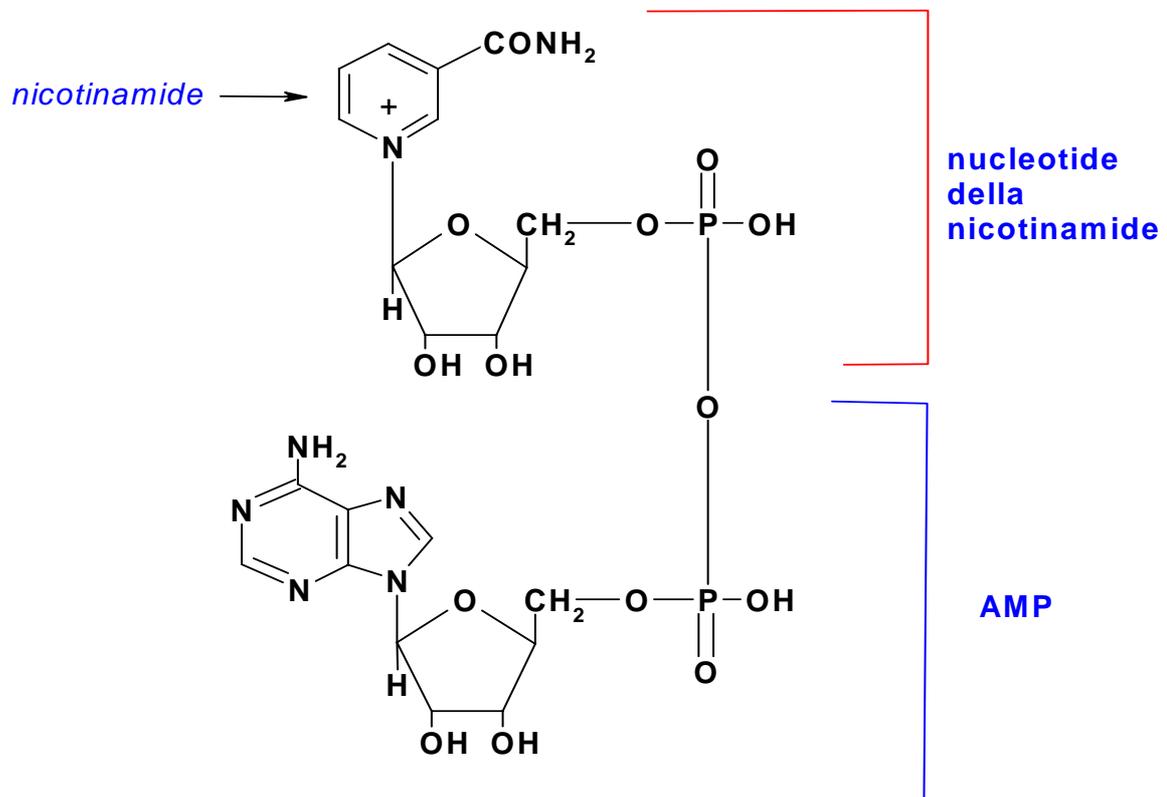
6) Struttura e funzioni del NAD

● STRUTTURA

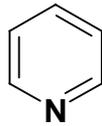
La sigla **NAD** indica il **Nicotinamide Adenin Dinucleotide**

Il **NAD** è quindi composto da **2 nucleotidi (dinucleotide)** legati tra loro a livello dei fosfati: il primo nucleotide è l'AMP il secondo è il nucleotide che ha come base eterociclica la nicotinamide

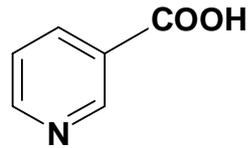
nicotinammide — ribosio — P — P — ribosio — adenina



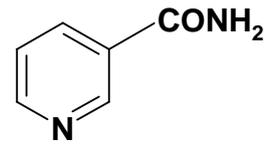
Conosciamo già uno dei due nucleotidi (AMP), mentre l'altro ha come base azotata eterociclica la **nicotinamide**. Dal punto di vista chimico l'acido nicotinic e la sua amide (la nicotinamide) sono derivati della piridina. Per questo motivo il NAD (e il NADP che incontreremo più avanti) vengono chiamati coenzimi piridinici.



piridina



acido nicotinicco

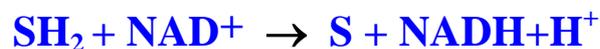


nicotinamide

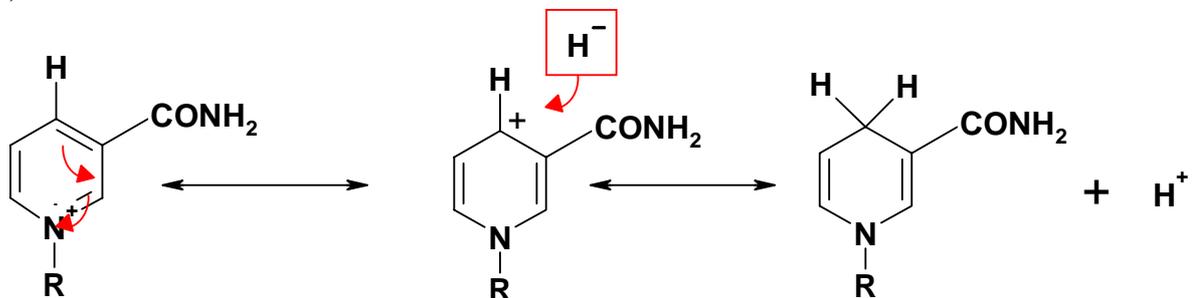
● FUNZIONE

Il NAD ha la funzione di **accettore o donatore degli atomi di idrogeno in reazioni catalizzate da deidrogenasi** (trasportatore di atomi di idrogeno).

Quindi:



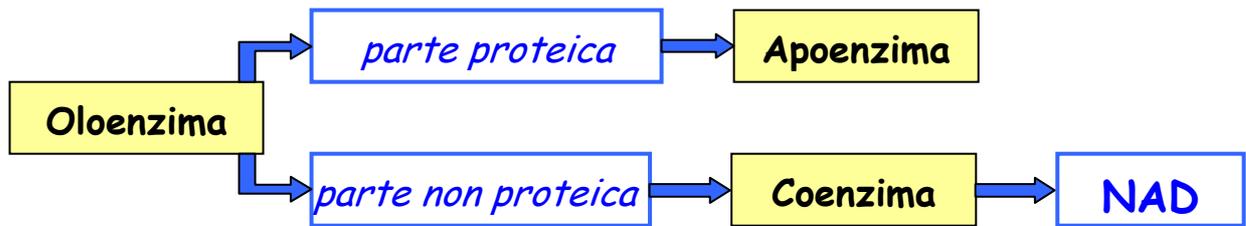
Il NAD ossidato viene indicato con una carica positiva NAD^+ , mentre il NAD ridotto viene indicato come $\text{NADH} + \text{H}^+$. Infatti, dei due atomi di idrogeno (cioè 2 protoni + 2 elettroni) ceduti dal substrato ossidabile, il NAD accetta (a livello dell'anello della nicotinamide) 2 elettroni e un protone (cioè uno ione idruro H^-); il restante protone (H^+) viene rilasciato nel mezzo.



● Il NAD come Coenzima

Alcuni enzimi sono proteine coniugate, formati cioè da una **componente proteica (apoenzima)** ed una **non proteica (coenzima)**; il NAD è il coenzima di numerose deidrogenasi.

Un **enzima completo (Oloenzima)** è formato da 2 parti:



Il legame del **coenzima NAD** con l'**apoenzima** è un legame debole; il NAD può dissociarsi facilmente da un enzima ed associarsi ad un altro; quindi il NAD può essere definito nel seguente modo:

NAD: coenzima mobile di deidrogenasi.

● **La vitamina PP come precursore del coenzima NAD.**

Definizione generale di vitamina: le vitamine sono molecole organiche che devono essere introdotte in piccole quantità con la dieta per il normale funzionamento dell'organismo.

La Vitamina PP come precursore del NAD

La vitamina PP è un precursore del **Coenzima NAD**; questa vitamina è rappresentata da due vitameri (forme diverse da punto di vista chimico, ma equivalenti dal punto di vista biologico): l' **Acido Nicotinico** e la **Nicotinamide** che vengono anche designati con il termine comprensivo di **Niacina**; il fabbisogno giornaliero di Vitamina PP è di circa 20 mg; essa è contenuta in grande quantità nelle carni, mentre è scarsa nei vegetali.

Sintesi della vitamina PP

La **vitamina PP** viene sintetizzata nell'organismo umano (**questa è un'eccezione per una vitamina!**) a partire da un amminoacido: il **Triptofano**

Triptofano → Acido Nicotinico

Tuttavia la quantità sintetizzata a partire dal triptofano non è sufficiente a coprire il fabbisogno giornaliero.

La **patologia da carenza di vitamina PP** si chiama **Pellagra**; una grave malattia caratterizzata da:

- **Dermatite**
- **Diarrea coleriforme**
- **Demenza**

La Pellagra è stata perciò definita la **malattia delle 3 D**.

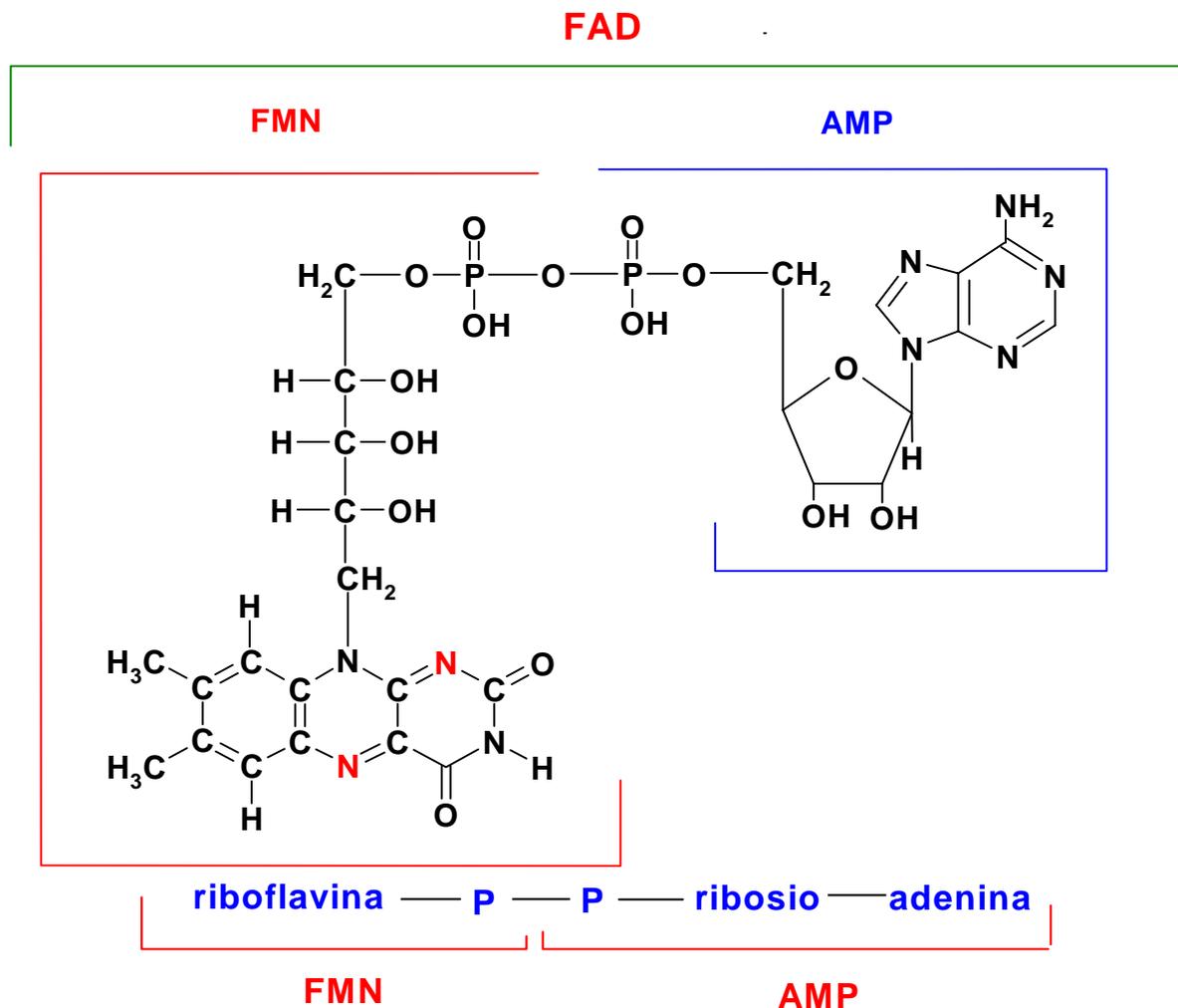
La dermatite è l'espressione più precoce e caratteristica della malattia, consiste in un ispessimento ed annerimento della pelle in corrispondenza delle parti generalmente esposte alla luce. La somministrazione di niacina è in grado di curare la pellagra (da ciò il nome di vit.PP = Pellagra Preventive)

La pellagra si riscontrava in popolazioni con dieta ipoproteica e ricca di mais (dieta basata sulla polenta). Il mais, privo di nicotinamide, contiene come componente proteica la zeina, una proteina povera di triptofano.

7) Struttura e funzioni del FAD.

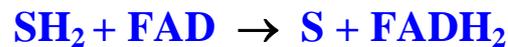
La sigla FAD indica il **Flavin Adenin Dinucleotide**

Il FAD è composto da **2 nucleotidi: AMP e FMN (flavin mononucleotide):**



Anche il FAD ha la funzione di **accettore o donatore degli atomi di idrogeno in reazioni catalizzate da deidrogenasi** (coenzima trasportatore di atomi di idrogeno). Gli azoti 1 e 5 degli anelli flavinici (indicati in rosso nella figura) sono in grado di

accettare reversibilmente 2 atomi di idrogeno; indicheremo il FAD in forma ridotta con la sigla FADH₂



A differenza del NAD il coenzima FAD è legato strettamente (legame covalente) con la porzione proteica (apoenzima) e viene, quindi, ossidato e ridotto in associazione con lo stesso enzima.

La Vitamina B₂ o Riboflavina precursore del FMN e del FAD

Anche la **Riboflavina** è una vitamina (Vit. B₂) e deve essere introdotta nell'organismo con l'alimentazione; la sua ampia diffusione sia nel regno animale che vegetale spiega la difficile evenienza di una avitaminosi da riboflavina; una carenza alimentare (rara) si manifesta con:

- glossite
- stomatite angolare
- dermatite seborroica

Concludendo, i **Coenzimi delle deidrogenasi** possono essere:

- **Piridinici:** NAD, NADP
- **Flavinici:** FMN, FAD

Similarità di struttura tra l'ATP e alcuni coenzimi			
ATP	NAD ⁺	FAD	CoA
adenina	AMP	AMP	Adenosin-3'-fosfato
ribosio			
fosfato			
fosfato	fosfato	fosfato	fosfato
fosfato	ribosio	ribitolo	acido pantotenico
	niacina	flavina	b-mercaptoetilammina

Vitamine: coenzimi derivati, distribuzione, fabbisogno e deficienza

Vitamina	Coenzima	Fonti alimentari	Dose giornaliera raccomandata	Sindrome carenziale
<i>Nicotinamide (Vit. PP)</i>	<i>NAD e NADP</i>	<i>carni</i>	<i>20 mg</i>	<i>pellagra</i>
<i>Riboflavina (B2)</i>	<i>FAD e FMN</i>	<i>ubiquitaria</i>	<i>2 mg</i>	<i>(rara) Glossite; stomatite angolare; dermatite seborroica</i>
<i>Tiamina (vit B1)</i>	<i>Difosfotiamina o tiamina pirofosfato (es: coenzima della piruvato deidrogenasi)</i>	<i>Piselli-fagioli-lenticchie-lieviti</i>	<i>1,5 mg (0,5mg ogni 1000 Kcal introdotte con la dieta)</i>	<i>Beri-Beri</i>
<i>Acido pantotenico</i>	<i>Coenzima A</i>	<i>ubiquitaria</i>	<i>5-10 mg</i>	<i>assente</i>
<i>Biotina</i>	<i>Coenzima di alcune carbossilasi (es: piruvato carbossilasi)</i>	<i>Fegato-rene e tuorlo d'uovo</i>	<i>0,1 mg</i>	<i>Presente solo in soggetti che si alimentano con albume crudo (avidina)</i>

8) Meccanismi di sintesi dell'ATP.

A) Composti ad alta energia e fosforilazione a livello del substrato

Nel corso delle reazioni metaboliche si formano dei composti ad alta energia del tipo **S~P** (vedi definizione di composti ad alta energia) dove **S** indica il resto della molecola del substrato e **P** indica il fosfato (dall'inglese **Phosphate**). Nella reazione successiva alla loro formazione l'energia chimica viene utilizzata per la sintesi di una molecola di ATP.

Nel caso dei composti S~P la reazione consiste nel trasferimento del fosfato ad una molecola di ADP:

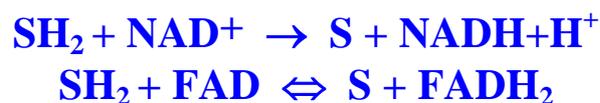


Questa modalità di sintesi di **ATP** è indicata come *fosforilazione a livello del substrato*.

Per fosforilazione si intende una reazione in cui un gruppo fosforico viene legato ad un substrato. Nel corso dello studio della Biochimica incontreremo diversi tipi di fosforilazione. Nel caso specifico della "fosforilazione a livello del substrato" si fa riferimento alla fosforilazione dell'ADP che acquistando un fosfato si trasforma in ATP. L'energia per la sintesi dell'ATP deriva dalla reazione di rottura del legame ad alta energia (~) del substrato.

B) Reazioni di deidrogenazione, coenzimi NAD e FAD ridotti e fosforilazione ossidativa.

In reazioni di deidrogenazione nel corso del metabolismo si formano coenzimi NAD e FAD ridotti

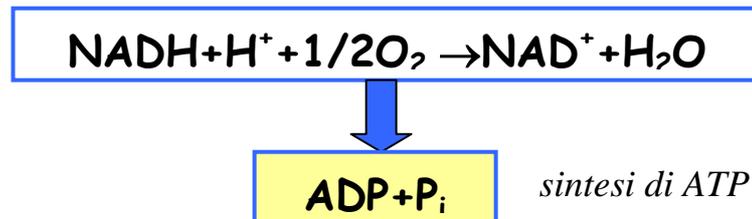


La riossidazione dei Coenzimi NAD e FAD ridotti avviene mediante trasferimento degli idrogeni all'ossigeno con formazione di acqua.



Questo trasferimento avviene mediante una serie di reazioni nella cosiddetta “catena di trasporto degli elettroni mitocondriale” (processo della respirazione mitocondriale).

L’energia che si libera durante la riossidazione del **NAD** consente la sintesi di **ATP** quindi:



Il processo di sintesi dell’ATP **accoppiato** alla riossidazione del NAD e del FAD ridotto nella catena di trasporto degli elettroni mitocondriale prende il nome di: ***fosforilazione ossidativa***.

In conclusione abbiamo due meccanismi principali di sintesi dell’ATP:

- **la fosforilazione a livello del substrato (processo anaerobico)**
- **la fosforilazione ossidativa (processo aerobico)**

Capitolo II

Glicolisi

- 1) Definizione di zuccheri o glucidi
- 2) Il trasporto del glucosio attraverso le membrane cellulari
- 3) Glicolisi: fasi e reazioni
- 4) La glicolisi anaerobica e la riduzione del piruvato a lattato
- 5) Bilancio energetico della glicolisi
- 6) Schema riepilogativo della glicolisi

1) Definizione di zuccheri o glucidi.

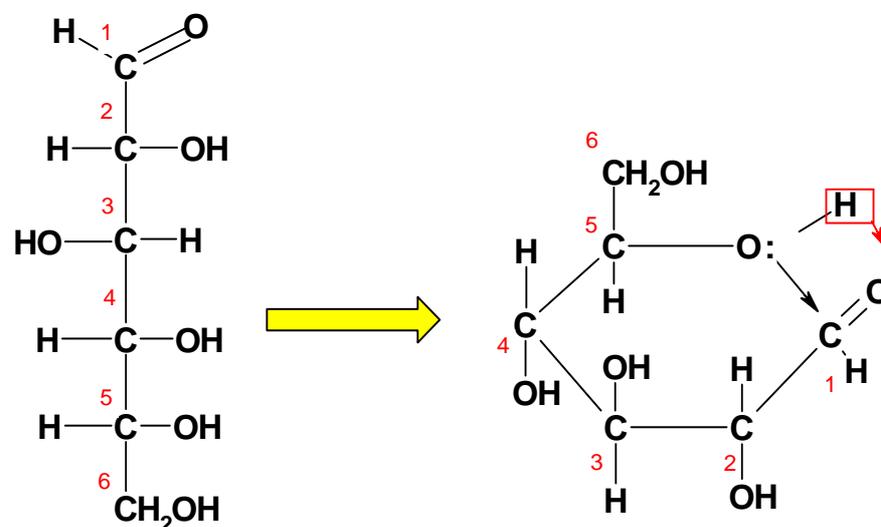
Gli zuccheri o glucidi sono derivati aldeidici o chetonici di polialcoli.

I glucidi sono anche denominati carboidrati, poiché nella loro formula il rapporto idrogeno/ossigeno è di 2/1 come nell'acqua: $(\text{CH}_2\text{O})_n$ (formula bruta degli zuccheri)

dove n può variare da 3 a 9, donde le denominazioni di *triosi*, *tetrosi*, *pentosi*, *esosi*, *eptosi*, ecc. Essi si distinguono in aldosi o chetosi: i primi contengono il gruppo carbonilico ($\text{C}=\text{O}$) in posizione terminale, mentre gli altri in posizioni intermedie.

Il **glucosio** è una molecola a 6 atomi di carbonio che rientra tra gli aldosi in quanto, nella forma aperta, il gruppo aldeidico è presente in posizione C1, in C(2-3-4-5) sono presenti quattro gruppi alcolici secondari e in C6 il gruppo alcolico primario.

Il gruppo aldeidico reagisce intramolecolarmente con il gruppo alcolico del carbonio 5 dando origine ad una struttura ciclica (*semiacetale interno*)

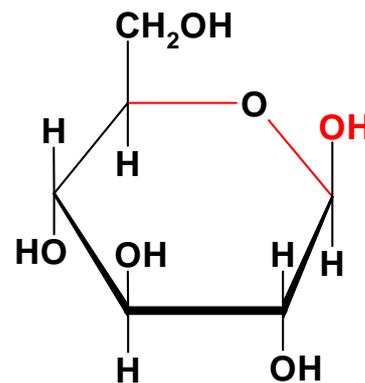
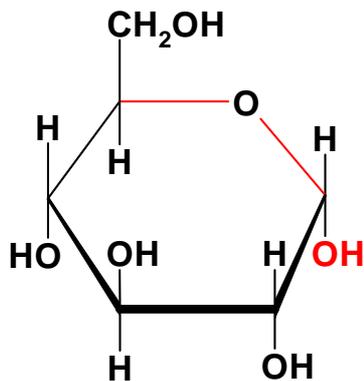


**glucosio in forma
aperta "rettilinea"**

**glucosio in forma
aperta "ripiegata"**

In seguito a tale legame si ottiene uno spostamento dell'idrogeno dal gruppo alcolico in C5 al gruppo carbonilico in C1, che diventa così gruppo alcolico. C1 e C5 sono legati covalentemente all'ossigeno e viene stabilizzata la struttura ciclica del glucosio (*forma piranosica*).

Nota: da questo momento in poi non verranno indicati gli atomi di carbonio: nelle strutture cicliche si intende siano espressi ai vertici dei poligoni che le rappresentano.



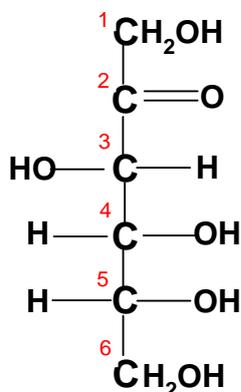
alfa-glucosio:

il gruppo ossidrile in C1 è disposto al di sotto dell'anello piranosico

beta-glucosio:

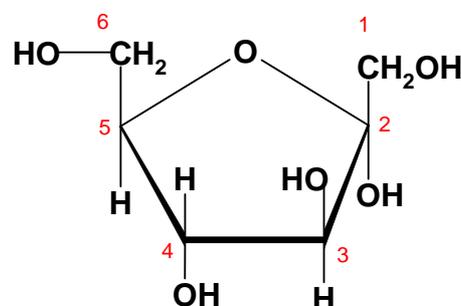
il gruppo ossidrile in C1 è disposto al di sopra dell'anello piranosico

Il fruttosio è sempre un esoso, ma rientra tra i chetosi, in quanto il gruppo carbonilico, nella forma aperta rettilinea, è in posizione C2. Anche nel fruttosio avviene una reazione intramolecolare che dà origine ad un anello pentaciclico (furanosico), in quanto il legame si stabilisce tra C2 e C5.



Fruttosio:

forma rettilinea "aperta"

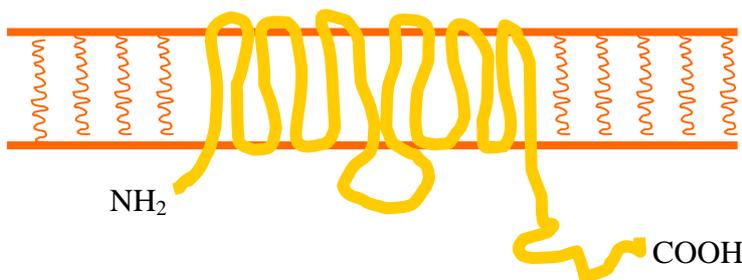


Fruttosio:

forma ciclica o "furanosica"

2) Il trasporto del glucosio attraverso le membrane cellulari.

Il glucosio viene trasportato dal sangue all'interno delle cellule dei vari tessuti a favore di gradiente di concentrazione, mediante un processo di diffusione facilitata mediato da carriers specifici, i *trasportatori del glucosio*. Tali molecole, di natura proteica, sono localizzate nelle membrane cellulari e sono costituite da una lunga catena polipeptidica a 12 tratti transmembrana.



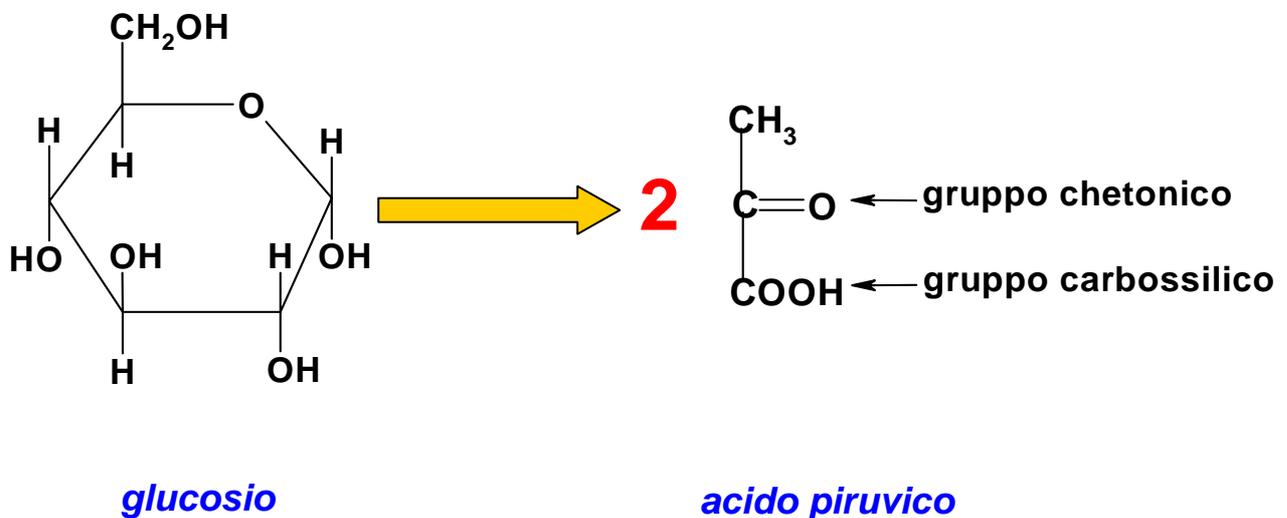
Sono stati identificati 5 membri appartenenti a questa famiglia di proteine transmembrana, denominati GLUT(1-5) con differente espressione tissutale:

- I. **GLUT1** e **GLUT3** sono espressi ubiquitariamente nelle cellule dei mammiferi e sono responsabili del trasporto continuo del glucosio ad una velocità pressoché costante. La concentrazione fisiologica di glucosio nel sangue (5 mM equivalente a 90 mg/100ml; valore fisiologico della glicemia: 60-125 mg/100ml) è infatti più elevata del valore di K_T (1 mM) di questi trasportatori. Si ricorda che per K_T si intende la concentrazione di substrato alla quale si raggiunge la metà della velocità massima di trasporto: maggiore è la K_T minore è l'affinità del substrato per il trasportatore.
- II. **GLUT5** è localizzato nelle cellule epiteliali dell'intestino tenue e libera il glucosio captato dal lume intestinale (da un sistema di cotrasporto Na^+ -glucosio) verso il circolo sanguigno.
- III. **GLUT2** è presente nel fegato e nelle cellule β pancreatiche. Ha un'elevata K_T per il glucosio (15-20 mM) e quindi la velocità di ingresso del glucosio nelle cellule di questi tessuti è proporzionale ai livelli di glicemia. L'alta K_T del GLUT2 garantisce che il glucosio entri rapidamente nelle cellule epatiche solo durante i periodi in cui è in eccesso. Nelle cellule beta del pancreas l'alta K_T assume un significato funzionale in quanto il tessuto risponde ad un eccesso di glucosio modulando la secrezione di insulina.
- IV. **GLUT4** (K_T 5 mM) è responsabile del trasporto del glucosio nelle cellule muscolari e adipose. L'insulina, secreta in seguito ad innalzamento dei valori glicemici, induce, in questi tessuti, un aumento del numero di trasportatori GLUT4 presenti sulla membrana cellulare.

	Espressione	K_T	Sensibilità all'insulina
GLUT-1	ubiquitaria	1 mM	no
GLUT-2	cellule epatiche e β pancreatiche	15-20 mM	no
GLUT-3	ubiquitaria	1 mM	no
GLUT-4	Cellule muscolari e adipose	5 mM	si
GLUT-5	Cellule intestinali	15-20 mM	no

3) Glicolisi: fasi e reazioni.

La Glicolisi è la via metabolica (serie di reazioni in cui il prodotto di una reazione diventa il substrato della successiva) **che realizza la degradazione del Glucosio in 2 molecole di Acido Piruvico (o Piruvato)**. Il prodotto finale della glicolisi è l'**acido piruvico**, un chetoacido a 3 atomi di carbonio.

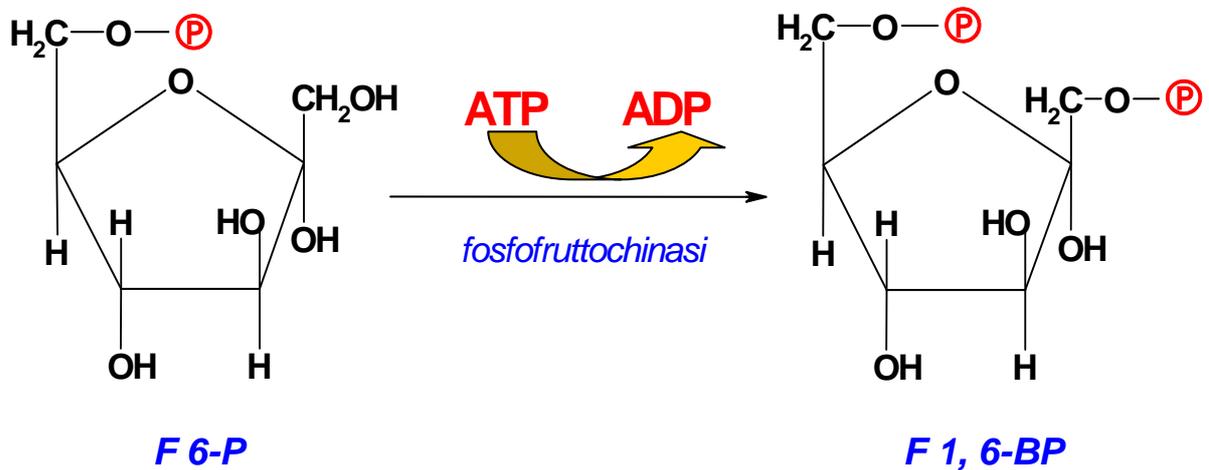


La degradazione del glucosio in **acido piruvico** avviene nel *citoplasma* attraverso **10 reazioni** biochimiche scandite in 3 fasi:

- **Fase endoergonica** :dalla 1^a alla 3^a reazione
- **Fase intermedia**: 4^a e 5^a reazione
- **Fase esoergonica**: dalla 6^a alla 10^a reazione

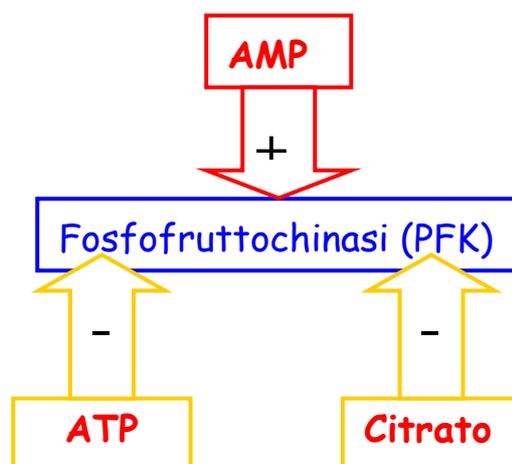
La isomerizzazione del glucosio 6-P in fruttosio è catalizzata dall'enzima *fosfoglucoisomerasi*.

● **Terza reazione:** fosforilazione del F 6-P in fruttosio 1,6 bisfosfato (F1,6BP)



Questa reazione, catalizzata dall'enzima *fosfofruttochinasi*, costituisce un importante tappa di regolazione della glicolisi, infatti determina la definitiva ed irreversibile immissione del glucosio nel processo glicolitico.

L'attività dell'enzima è regolata allostericamente* in senso positivo da alte concentrazioni di AMP, mentre viene inibita da alte concentrazioni di citrato e di ATP. Ciò significa che se i livelli energetici intracellulari sono elevati, la glicolisi rallenta, mentre se sono bassi la glicolisi accelera.



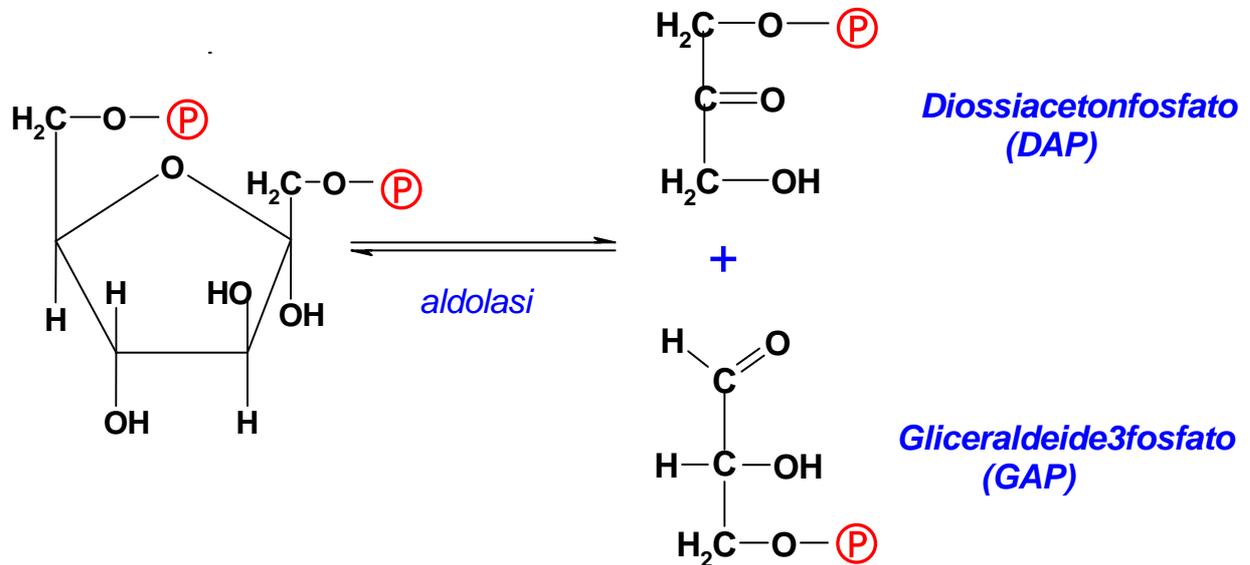
*La *regolazione allosterica* (da *allo* = differente e *sterico* = struttura o stato) si verifica mediante la combinazione reversibile di sostanze con **siti sull'enzima diversi dal sito attivo** (che catalizza la reazione).

Il termine allosterico si riferisce al fatto che gli enzimi regolati da questo meccanismo esistono almeno in due forme differenti, controllati da sostanze regolatrici. Nello stato R (R = Rilassato) l'enzima ha una notevole affinità per le molecole di substrato. Nello stato T (T = Teso o contratto) l'enzima ha scarsa o nessuna affinità per il substrato. Il sito nel quale si lega la sostanza regolatrice si definisce *allosterico o regolatorio*. Il legame con le sostanze regolatorie può indurre o lo stato R o lo stato T: il legame con un *inibitore allosterico (o effettore allosterico negativo)* induce la trasformazione di un enzima allosterico dallo stato R a quello T mentre il legame con un *attivatore allosterico (o effettore allosterico positivo)* ne induce la trasformazione dallo stato T a quello R.

Le tappe della fase iniziale endoergonica possono essere definite preparatorie alle successive tappe della glicolisi. Infatti non vi è produzione bensì spesa energetica: vengono utilizzate due molecole di ATP per attivare il glucosio e promuoverne la successiva degradazione, durante la quale l'energia liberata verrà nuovamente immagazzinata sotto forma di ATP.

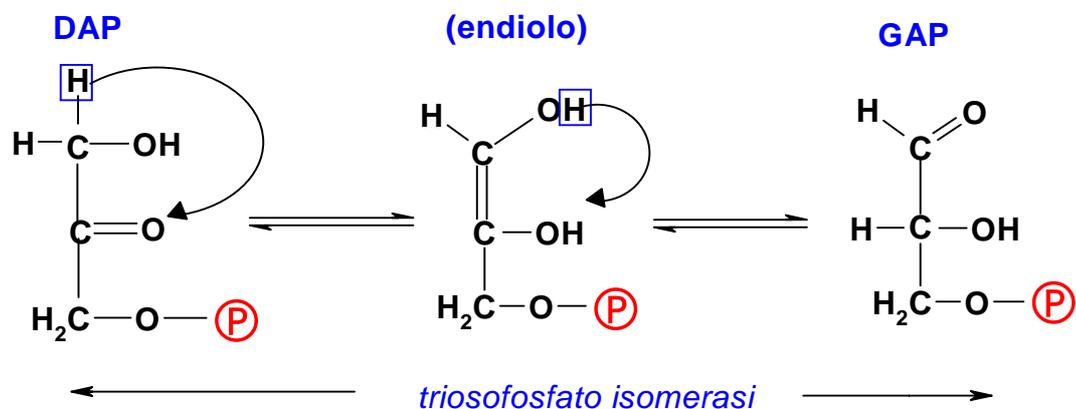
Fase Intermedia

- **Quarta reazione** :degradazione del fruttosio 1, 6 BP (F1,6 BP).



In questa reazione, catalizzata dall'enzima *aldolasi* avviene la demolizione del fruttosio1,6BP in due triosi: *diossiacetonefosfato (DAP)* e *gliceraldeide3fosfato(GAP)*.

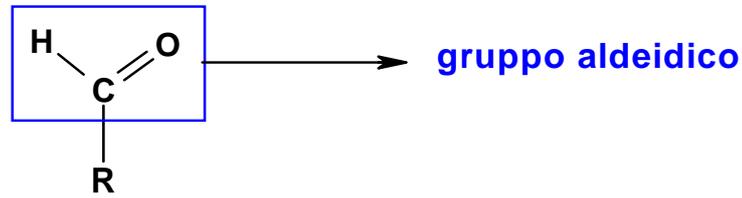
- **Quinta reazione**: isomerizzazione del DAP in GAP



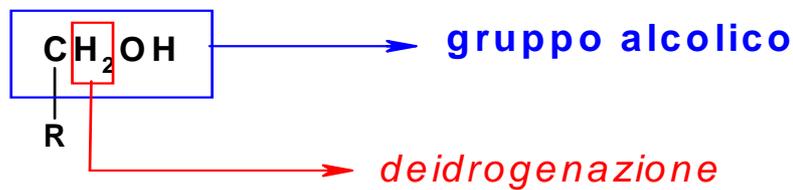
Questi due triosi sono interconvertibili: la reazione catalizzata dall'enzima *triosofosfato isomerasi*, implica la formazione di un composto intermedio (l'endiolo). Il GAP viene consumato nelle reazioni successive della glicolisi e il DAP viene convertito in GAP affinché possa procedere nel processo catabolico.

Premessa alla fase esergonica

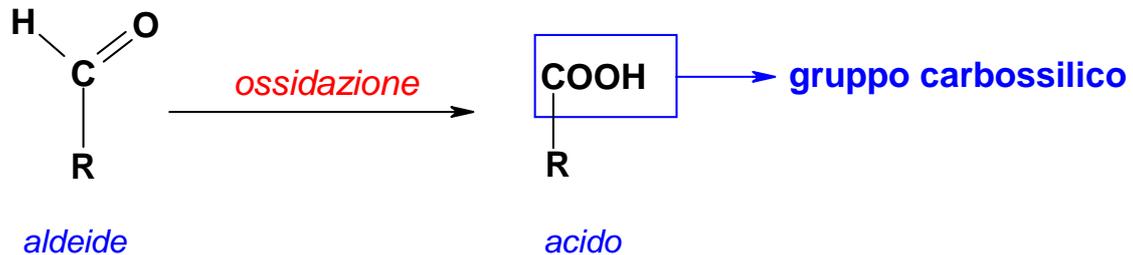
La GAP è un Aldeide:



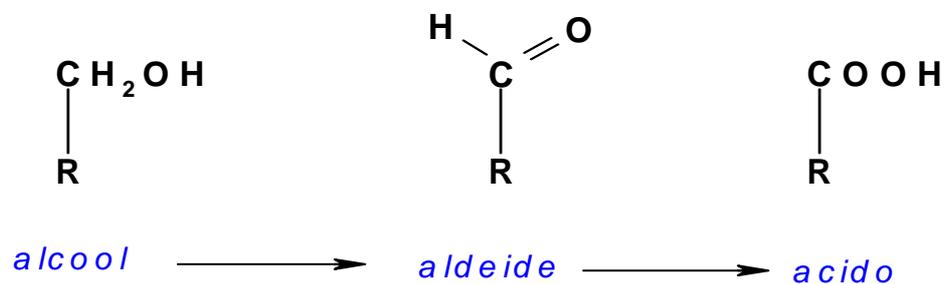
L'aldeide è un *alcol deidrogenato* (ossidato). Infatti da un gruppo alcolico per deidrogenazione si ottiene un'aldeide:



Se si passa dall'aldeide all'acido carbossilico avverrà un'altra ossidazione:



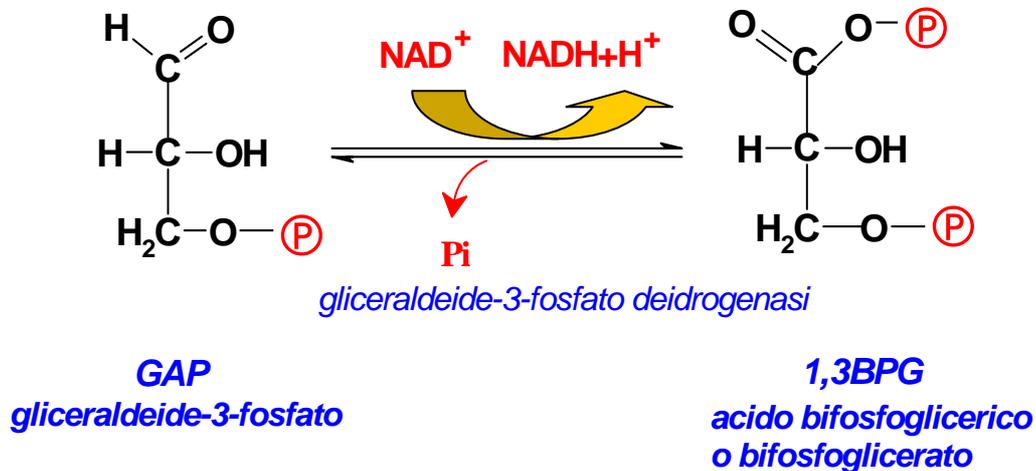
Ricapitolando:



composti in scala di ossido-riduzione

Fase Esoergonica

● Sesta reazione : deidrogenazione e fosforilazione del GAP

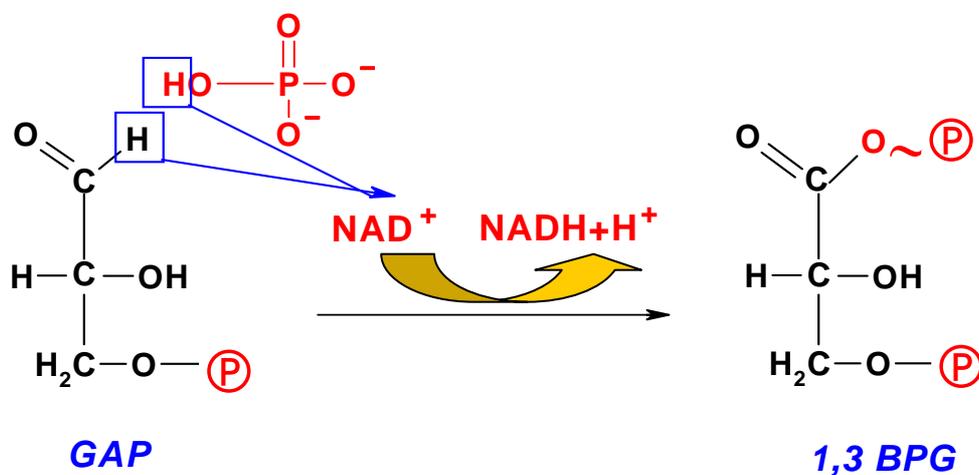


L'enzima che catalizza tale reazione è la *gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi*. L'enzima catalizza simultaneamente a) una reazione di deidrogenazione (ossidazione) e b) una di fosforilazione (trasferimento del fosfato).

a) Reazione di ossidazione: due atomi di idrogeno provenienti dal GAP e dal fosfato libero (P_i) presente nella soluzione vengono trasferiti al *coenzima delle deidrogenasi*, il NAD^+ , che così viene ridotto in $NADH+H^+$.

b) Reazione di trasferimento del fosfato: Il fosfato si lega mediante legame *fosfoanidridico* al gruppo carbossilico in posizione 1.

Si noti che in seguito alla reazione di ossidazione il gruppo aldeidico è stato convertito in un gruppo carbossilico (impegnato mediante legame fosfoanidridico con un fosfato).



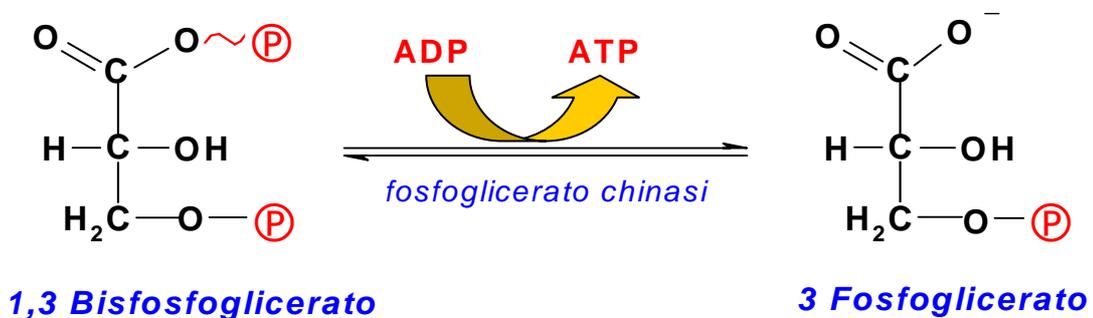
(Nota: in realtà nella reazione interviene un residuo di cisteina del sito attivo dell'enzima, con formazione di intermedi catalitici semiacetalici e tioestere. Si rimanda ai testi di Biochimica per i dettagli)

L'Acido 1,3 Bisfosfoglicerico è un composto ad alta energia. La variazione di energia libera nella reazione di distacco idrolitico del fosfato in posizione 1 è pari a 12 kcal/mole. $\Delta G^\circ = -12 \text{ kcal/mole}$ (notare il simbolo \sim di legame ad alta energia utilizzato per indicare il legame fosfoanidridico del 1,3 BPG). L'energia derivante dall'ossidazione dell'aldeide è stata utilizzata per la formazione del composto ad alta energia.

Nel corso della sesta reazione sono, dunque, avvenuti 2 eventi molecolari importanti:

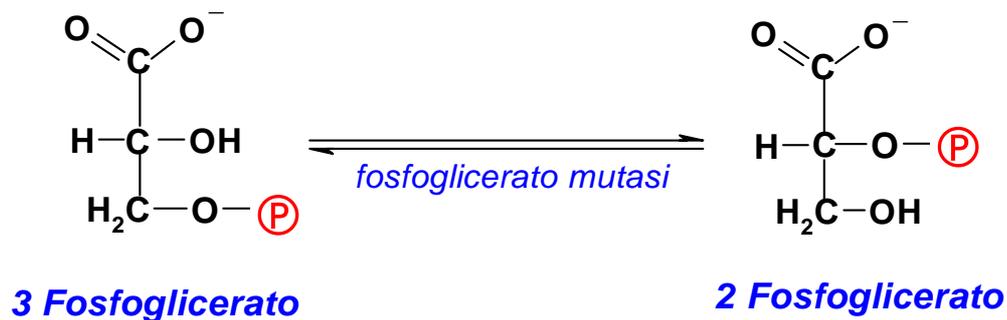
- I. Formazione di un composto ad alta energia (1,3 BPG) che nella reazione successiva sarà utilizzato per la sintesi di una molecola di ATP (fosforilazione a livello del substrato);
- II. Formazione di NAD ridotto che nel processo della fosforilazione ossidativa potrà consentire la sintesi di 3 molecole di ATP.

● **Settima Reazione** : 1^a fosforilazione a livello del substrato



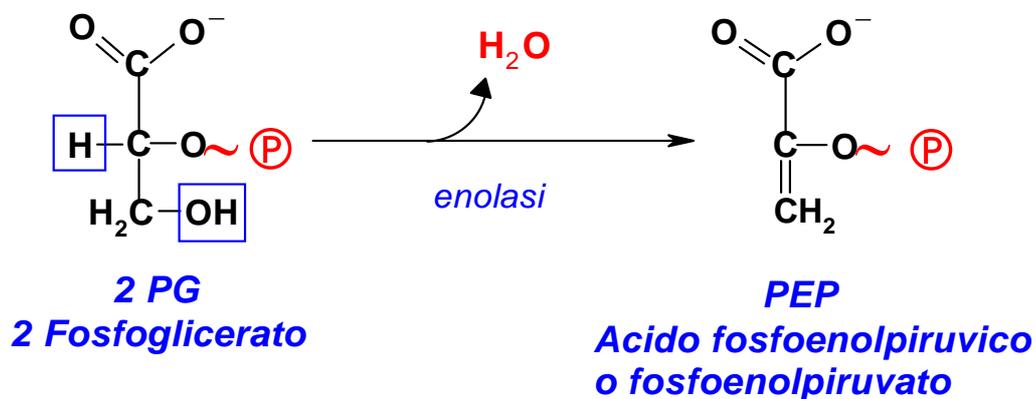
Si realizza la prima fosforilazione a livello del substrato: il radicale fosforico $\sim\text{P}$ in posizione 1 del 1,3BPG viene trasferito sull'ADP dall'enzima *fosfoglicerato chinasi*. La sintesi di ATP si realizza mediante l'energia chimica fornita dalla rottura del legame fosfoanidridico del **1,3 BPG**.

● **Ottava reazione: isomerizzazione del 3PG**



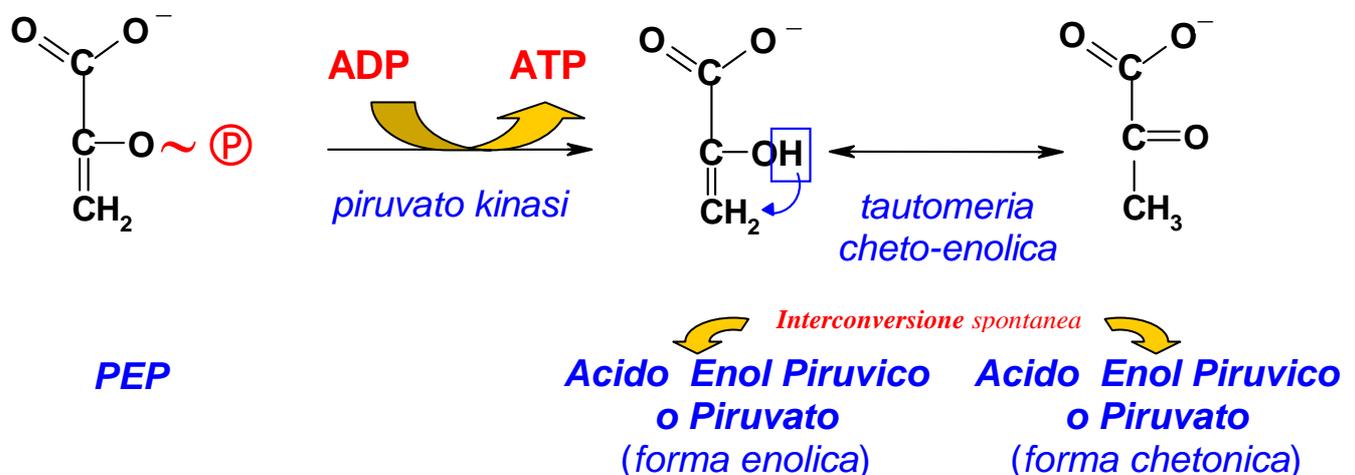
Si realizza lo spostamento del fosfato da C3 a C2 catalizzato dall'enzima *fosfoglicerato mutasi*. Si ricorda che il termine mutasi indica enzimi che catalizzano il trasferimento di un raggruppamento da una posizione ad un'altra posizione della stessa molecola.

● **Nona reazione: rimozione di una molecola di acqua e formazione del fosfoenolpiruvato**



La reazione catalizzata dall'*enolasi* ha un particolare interesse in quanto trasforma un estere fosforico a basso contenuto energetico (2-fosfoglicerato) in un enolfosfato ad alto contenuto energetico ($\Delta G^\circ = -15$ Kcal/mole).

● **Decima reazione:** seconda fosforilazione a livello del substrato

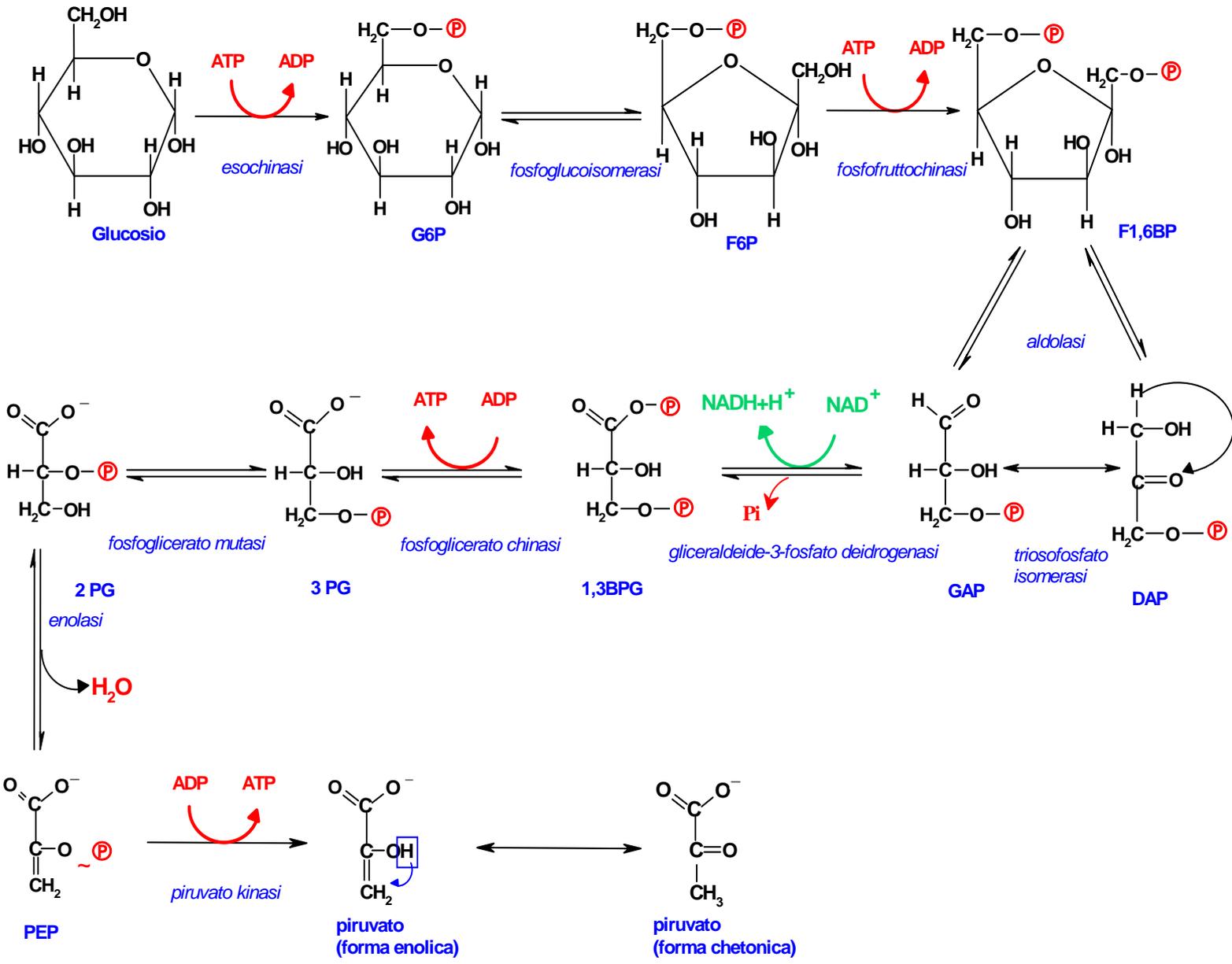


Nel corso della **10^{ma} reazione**, catalizzata dall'enzima *piruvato kinasi*, avviene la seconda fosforilazione a livello del substrato: il gruppo fosforico del PEP viene trasferito all'ADP per formare ATP.

Il prodotto dalla reazione è l'acido piruvico (o piruvato) in *forma enolica* (*en*=doppio legame; *ol*=gruppo ossidrilico).

Il passaggio (interconversione) del piruvato dalla **forma enolica** alla **forma chetonica** avviene spontaneamente e rapidamente (*tautomeria cheto-enolica*). Si ha uno spostamento di un atomo di idrogeno dal carbonio 2 al 3; si perde così il gruppo alcolico e il doppio legame si ritrova tra il carbonio e l'ossigeno (C=O gruppo chetonico). **Il prodotto finale della 10^o reazione è dunque il piruvato in forma chetonica.**

REAZIONI DELLA GLICOLISI

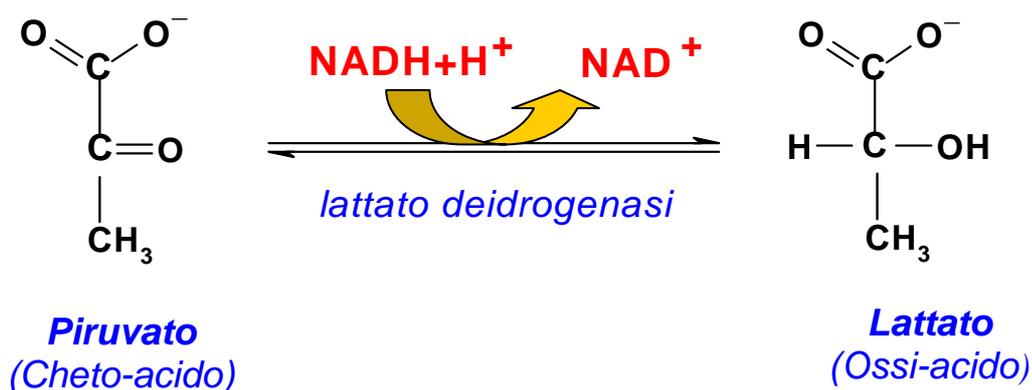


4) La glicolisi anaerobica e la riduzione del piruvato a lattato

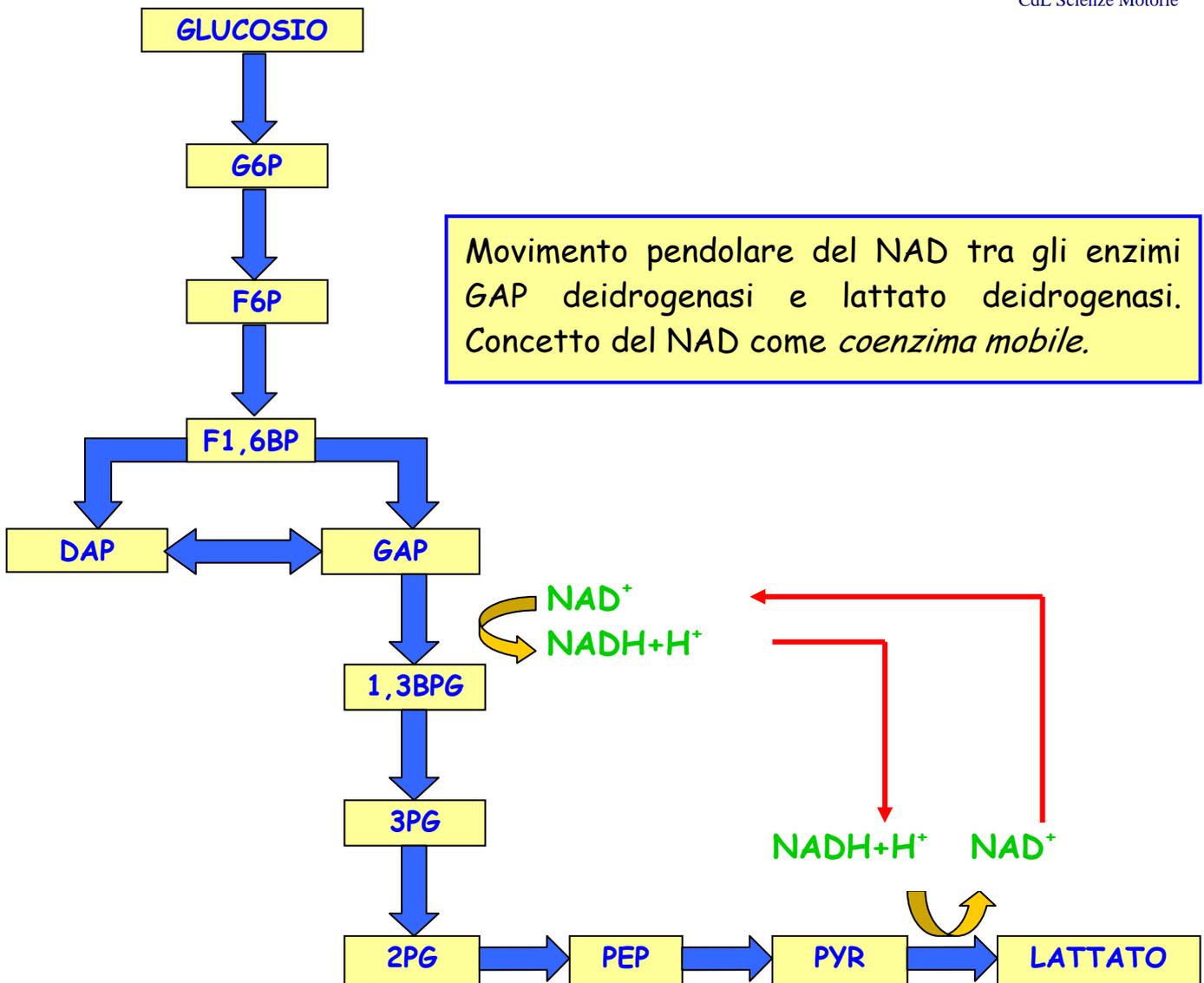
Abbiamo visto che la sesta reazione della glicolisi, catalizzata dall'enzima GAP deidrogenasi, necessita di NAD ossidato (NAD^+) come accettore di H. Se la glicolisi procedesse ad alta velocità fino alla decima reazione tutto il NAD ossidato citosolico sarebbe rapidamente convertito in NAD ridotto e la glicolisi stessa si arresterebbe alla sesta reazione. E' necessario quindi un meccanismo di riossidazione del NAD ridotto.

In *condizioni aerobiche* la riossidazione del NAD ridotto avviene durante la fosforilazione ossidativa mitocondriale con consumo di ossigeno, formazione di acqua e sintesi di ATP. In *condizioni anaerobiche* la riossidazione del NAD ridotto ($\text{NADH}+\text{H}^+$) avviene nel corso della 11[°] reazione, durante la riduzione del piruvato a lattato. **La reazione di riduzione del piruvato in lattato può essere, quindi, considerata un meccanismo alternativo di riossidazione del NAD ridotto in condizioni anaerobiche.**

● undicesima reazione



L'11^{ma} reazione ha la funzione di riossidare il **NAD ridotto ($\text{NADH}+\text{H}^+$)** in **NAD ossidato (NAD^+)** in **condizioni anaerobiche** (vedi schema del movimento pendolare del NAD tra gli enzimi GAP deidrogenasi e lattato deidrogenasi nella pagina seguente). In condizioni di anaerobiosi, e quindi di impossibilità per le cellule di produrre ATP mediante il ciclo di Krebs e la fosforilazione ossidativa, la glicolisi anaerobica rappresenta il meccanismo metabolico fondamentale per la sintesi di ATP.



La produzione intracellulare di un metabolita con proprietà acide, come il lattato, ha delle importanti conseguenze funzionali che esamineremo nei capitoli sulla biochimica dell'esercizio fisico. Uno dei meccanismi che intervengono per evitare che il rapido accumulo intracellulare di questo metabolita porti a variazioni eccessive del pH intracellulare è l'efflusso del lattato nell'ambiente extracellulare mediato da specifici trasportatori localizzati nella membrana plasmatica.

E' un errore considerare il lattato come un catabolita terminale di scarto.

Il lattato, prodotto in tessuti privi di mitocondri (eritrociti) o nelle fibre muscolari di tipo II durante sforzi di intensità superiore alla soglia anaerobica (vedi cap X) e trasferito al circolo sanguigno, può essere poi captato ed utilizzato da altri tessuti a scopo energetico (cuore, altri tessuti) o per la sintesi di glucosio (fegato; vedi gluconeogenesi e ciclo di Cori). Per essere avviato a tali destini metabolici il lattato deve essere riconvertito in piruvato con riduzione del NAD^+ , reazione catalizzata dallo stesso enzima lattato deidrogenasi.

La proteina che costituisce l'enzima lattato deidrogenasi è un tetramero, cioè è formata da quattro catene polipeptidiche (subunità). Si conoscono due tipi diversi di catene polipeptidiche che entrano nella composizione della LDH: le catene H (da heart: cuore) e le catene M (da muscolo).

composizione in subunità	sigla
H4	LDH1
H3M1	LDH2
H2M2	LDH3
H1M3	LDH4
M4	LDH5

Un tetramero formato da due tipi diversi di subunità può esistere in 5 forme diverse:

Gli isoenzimi sono distribuiti in modo differenziale nei vari tessuti dell'organismo. Per esempio, LDH1 è l'isoenzima che predomina nel cuore, mentre LDH5 è l'isoenzima che predomina nelle fibre di tipo II del muscolo scheletrico. Si ritiene che gli isoenzimi 1, 2 e 3 siano caratteristici dei tessuti

con predominante metabolismo aerobico, mentre gli isoenzimi 4-5 dei tessuti con forte componente anaerobica.

5) Bilancio energetico della glicolisi.

● Bilancio energetico della glicolisi anaerobica

Fase endoergonica	Glucosio ↓ F1,6BP	- 2 ATP
Fase esoergonica	2 GAP ↓ 2Piruvato	+ 4 ATP
Guadagno energetico		+ 2 ATP

● Bilancio energetico della glicolisi aerobica

In condizioni aerobiche il piruvato prosegue la sua degradazione nella decarbossilazione ossidativa e nel ciclo di Krebs nei mitocondri. Il $\text{NADH}+\text{H}^+$ ottenuto a livello della VI reazione glicolitica non verrà ossidato nel citosol dalla LDH (*nella glicolisi aerobica non si produce lattato!*) e quindi potrà essere immesso nei mitocondri: per ogni molecola di $\text{NADH}+\text{H}^+$ riossidata nella catena di trasporto degli elettroni si otterranno 3 molecole di ATP*. Dato che 2 triosi attraversano la fase esoergonica, per ogni molecola di glucosio otteniamo 2 $\text{NADH}+\text{H}^+$ e, quindi, 6 ATP nella fosforilazione ossidativa.

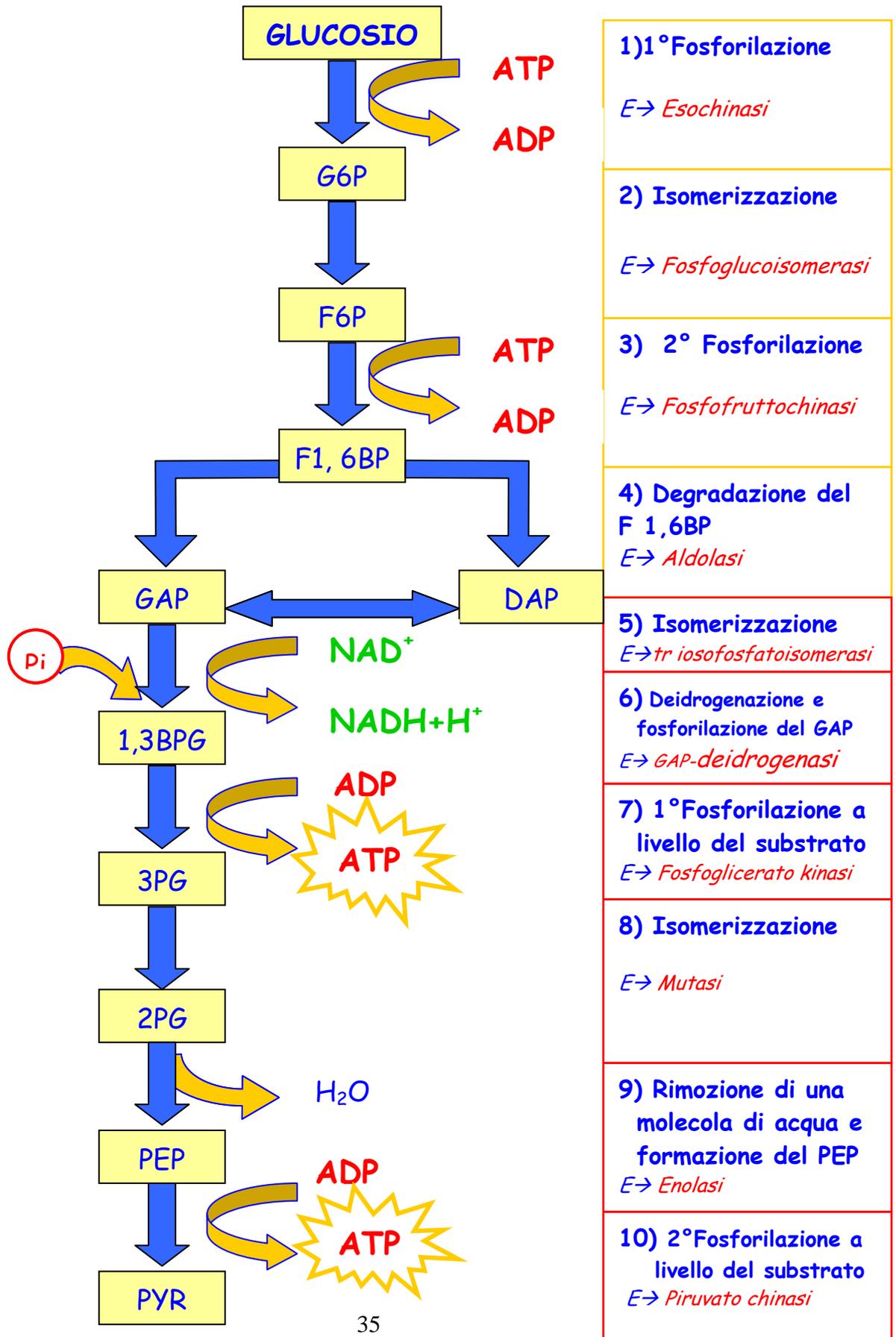
In condizioni aerobiche otteniamo quindi 8 ATP nella conversione del glucosio in 2 molecole di piruvato.

**In realtà la membrana mitocondriale interna non è permeabile al NAD. Esistono due sistemi di trasporto degli equivalenti riducenti dal citosol al mitocondrio: la spola aspartato-malato e la spola fosfodiossiacetone-glicerolo3fosfato: la prima veicola l'ingresso nel mitocondrio di una molecola di $\text{NADH}+\text{H}^+$ e quindi la resa energetica sarà di 3 molecole di ATP, la seconda scambia una molecola di $\text{NADH}+\text{H}^+$ con una di FADH_2 e quindi, la resa energetica sarà di 2 molecole di ATP.*

6) Schema riepilogativo della glicolisi

FASE ENDOENERGONICA

FASE ESOURGONICA



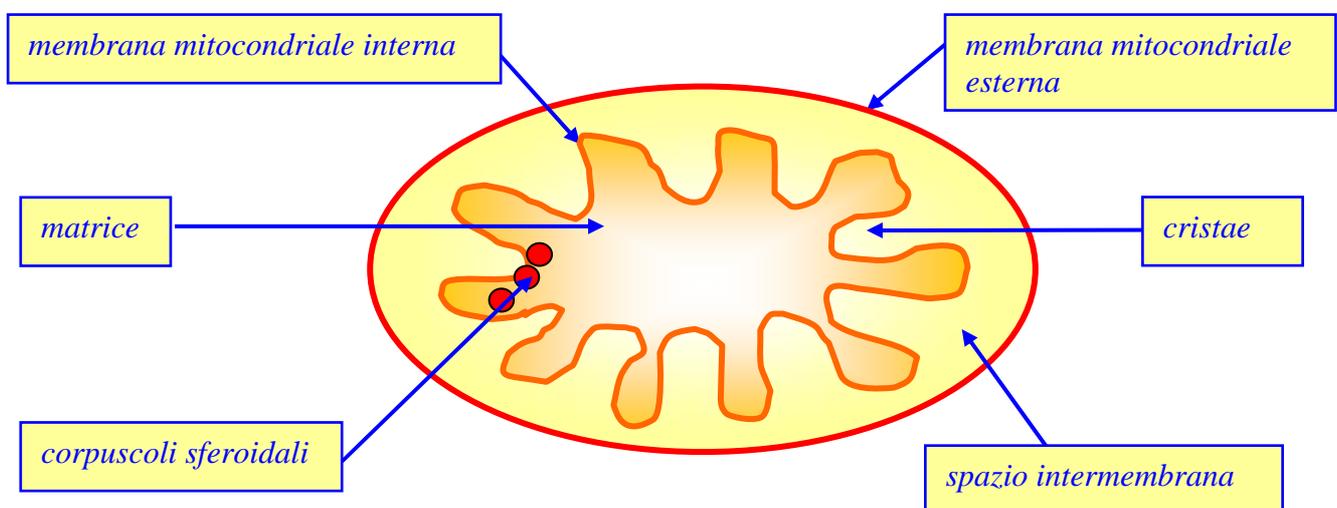
Capitolo III

Decarbossilazione ossidativa del piruvato e Ciclo di Krebs

- 1) *Il mitocondrio*
- 2) *Destini metabolici del piruvato (nell'uomo)*
- 3) *Decarbossilazione ossidativa del piruvato*
- 4) *Il Coenzima A (CoA): struttura e funzione*
- 5) *Schema Generale del Ciclo di Krebs*
- 6) *Le 8 reazioni del Ciclo di Krebs*
- 7) *Bilancio energetico del ciclo di Krebs*
- 8) *Il significato catalitico del ciclo di Krebs*
- 9) *Convergenza delle principali vie metaboliche nel ciclo di Krebs*

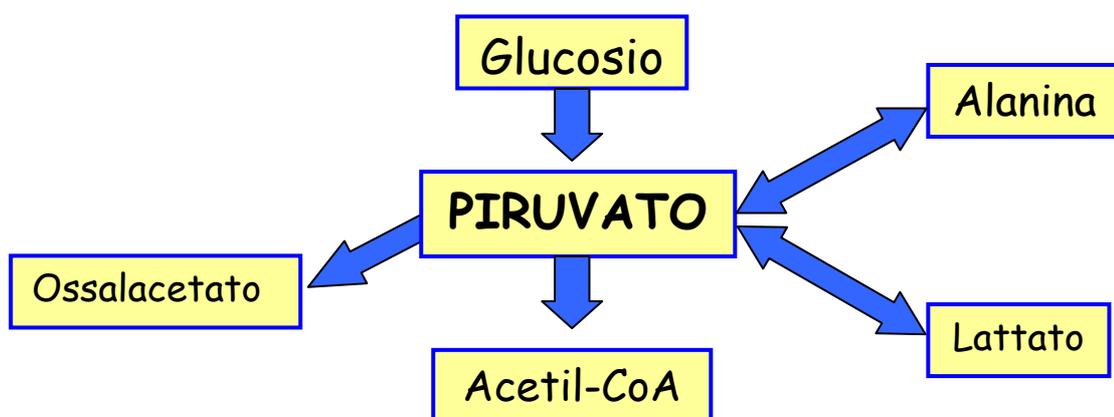
1) Il mitocondrio

I mitocondri sono organuli cellulari delle dimensioni di pochi micron (10^{-3} mm) delimitati da due membrane concentriche (membrana mitocondriale esterna e membrana mitocondriale interna). Presentano usualmente forma ellissoidale, ma possono assumere forme assai diverse. Lo spazio tra le due membrane viene chiamato “*spazio intermembrana*”; la membrana interna delimita la “*matrice mitocondriale*”, nella quale si invagina con numerose introflessioni della membrana dette “*cristae*”. Dalla superficie interna della membrana interna si proiettano nella matrice numerosi corpuscoli sferoidali pedunculati (vedremo più avanti il ruolo delle proteine che formano questi corpuscoli).



Dal punto di vista funzionale la membrana esterna è permeabile a tutte le molecole con peso molecolare < 5kDa attraverso dei canali formati da proteine dette “*porine*”. La membrana interna rappresenta invece una barriera selettiva. Il passaggio di metaboliti specifici (per es. il piruvato) avviene grazie a delle proteine carrier (trasportatrici) specifiche. Gli enzimi della decarbossilazione ossidativa del piruvato, della carbossilazione del piruvato, del ciclo di Krebs (con l’eccezione della succinato deidrogenasi), della beta-ossidazione degli acidi grassi e della chetogenesi sono localizzati nella matrice mitocondriale.

2) Destini metabolici del piruvato (nell’uomo).



3) Decarbossilazione ossidativa del piruvato

In condizioni aerobiche il piruvato che si forma direttamente dalla glicolisi o indirettamente dall’ossidazione del lattato passa all’interno dei mitocondri (matrice mitocondriale) dove viene trasformato in *acetil-CoA* mediante decarbossilazione ossidativa, catalizzata dal **complesso multienzimatico della piruvato deidrogenasi**. Tale complesso comprende tre diversi enzimi (*piruvato deidrogenasi*, *lipoil transacetilasi*, *diidrolipoil deidrogenasi*) a cui sono associati i rispettivi coenzimi (*difosfotiamina*, *acido lipoico*, *FAD*). Inoltre sono saldamente associati al complesso i coenzimi *NAD+* e *Coenzima-A*.

La difosfotiamina (o tiamina pirofosfato) è la forma attiva della **tiamina**. Questa molecola non viene sintetizzata nell’organismo umano e deve essere introdotta in piccole quantità con la dieta (0,5 mg ogni 1000 kcal introdotte con la dieta): la tiamina è, dunque, una vitamina (**vitamina B₁**).

La avitaminosi B₁ è il **Beri Beri** che colpisce le popolazioni orientali la cui nutrizione è a base di riso brillato, cioè privo della cuticola. Questa patologia colpisce i nervi periferici con conseguente paralisi ai muscoli scheletrici (Beri

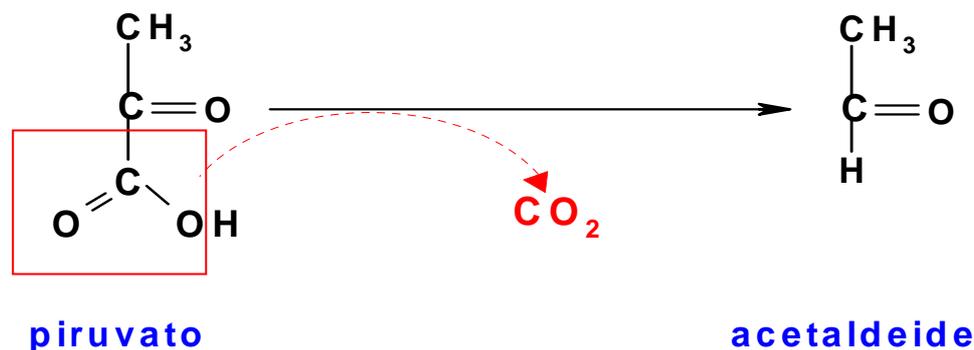
Beri secco → polineuropatia periferica) e danni al cuore (Beri Beri umido → edemi diffusi con insufficienza circolatoria). La carenza di Tiamina impedisce al sistema aerobico di proseguire; ne deriva che per produrre energia bisognerà avvalersi del sistema anaerobico e ciò non è compatibile con una normale funzionalità dei neuroni e delle cellule del miocardio.

In questo corso non esamineremo in dettaglio le reazioni catalizzate dalle singole componenti enzimatiche del complesso della piruvato deidrogenasi, ma ci limiteremo ad una visione globale semplificata.

La reazione di degradazione del piruvato ad acetil-CoA può essere suddivisa a scopo didattico in tre fasi: la decarbossilazione del piruvato, l'ossidazione dell'aldeide ottenuta e la condensazione con il coenzima A.

Analizziamo singolarmente le singole tappe:

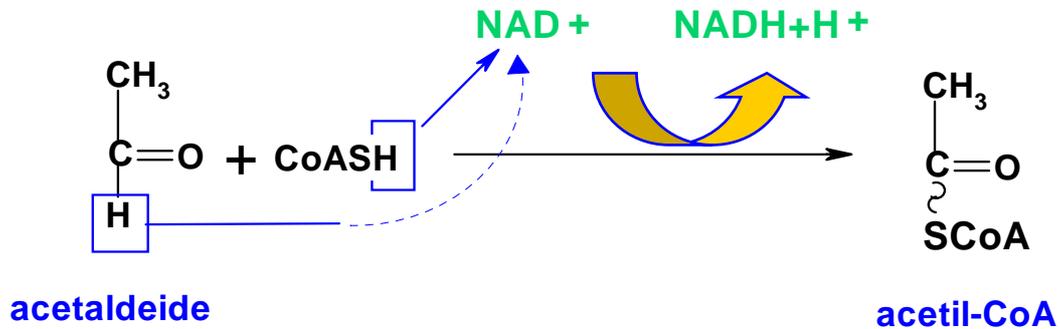
● decarbossilazione del piruvato:



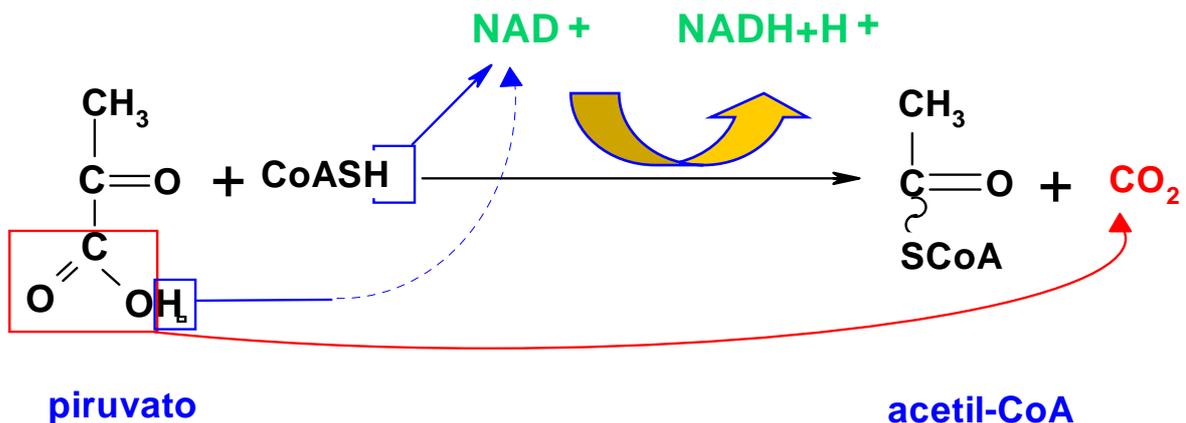
Il piruvato (3 atomi di carbonio) perde il gruppo carbossile sotto forma di CO_2 (decarbossilazione) con formazione di un composto a 2 atomi di carbonio. Se si trattasse di una decarbossilazione semplice il prodotto della reazione sarebbe un'aldeide a due atomi di carbonio (aldeide acetica o acetaldeide).

In realtà l'acetaldeide subisce un processo di ossidazione NAD-dipendente. Inoltre l'acido che si ottiene dall'ossidazione dell'acetaldeide (acido acetico) viene coniugato al Coenzima A sotto forma di tioestere (acetil-CoA).

● **ossidazione e trasferimento al CoA:**



La reazione complessiva è, dunque, una **decarbossilazione ossidativa**:

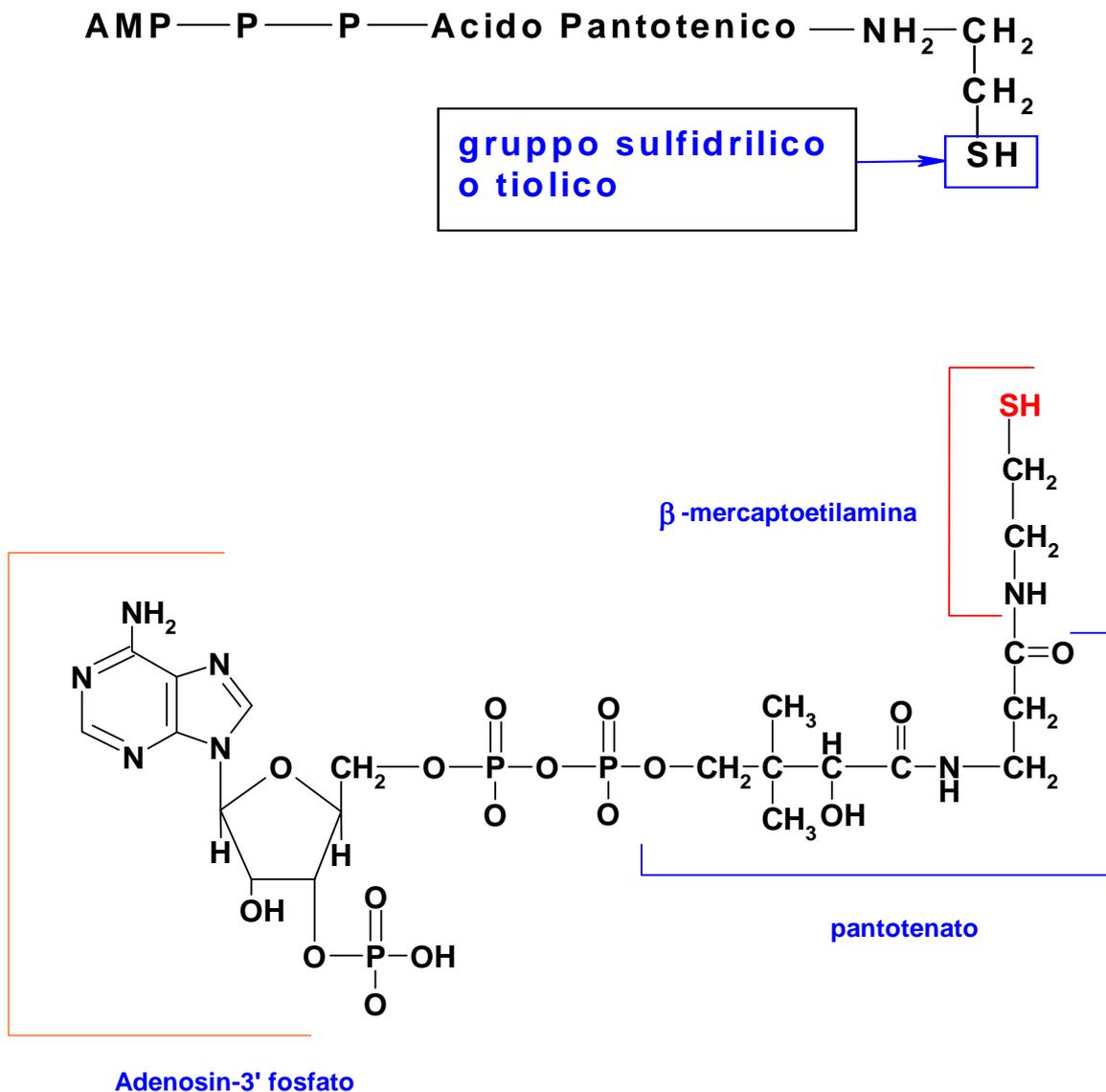


In conclusione la decarbossilazione ossidativa del piruvato consiste nella trasformazione del **piruvato** in **acetil-CoA**, con la produzione di una molecola di **NAD ridotto** e la liberazione di una molecola di **CO₂**.

4) Il Coenzima A (CoA): struttura e funzione.

Nella decarbossilazione ossidativa del piruvato abbiamo incontrato per la prima volta una importante molecola biologica: **il Coenzima A**. Seguono alcune brevi informazioni sulla sua struttura e funzione.

● **Struttura del CoA:**



Il coenzima è dunque formato da un nucleotide (**AMP: adenosin-3'-fosfato**) legato (in 5') con un ponte pirofosforico all'**acido pantotenico (pantotenato)** a sua volta legato ad una piccola molecola, la beta-mercaptoetilamina, che termina con un **gruppo sulfidrilico o tiolico (-SH) libero** (l'acido pantotenico legato alla beta-mercaptoetilamina viene anche chiamato pantoteina). *Il gruppo funzionale del coenzima A è il gruppo tiolico (-SH) e questa è la caratteristica più importante*

da ricordare (vedi più avanti le funzioni). Spesso il CoA viene indicato con il simbolo CoASH, mettendo in evidenza il gruppo tiolico terminale.

Il CoA può essere sintetizzato nel nostro organismo utilizzando l'acido pantotenico preformato, l'ATP ed un aminoacido solforato (cisteina). *L'acido pantotenico non viene sintetizzato nel nostro organismo* e deve essere introdotto con la dieta: è, dunque, una **vitamina**. Nell'uomo non è nota una avitaminosi da deficienza di acido pantotenico. Ciò dipende dalla ubiquitarità di questo fattore vitaminico negli alimenti naturali (dove la denominazione di pantotenico).

● **Funzione del CoA:**

Il CoA è un attivatore metabolico dell'acido acetico e degli altri acidi carbossilici. Si lega al gruppo carbossile (-COOH) degli acidi con il suo gruppo tiolico o sulfidrilico (-SH) mediante un legame **tioestereo**.

Si ricorda che gli **esteri** sono formati da una molecola di acido carbossilico (R-COOH) e da una molecola di alcool (R-OH) con eliminazione di una molecola di acqua:



il gruppo R-CO- viene chiamato **acile**.

I **tioesteri** sono esteri di un composto tiolico (R-SH) con un acido e, a differenza degli esteri ordinari dell'ossigeno, sono composti ad alta energia di idrolisi:



Esteri → composti ottenuti mediante un legame tra un gruppo carbossilico (-COOH) e un gruppo alcolico (-OH)

Es.: trigliceridi (esteri di acidi grassi con glicerolo)

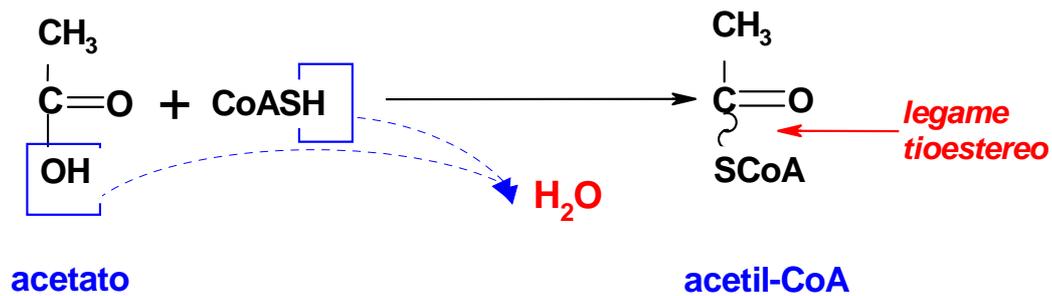
Esteri fosforici o fosfoesteri → acido fosforico + gruppo alcolico

Es. glucosio-6-fosfato

Tioestere → gruppo carbossilico (-COOH) + gruppo tiolico (-SH)

Es. acetilCoA

Quindi dal punto di vista chimico l'acetil-CoA si può considerare derivato dalla condensazione dell'acetato al CoASH mediante rimozione di una molecola di acqua e formazione di un legame tioestereo:



In realtà, come abbiamo visto precedentemente, la sintesi biochimica dell'acetilCoA può avvenire mediante la complessa reazione della decarbossilazione ossidativa del piruvato. Vedremo più avanti altri esempi di sintesi biochimica di acilCoA.

Il legame tioestereo viene indicato con il simbolo ~ in quanto ricco di energia (8 kcal/mole). L'elevato contenuto di energia degli acilCoA (o acil~SCoA) li rende metabolicamente reattivi; i corrispondenti acidi grassi liberi sono invece metabolicamente inerti.

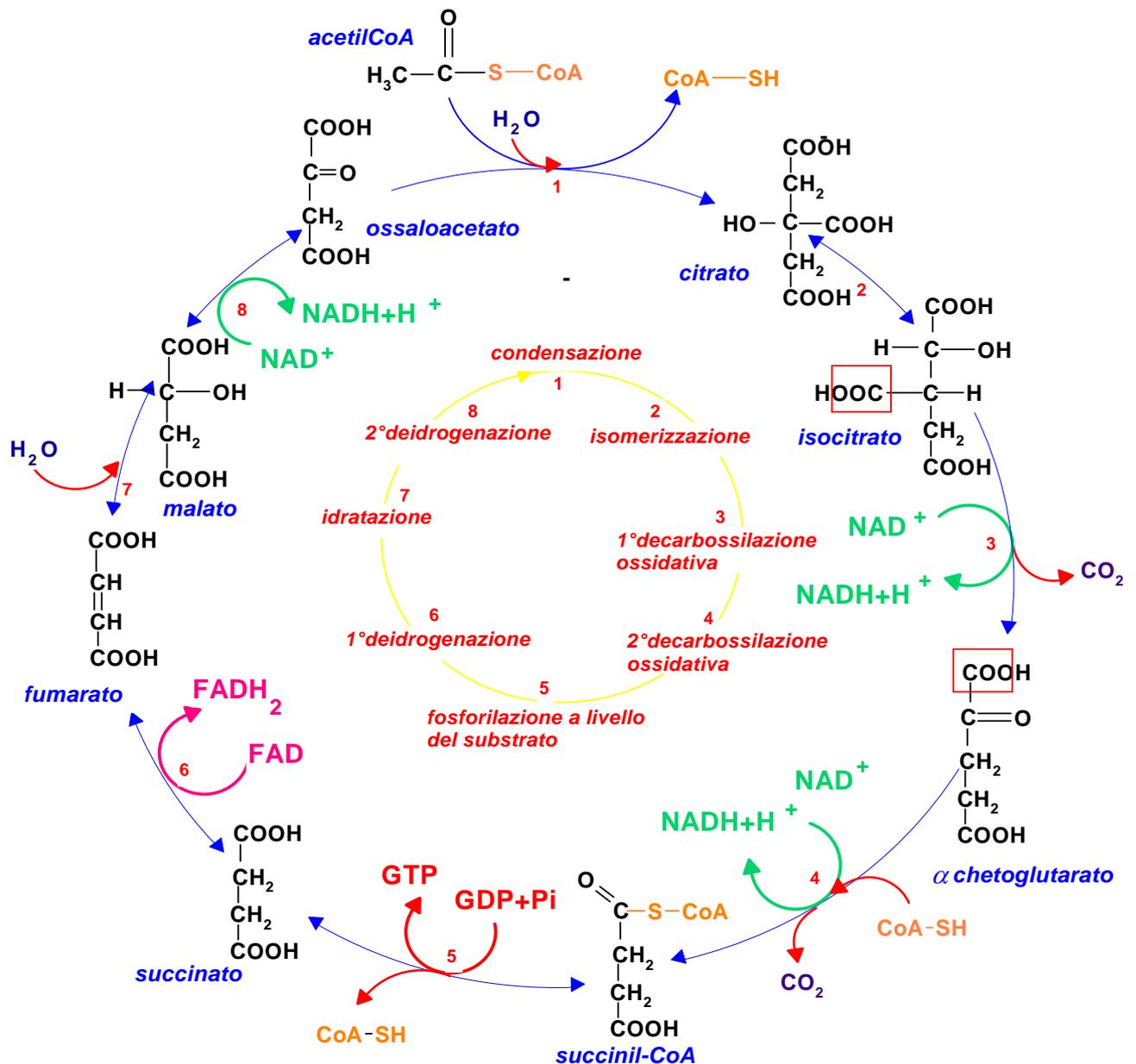
La combinazione di un acido carbossilico con il coenzima A, mediante un legame tioestere, produce un composto ad alta energia di idrolisi. La rottura del legame tioestereo con formazione di CoA libero può fornire l'energia:

- a. per la sintesi di ATP in reazioni di fosforilazione a livello del substrato (ad es. fosforilazione a livello del substrato nel ciclo di Krebs: la trasformazione di succinilCoA in succinato e CoA libero fornisce l'energia necessaria per la sintesi di una molecola di GTP);
- b. per la condensazione del gruppo acilico ad altri composti organici (ad es. reazione di condensazione dell'acetile con l'ossalacetato per formare citrato nella prima reazione del ciclo di Krebs).

Si dice che il coenzima A "attiva" il gruppo acetile e, in passato, l'acetilCoA è stato chiamato "**acetato attivo**".

5) Schema Generale del Ciclo di Krebs

Ciclo di Krebs o ciclo dell'acido citrico o ciclo degli acidi tricarbossilici



Ciclo di Krebs: enzimi			
1	<i>citrato sintasi</i>	5	<i>succinil-CoA sintetasi</i>
2	<i>aconitasi</i>	6	<i>succinato deidrogenasi</i>
3	<i>isocitrato deidrogenasi</i>	7	<i>fumarasi</i>
4	<i>α-chetoglutarato deidrogenasi</i>	8	<i>malato deidrogenasi</i>

6) Le 8 reazioni del Ciclo di Krebs:

Definizione di Ciclo metabolico:

Il Ciclo è una via metabolica alla cui fine si ritrova uno dei composti di partenza.

Il ciclo di Krebs ha inizio con la condensazione di acetilCoA ed ossalacetato. Il gruppo acetile (2 atomi di carbonio) si condensa con l'ossalacetato (chetoacido a 4 atomi di carbonio) e si ha la liberazione di CoA e la formazione di citrato (acido tricarbossilico a 6 atomi di carbonio).

Termina con la formazione di ossalacetato, uno dei due composti di partenza.

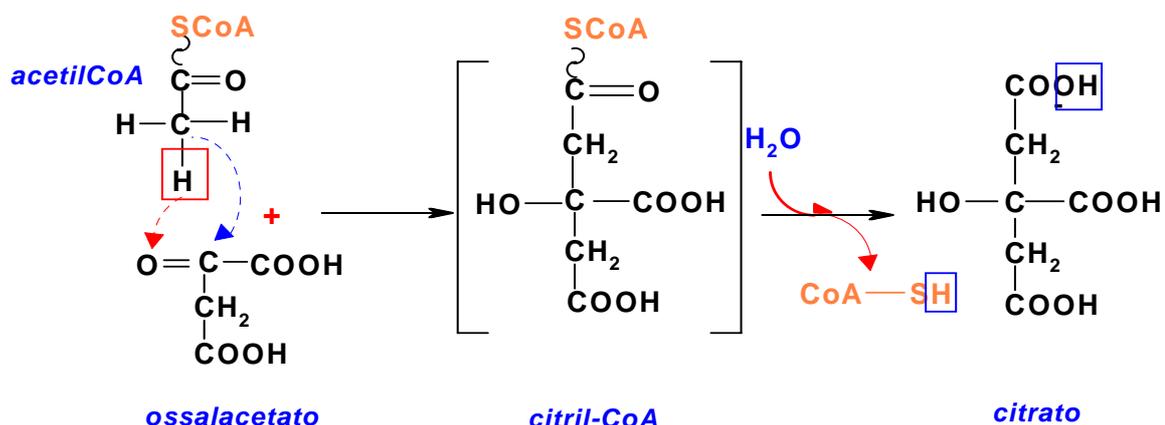
Durante il ciclo si ha:

- 1) liberazione di due atomi di carbonio sotto forma di CO_2 , catabolita terminale che sarà eliminato con la respirazione polmonare;
- 2) formazione di coenzimi NAD e FAD ridotti;
- 3) sintesi di una molecola di GTP.

Possiamo dividere schematicamente il ciclo di Krebs in quattro fasi:

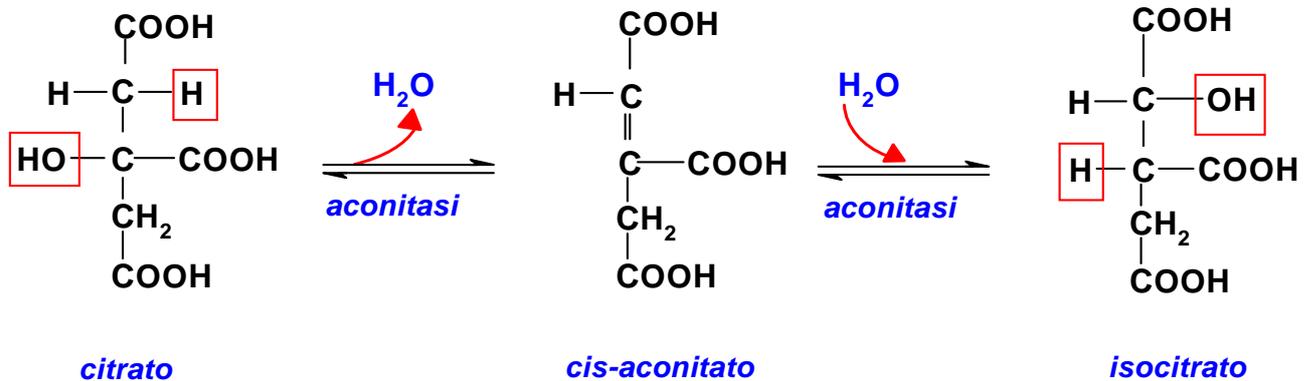
1) Fase iniziale (reazioni 1 e 2)

Reazione n°1 sintesi del citrato mediante la condensazione di acetilCoA e ossalacetato



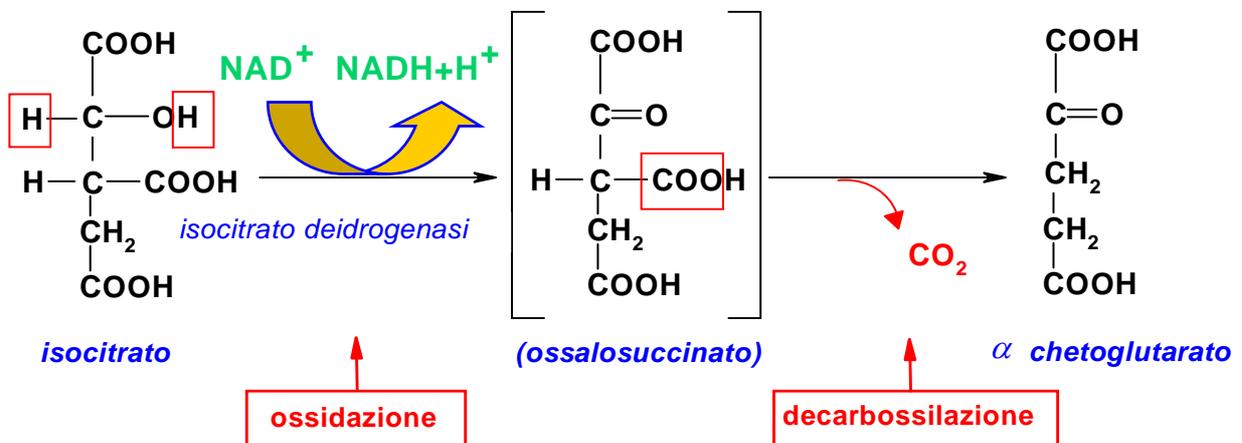
Tale reazione è catalizzata dall'enzima *citrato sintasi*. Il gruppo metilico (-CH₃) dell'acetil-CoA tende a perdere in forma di protone uno dei tre idrogeni, rendendo possibile lo stabilirsi di un legame covalente tra il C del gruppo metilico dell'acetile ed il C del gruppo carbonilico (-CO) dell'ossalacetato. Si forma così il citril-CoA, un intermedio catalitico che non viene rilasciato in forma libera dall'enzima (per tale motivo è indicato in parentesi quadra), da cui dopo il distacco idrolitico del coenzima A, si genera il citrato, un acido tricarbossilico.

Reazione n°2 : isomerizzazione del citrato in isocitrato:



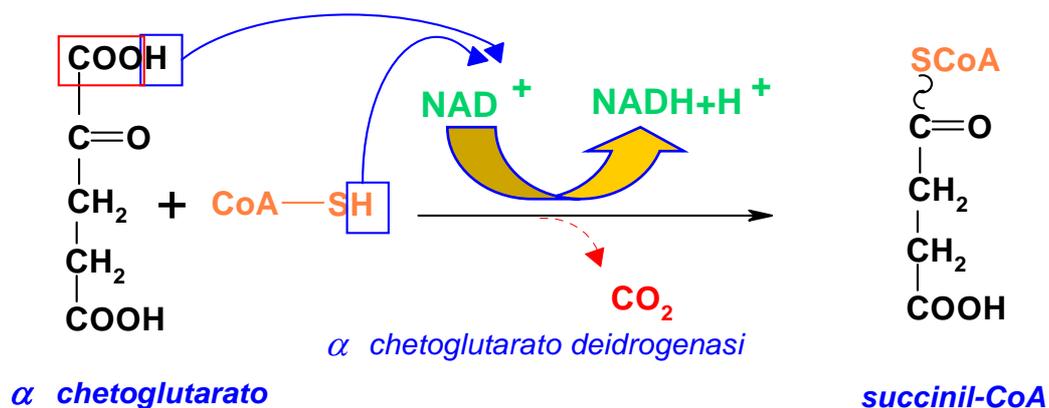
2) Fase delle decarbossilazioni ossidative (reazioni 3, 4):

Reazione n°3: 1^a decarbossilazione ossidativa.



Durante la terza reazione del ciclo di Krebs avviene la conversione di una molecola a 6C (l'isocitrato) ad una a 5C (acido alfa-chetoglutarico o alfa-chetoglutarato). La reazione, catalizzata dall'enzima *isocitrato deidrogenasi*, prevede l'ossidazione dell'isocitrato con formazione di un intermedio, l'ossalsuccinato, dal quale si distacca una molecola di CO₂. Si ha dunque formazione di NAD ridotto e liberazione di una molecola di anidride carbonica. L'ossalsuccinato viene decarbossilato mentre si trova legato all'enzima e non compare mai in forma libera (per questo è stato posto in parentesi quadra).

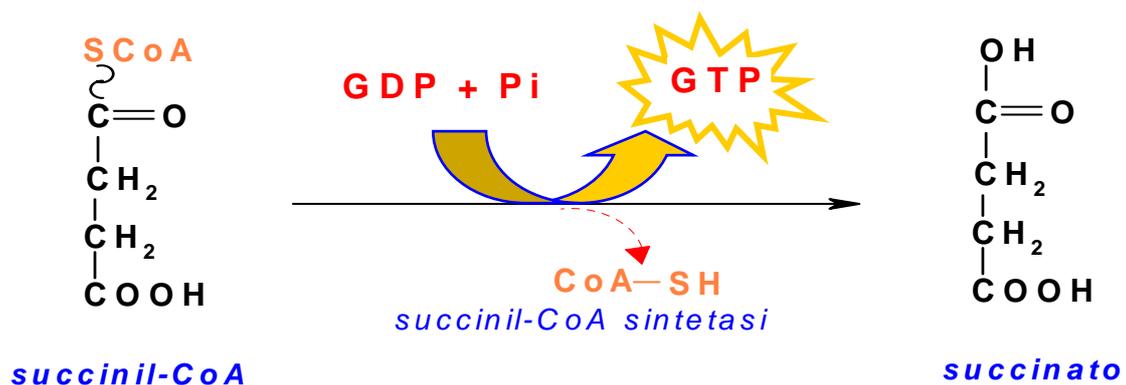
Reazione n° 4: 2^a decarbossilazione ossidativa.



La seconda decarbossilazione ossidativa che trasforma un chetoacido, l'alfa-chetoglutarato, in un derivato acilico a 4 C legato al CoA, il succinilCoA, somiglia alla reazione di conversione del piruvato in acetilCoA. Il complesso multienzimatico che la catalizza, l'*alfa-chetoglutarato deidrogenasi*, è simile alla piruvato deidrogenasi. Anche in questa reazione si è formata una molecola di NAD ridotto e si ha liberazione di una molecola di CO₂. Il succinilCoA è un composto ad alta energia (reazione di idrolisi del legame tioestereo $\Delta G^\circ = -7,8$ Kcal/mole): tale energia sarà sfruttata nella reazione successiva.

3) Fase della fosforilazione a livello del substrato:

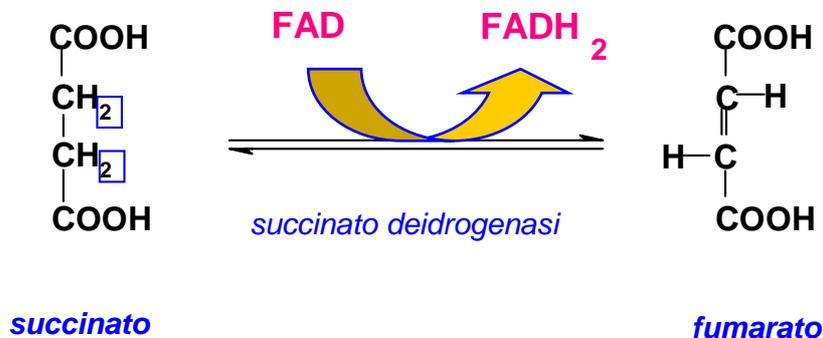
Reazione n° 5 →



L'energia derivata dalla rottura del legame tioestereo del succinil-CoA, composto ad alta energia, viene utilizzata per convertire GDP e Pi in **GTP** (fosforilazione a livello del substrato). Si ha la formazione di succinato e CoA libero. La generazione del GTP costituisce la terza fosforilazione a livello del substrato: si ricorda che le altre due fosforilazioni sono avvenute nel corso della 7^o e 10^o reazione della glicolisi.

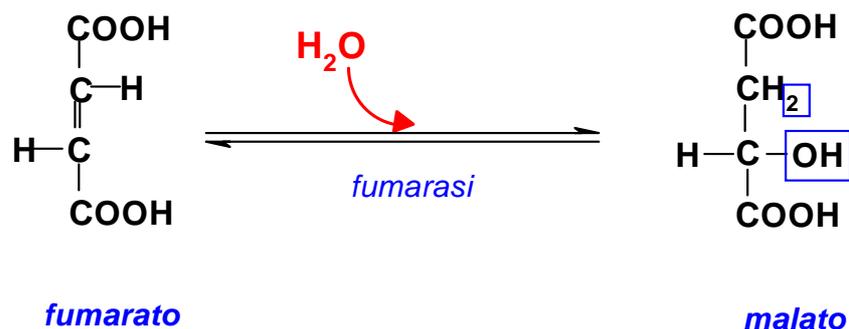
4) Fase delle deidrogenazioni (reazione 6, 7, 8): in realtà sono due deidrogenazioni separate da una idratazione.

Reazione n° 6: *deidrogenazione del succinato a fumarato*

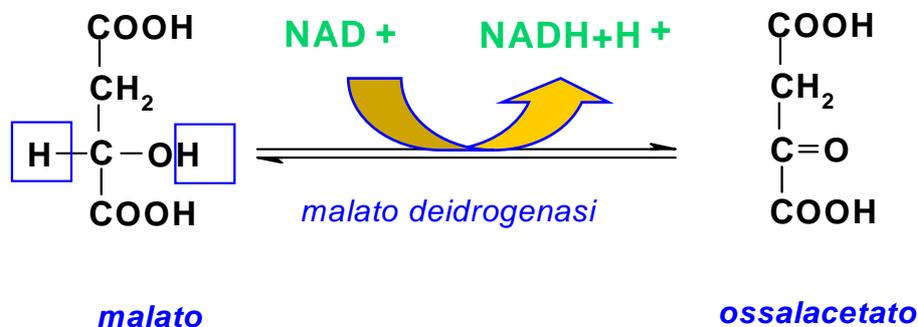


La reazione è catalizzata dall'enzima *succinato deidrogenasi*, enzima FAD-dipendente. Si ottiene quindi una molecola di FAD ridotto (FADH₂)

Reazione n° 7: *idratazione del fumarato.*



Reazione n° 8: *deidrogenazione del malato ad ossalacetato.*

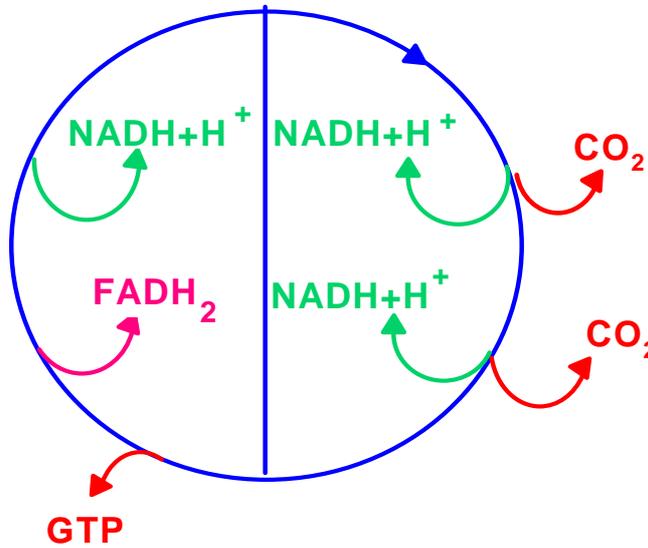


In questa reazione, catalizzata dall'enzima *malato deidrogenasi*, si ha la formazione di una molecola di NAD ridotto e la generazione del composto di partenza, l'ossalacetato che può così ricominciare il ciclo e consentire l'ossidazione di un'altra molecola di acetil-CoA.

Riassumendo:

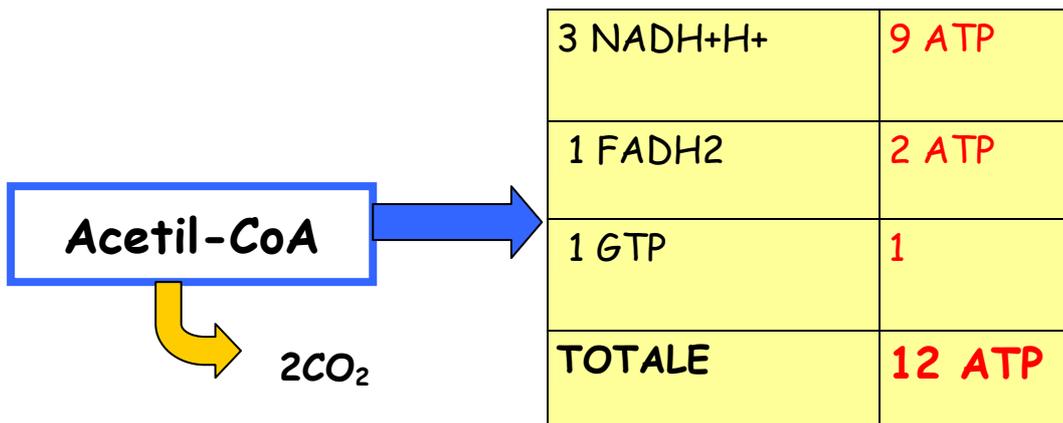
2° metà del ciclo:
due
deidrogenazioni

1° metà del ciclo:
due
decarbossilazioni
ossidative



7) Bilancio energetico del ciclo di Krebs

Per ogni molecola di Acetil-CoA che entra nel ciclo di Krebs si producono 12 molecole di ATP.



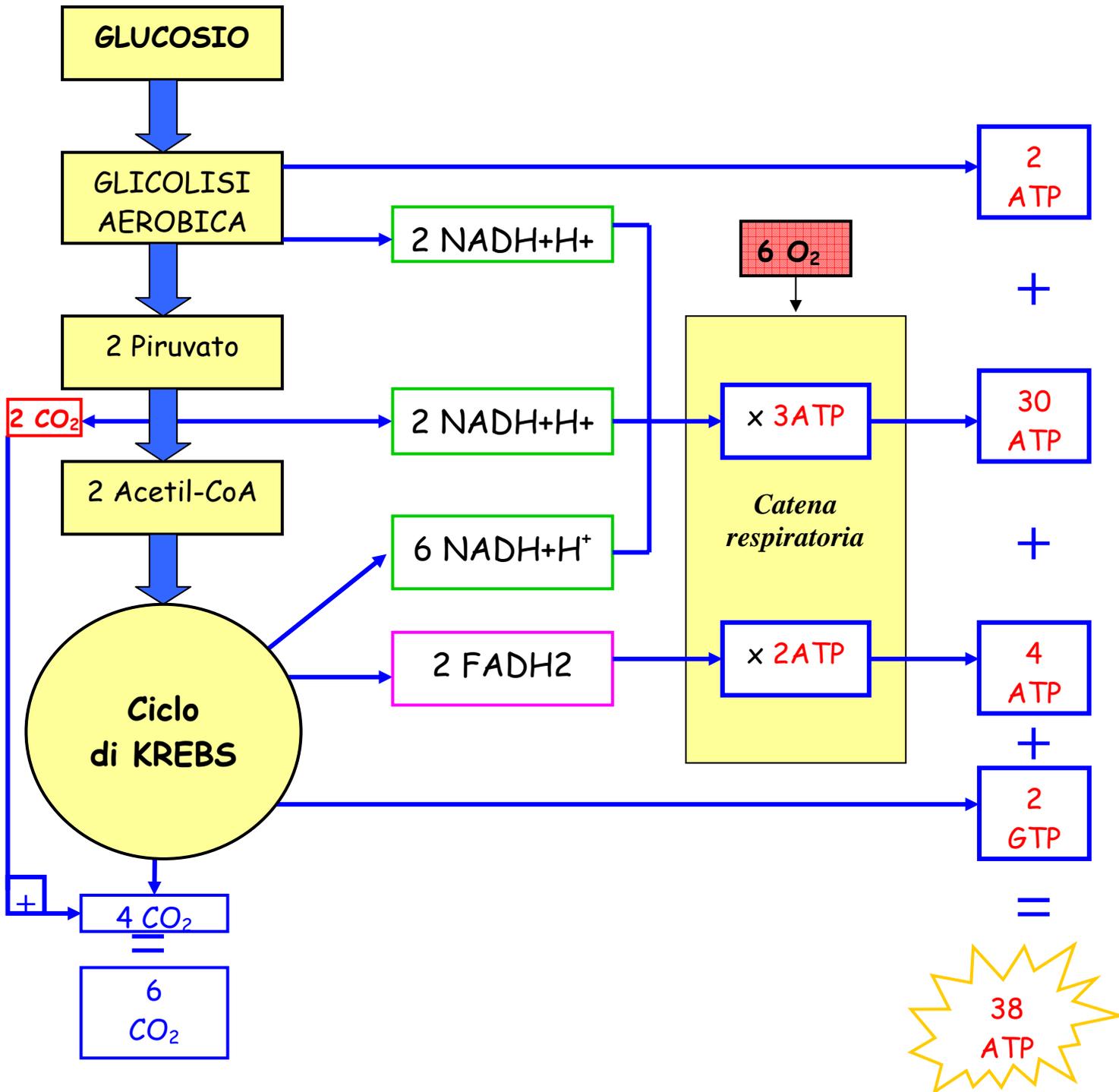
Per ogni molecola di Glucosio completamente degradata attraverso la:

- Glicolisi
- Decarbossilazione Ossidativa del Piruvato
- Ciclo di Krebs

si ottiene il seguente rendimento in ATP e produzione di CO₂:

Via metabolica	Substrato	Fosforilazione a livello del substrato	Fosforilazione ossidativa	ATP prodotto	CO ₂ prodotta
Glicolisi aerobica	1 glucosio	2	6 (2 NADH+H ⁺)	8	no
Decarbossilazione ossidativa del piruvato	2 piruvato	no	6 (2 NADH+H ⁺)	6	2 CO ₂
Ciclo di Krebs	2 acetil-CoA	2	22 (6 NADH+H ⁺ 2 FADH ₂)	24	4 CO ₂
TOTALE		4	34	38	6 CO ₂

Schema riassuntivo della formazione di ATP (glicolisi → ciclo di Krebs)



8) Il significato **catalitico** del ciclo di Krebs

Come abbiamo visto l'ossalacetato è necessario per iniziare il ciclo di Krebs ma viene rigenerato alla fine del ciclo, per cui formalmente non viene consumato durante il ciclo. Al contrario il gruppo acetile dell'acetil-CoA viene formalmente consumato (convertito in CO_2) in ogni ciclo.

Considerando, quindi, il ciclo di Krebs nella sua globalità l'ossalacetato non viene né consumato né prodotto, ma consente una rapida ossidazione del gruppo acetile. Se consideriamo le 8 reazioni del ciclo come un'unica reazione chimica che converte l'acetile in CO_2 possiamo dire che l'ossalacetato si è comportato come una sorta di catalizzatore: **i catalizzatori per definizione non sono prodotti consumati durante una reazione ma accelerano la velocità di reazione**. Il ciclo di Krebs ha dunque una natura catalitica: questo concetto non deve essere confuso con la normale attività catalitica degli enzimi che agiscono a livello delle singole reazioni. La partecipazione dell'acetil-CoA al ciclo viene detta stechiometrica per distinguerla dalla partecipazione catalitica dell'ossalacetato (*stechiometrico è un termine che indica che il substrato viene consumato quantitativamente; la stechiometria è quella parte della chimica che studia gli aspetti quantitativi delle reazioni chimiche*). Ogni giro del ciclo viene consumata una molecola di acetil-CoA e quindi bisogna rifornire continuamente il ciclo di acetil-CoA affinché possa continuare.

Acetil-CoA: substrato stechiometrico

Ossalacetato: substrato rigenerato.

(NOTA: Anche se è stato dimostrato, mediante studi con radioisotopi, che gli atomi di carbonio che sono liberati sotto forma di CO_2 sono quelli dell'ossalacetato di partenza, alla fine del ciclo l'ossalacetato viene rigenerato e, quindi, dal punto di vista della reazione globale abbiamo trasformato un gruppo acetile in 2 molecole di CO_2 senza consumare ossalacetato).

9) Convergenza delle principali vie metaboliche nel ciclo di Krebs.

Il piruvato e l'acetil-CoA per il ciclo di Krebs non derivano solo dai glicidi. Il piruvato può derivare da aminoacidi (ad es. alanina per transaminazione). L'acetil-CoA può derivare da aminoacidi o dall'ossidazione degli acidi grassi. Diversi intermedi del ciclo di Krebs possono derivare dal metabolismo degli aminoacidi (chetoglutarato, ossalacetato, fumarato, succinil-CoA).

Il ciclo di Krebs rappresenta, quindi, un punto di convergenza del metabolismo glicidico, lipidico ed aminoacidico.

10) Il significato **anfibolico** del ciclo di Krebs

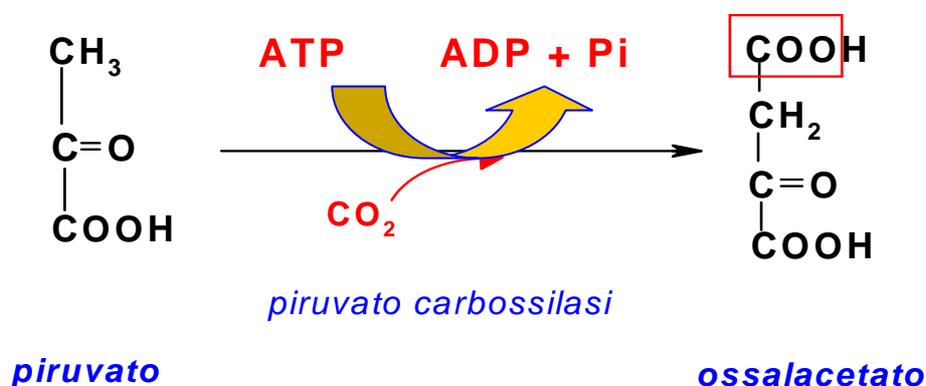
Il ciclo di Krebs è fondamentalmente un processo catabolico ossidativo: ossidazione dell'acetil-CoA ad anidride carbonica con la concomitante formazione di nucleosidi trifosfati e coenzimi NAD e FAD ridotti. Tuttavia gli intermedi del ciclo di Krebs possono servire anche da precursori per una serie di reazioni biosintetiche (anaboliche). Per questo si dice che il ciclo di Krebs è anfibolico cioè può avere sia significato catabolico che anabolico.

Intermedi del ciclo di Krebs possono essere impiegati per la sintesi di glucidi, lipidi, proteine o altri composti azotati.

Citrato mitocondriale → *citrato citosolico* → *sintesi di acidi grassi*
alfa-chetoglutarato → *glutammato (aminoacido)*
Ossalacetato → *aspartato (aminoacido)*
Ossalacetato → *gluconeogenesi*
Succinil-CoA → *sintesi porfirine*

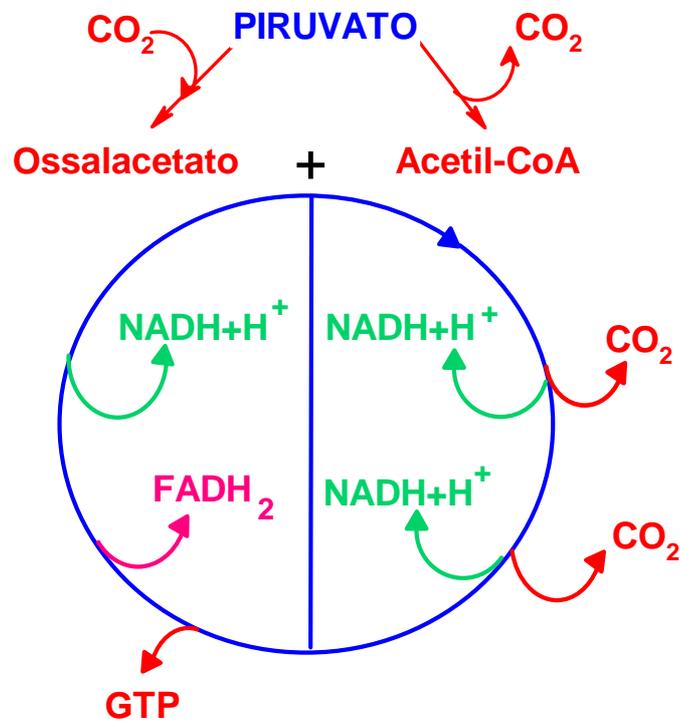
11) Le reazioni anaplerotiche del ciclo di Krebs.

Dobbiamo ora capire l'origine metabolica dell'ossalacetato che dà inizio al ciclo di Krebs. Inoltre, sebbene l'ossalacetato non venga consumato durante il ciclo, le reazioni anaboliche che utilizzano intermedi del ciclo di Krebs (vedi sopra) possono ridurre i livelli di ossalacetato. Sono necessarie, quindi, delle reazioni che abbiano il compito di formare ossalacetato ed intermedi del ciclo di Krebs (*reazioni anaplerotiche o di riempimento*). Un'importante reazione anaplerotica è quella che porta alla formazione di ossalacetato da piruvato e anidride carbonica (carbossilazione del piruvato). La reazione viene catalizzata dall'enzima piruvato carbossilasi e richiede l'idrolisi di una molecola di ATP.



Quindi ambedue i substrati di partenza del ciclo di Krebs (ossalacetato ed acetil-CoA) possono formarsi dal piruvato (decarbossilazione ossidativa del piruvato o carbossilazione del piruvato).

E' significativo che l'attività della piruvato carbossilasi sia stimolata dall'acetil-CoA, cioè dal metabolita che deve essere ossidato nel ciclo di Krebs con l'ausilio dell'ossalacetato.



Capitolo IV

Catena di trasporto degli elettroni mitocondriale e fosforilazione ossidativa

- 1) *La riossidazione del NAD ridotto e la sintesi di ATP*
- 2) *Il potenziale di ossido-riduzione standard*
- 3) *I componenti della catena respiratoria*
- 4) *Il complesso II e gli altri punti di ingresso della catena respiratoria*
- 5) *La fosforilazione ossidativa e la teoria chemiosmotica*
- 6) *ATP sintasi o F_0F_1 ATPasi*
- 7) *Il rapporto P:O*
- 8) *Controllo respiratorio*
- 9) *Inibitori e disaccoppianti*
- 10) *Proteine disaccoppianti*
- 11) *Il genoma mitocondriale*
- 12) *La teoria dell'origine endosimbiotica dei mitocondri*

1) La riossidazione del NAD ridotto e la sintesi di ATP.

Come abbiamo visto nei capitoli precedenti, uno dei meccanismi fondamentali del catabolismo ossidativo è la **formazione di NAD ridotto ($\text{NADH}+\text{H}^+$) durante la deidrogenazione di intermedi metabolici**.

La successiva riossidazione del NAD ridotto in un processo che richiede ossigeno (catena di trasporto degli elettroni mitocondriale) fornisce l'energia per uno dei meccanismi principali di sintesi dell'ATP (fosforilazione ossidativa).

La riossidazione del NAD ridotto ($\text{NADH}+\text{H}^+$) avviene mediante trasferimento degli idrogeni all'ossigeno con formazione di acqua.



Si tratta, quindi, di una reazione di ossido-riduzione nel corso della quale viene riossidato il NAD (da $\text{NADH}+\text{H}^+$ a NAD^+) e l'ossigeno ($\frac{1}{2}\text{O}_2$) viene ridotto ad acqua. (*reazioni di ossido-riduzione = reazioni di trasferimento di elettroni*).

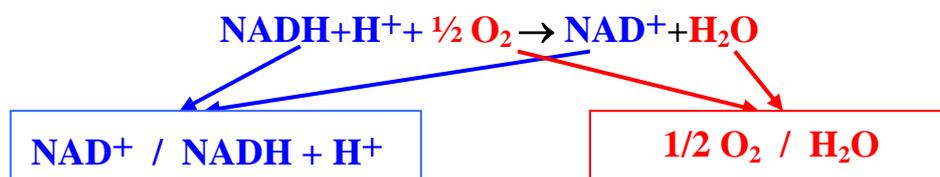
2) Il potenziale di ossido- riduzione standard

E' possibile calcolare quanta energia viene liberata in una reazione di ossido-riduzione, come la riossidazione del NAD?

Per rispondere a questa domanda introduciamo alcuni semplici concetti di elettrochimica.

Innanzitutto in una reazione di ossidoriduzione possiamo individuare due **coppie redox** dove per *coppia redox si intende un elemento o un composto sia nella forma ossidata che nella forma ridotta*.

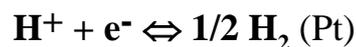
Nel caso della reazione di riossidazione del NAD con ossigeno le due coppie redox saranno:



Ogni coppia redox può essere caratterizzata da un valore chiamato “**potenziale di ossidoriduzione standard**”.

Il potenziale di ossidoriduzione standard (in biochimica viene calcolato a 25°C e a pH 7 ed indicato con il simbolo E'_o) indica la **tendenza di una coppia redox a cedere o ad acquistare elettroni**.

Non si tratta di un valore assoluto, ma di un valore relativo. Per costruire una scala di potenziali di ossido riduzione per tutte le coppie redox è stata scelta una coppia redox di riferimento alla quale è stato assegnato il valore 0. Tale coppia di riferimento è la coppia redox dell'idrogeno (elettrodo ad idrogeno).



Potenziale di ossido-riduzione standard (E'_o): differenza di potenziale tra la semicella di prova contenete concentrazione 1M della coppia redox in esame e la semicella di riferimento (elettrodo ad idrogeno).

In biochimica: E'_o a 25°C e a pH7.

Tanto più negativo è il potenziale di ossido-riduzione tanto maggiore sarà la tendenza a cedere elettroni.

La coppia redox $\text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NAD}^+$ ha un potenziale redox standard di:
- 0,32 Volt.

L'altra coppia redox $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \frac{1}{2} \text{O}_2$ ha un potenziale redox standard di:
+ 0,82 Volt.

Tra le due Coppie Redox c'è una differenza di **1,14 Volt:**

$$+ 0,82 \text{ Volt.} - (- 0,32 \text{ Volt.}) = \Delta E^{\circ} \text{ 1,14 Volt.}$$

In definitiva gli elettroni scorreranno dal componente con potenziale redox più negativo ($\text{NADH} + \text{H}^+$ -0.32 volt) a quello con potenziale più positivo (O_2 + 0.82 volt).

Conoscendo il ΔE° , è possibile calcolare la variazione di energia libera standard (ΔG°) associata al flusso di elettroni dal NAD all'ossigeno.

Il valore ΔE 1,14 volt corrisponde ad un ΔG di - 52.11 Kcal per mole di NADH riossidato.

La formula che mette in relazione ΔG° e ΔE° è la seguente:

$$\Delta G^{\circ} = -n F \Delta E^{\circ}$$

dove n indica il numero di elettroni coinvolti nella reazione di ossido-riduzione e F è la costante di Faraday.

E' stato dimostrato sperimentalmente che l'energia liberata durante il trasferimento di 2 elettroni dal $\text{NADH} + \text{H}^+$ all'ossigeno (52.11 Kcal) permette la sintesi di 3 molecole di ATP (energia: $3 \times 7.5 \text{ Kcal} = 22.5 \text{ Kcal}$). Pertanto la resa del processo di fosforilazione ossidativa risulta del **43%** ($22.5 / 52.11 \times 100$).

E' importante chiarire che non si tratta di un trasferimento diretto degli elettroni dal $\text{NADH} + \text{H}^+$ all'ossigeno: in realtà tra il $\text{NADH} + \text{H}^+$ e l'ossigeno sono interposte una serie di coppie redox (trasportatori di elettroni) a potenziale redox progressivamente crescente. Il salto di potenziale redox di 1.14 volt è quindi suddiviso in una serie di salti minori e l'energia viene liberata gradualmente durante il trasporto degli elettroni lungo questa sequenza di coppie redox. Questa serie di coppie redox a potenziale crescente che permette il flusso degli elettroni dal NAD ridotto (o come vedremo più avanti dal FAD ridotto e da altri substrati) fino all'ossigeno viene chiamata "**catena di trasporto degli elettroni mitocondriale**" o "**catena respiratoria mitocondriale**". Considerando, infatti, il consumo di ossigeno (che viene ridotto in acqua) la catena respiratoria rappresenta l'essenza del fenomeno della **respirazione cellulare** (consumo di ossigeno).

3) I componenti della catena respiratoria.

La catena respiratoria è formata da una serie di trasportatori di elettroni, a potenziale redox crescente, localizzati nella membrana mitocondriale interna e deputati al trasferimento degli elettroni dal NAD ridotto e dal FADH_2 all'ossigeno con formazione di acqua. L'energia liberata durante questo trasferimento di

elettroni viene utilizzata per la sintesi di ATP (fosforilazione ossidativa), per il trasporto di ioni e metaboliti o dispersa sotto forma di calore.

Tra i componenti della catena respiratoria possiamo distinguere: i *complessi lipoproteici* (complessi I, II, III, IV) e i *componenti mobili* (coenzima Q e citocromo C)

● COMPLESSO I

Trasferisce gli elettroni dal NAD ridotto (che si è formato nelle reazioni deidrogenasiche del metabolismo: vedi glicolisi, decarbossilazione ossidativa del piruvato, ciclo di Krebs, beta ossidazione degli acidi grassi) al coenzima Q.



Questo complesso enzimatico localizzato nello spessore della membrana mitocondriale interna (detto anche *NADH+H⁺ deidrogenasi* o *NADH+H⁺: CoQ riduttasi*) è formato da numerosi polipeptidi e contiene come centri redox il flavin mononucleotide (FMN) e dei centri ferro-zolfo.

Il complesso I occupa l'intero spessore della membrana mitocondriale interna, ma possiede il sito di legame per il NADH+H⁺ rivolto verso la matrice mitocondriale, così da poter interagire con il NAD ridotto prodotto dalle varie reazioni deidrogenasiche che hanno luogo nella matrice mitocondriale (vedi decarbossilazione ossidativa del piruvato, ciclo di Krebs, beta ossidazione degli acidi grassi).

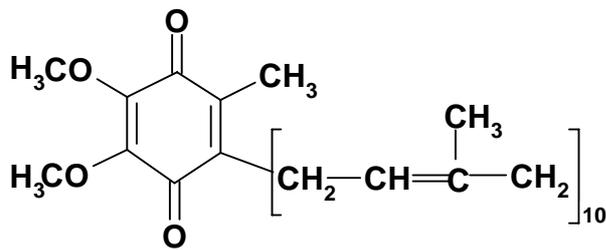
La NADH+H⁺ deidrogenasi riceve gli elettroni dal NAD ridotto mitocondriale e li trasferisce al FMN che a sua volta li cede ai centri ferro-zolfo. Gli ioni ferro partecipano al trasferimento degli elettroni passando dalla forma ossidata (Fe⁺⁺⁺) alla forma ridotta (Fe⁺⁺)

● COENZIMA Q o UBICHINONE.

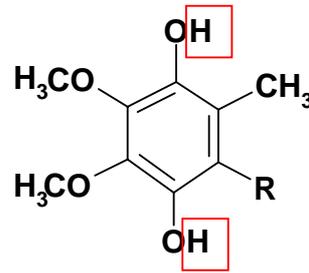
È un chinone (dichetone ciclico) liposolubile dotato di una lunga catena laterale isoprenoide formata nei mammiferi da 10 unità isopreniche (ogni unità isoprenica è formata da 5 atomi di carbonio). Per tale motivo è anche indicato come Q₁₀.

Grazie a questa lunga catena laterale alifatica, idrofobica e non ancorata a proteine, l'ubichinone gode di ampia mobilità nello spessore della membrana mitocondriale interna (componente mobile). Può interagire con il complesso I (e con altri complessi, come vedremo più avanti) accettando elettroni e riducendosi (*ubiquinolo: forma ridotta o idrochinonica*) e successivamente, può riossidarsi cedendo gli elettroni al complesso III. Il coenzima Q funge da collettore di tutti gli equivalenti riducenti mitocondriali.

Il prefisso ubi (dal latino *ubique* dappertutto) indica la sua presenza in tutti gli organismi che respirano.



**Coenzima Q (CoQ) o ubiquinone
forma ossidata o chinonica**

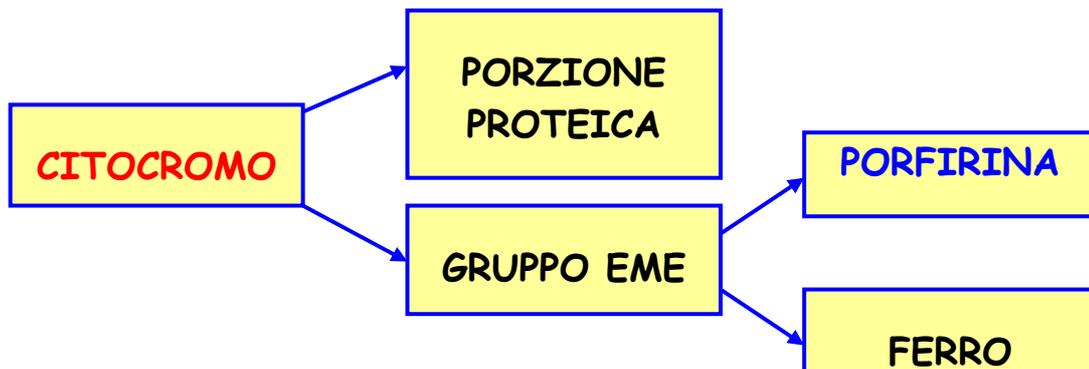


**Coenzima QH2 o ubiquinolo
forma ridotta o idrochinonica**

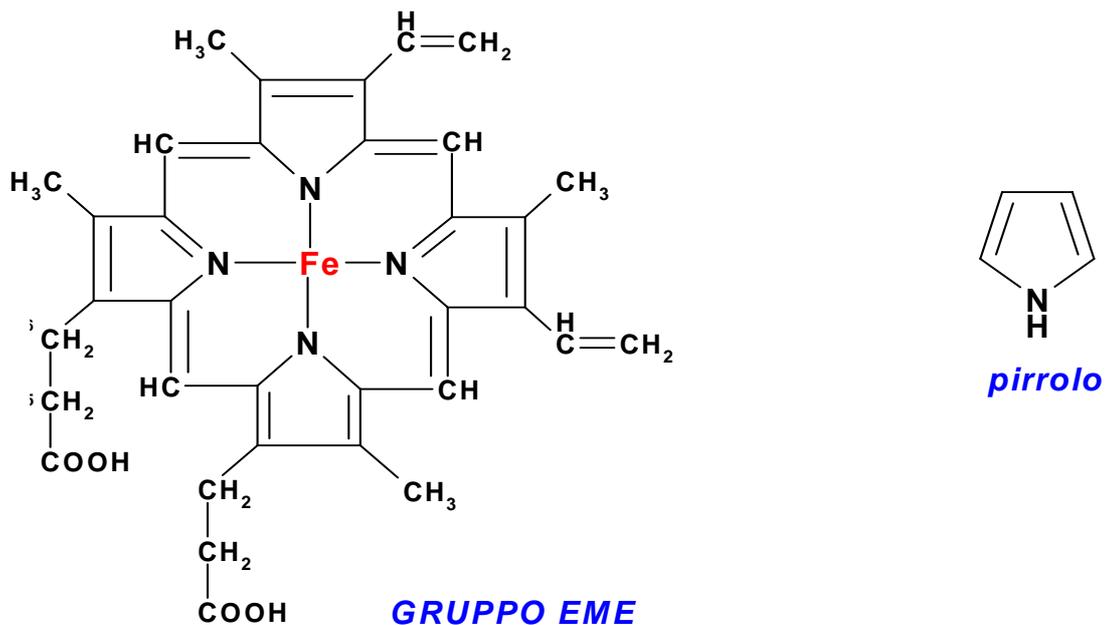
● CITOCROMI

I citocromi sono componenti della catena respiratoria che trasportano in serie gli elettroni dal CoQ all'ossigeno.

Sono *proteine coniugate*, cioè formate da una porzione proteica e da una porzione non-proteica. La porzione non proteica dei citocromi è rappresentata da un **gruppo eme**



A sua volta il gruppo eme è formato da una **porfirina** (composto ciclico formato da 4 anelli pirrolici legati fra di loro e da diversi sostituenti angolari) e da un atomo di **ferro** legato agli azoti degli anelli pirrolici.



A differenza delle emoproteine che trasportano l'ossigeno (emoglobina e mioglobina) nelle quali il ferro è sempre allo stato ridotto, il ferro dei citocromi può accettare e cedere un elettrone oscillando reversibilmente tra lo stato ridotto (Fe^{++} , ferro bivalente, ferroeme, stato ridotto, forma ferrosa) e lo stato ossidato (Fe^{+++} , ferro trivalente, ferrieme, stato ossidato, forma ferrica). I citocromi sono, quindi, dei trasportatori di elettroni singoli. Per ogni molecola di CoQH_2 da riossidare è quindi necessaria una coppia di citocromi.

Si distinguono diversi citocromi (indicati con lettere minuscole) che differiscono:

- per la porzione proteica;
- per la struttura del gruppo eme (sostituenti laterali dell'anello porfirinico: eme a, eme b, eme c);
- per i legami tra gruppo eme e proteina.

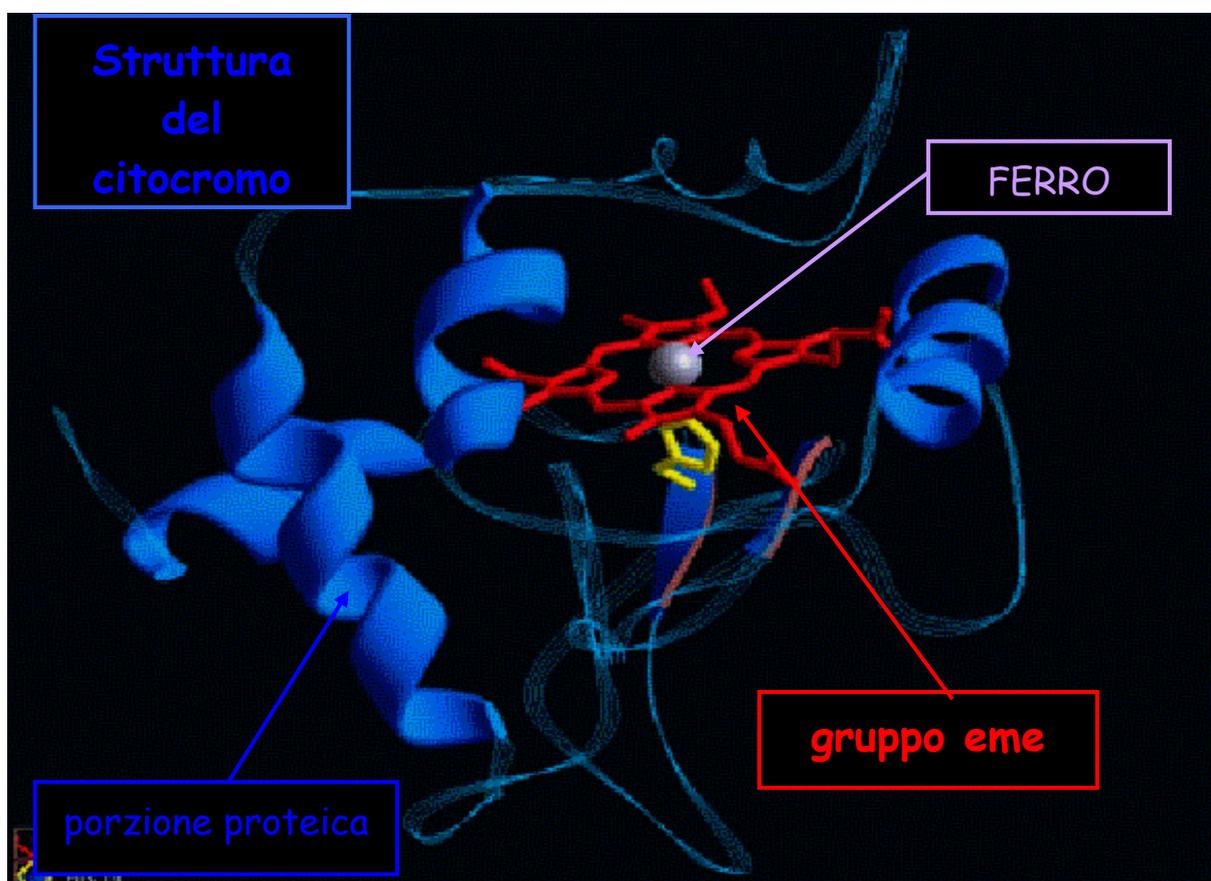
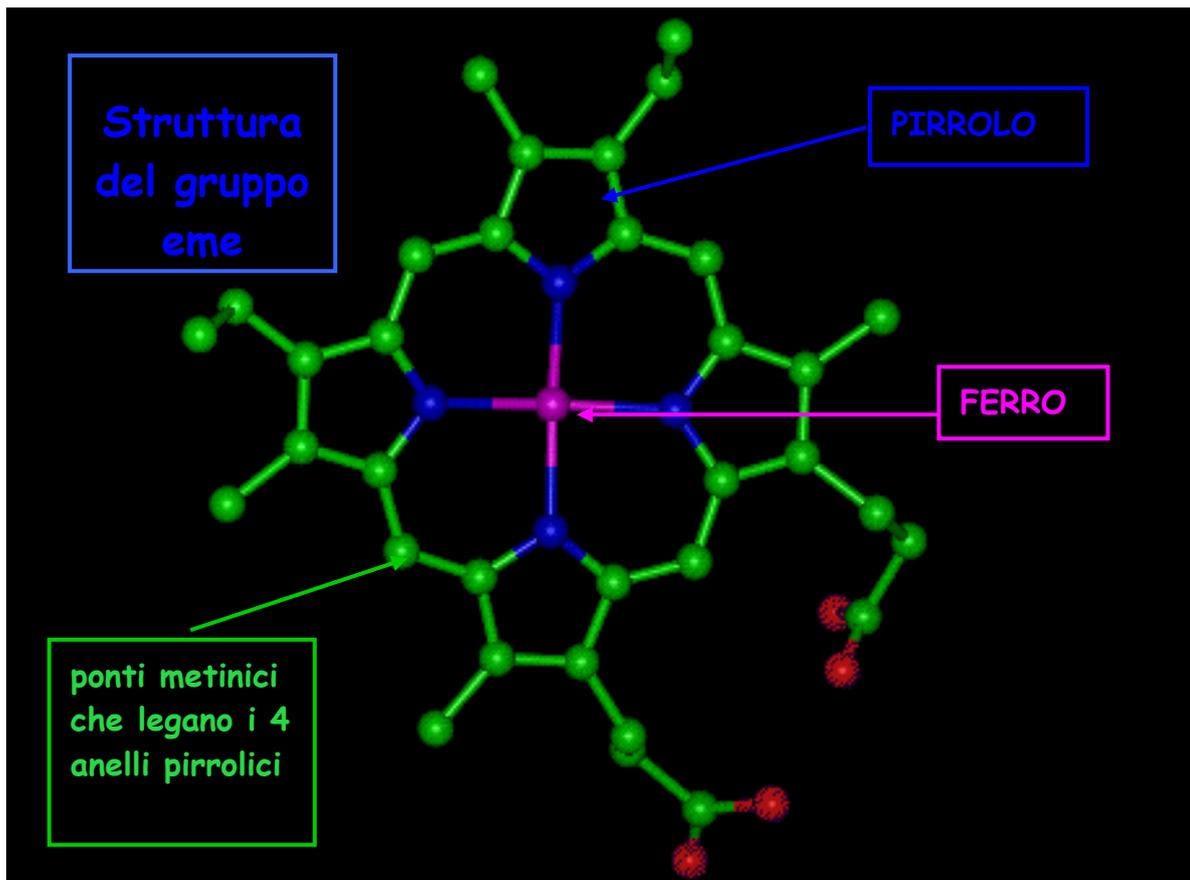
I seguenti citocromi fanno parte della catena di trasporto degli elettroni mitocondriale:

nel complesso III → citocromo b_{566} , citocromo b_{562} , citocromo c₁

componente mobile → citocromo c

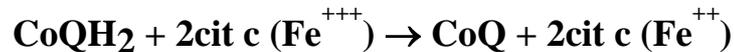
nel complesso IV → citocromo a, citocromo a_3

Esistono altri citocromi che non fanno parte della catena di trasporto degli elettroni mitocondriale, ma che intervengono in altri processi metabolici (es.: citocromi P450, citocromo b_5).



● COMPLESSO III

Trasferisce gli elettroni *dal coenzima Q ridotto al citocromo c*. Viene chiamato anche *citocromo C reduttasi*.



Il complesso III contiene diverse coppie redox: i citocromi b₅₆₆ e b₅₆₂, un centro ferro-zolfo, ed il citocromo c₁.

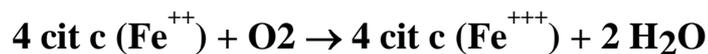
● CITOCROMO C

Il citocromo c rappresenta il secondo componente mobile della catena respiratoria e *trasferisce gli elettroni dal complesso III al complesso IV*.

E' il più piccolo tra i citocromi (la sua catena proteica è formata da 104 aminoacidi) e, come tutti i citocromi, contiene un gruppo eme. I sei legami coordinativi del ferro del gruppo eme sono così impegnati: 4 legami con gli azoti degli anelli pirrolici della porfirina, i rimanenti 2 legami con residui aminoacidici della porzione proteica (istidina 18 e metionina 80). Il ferro del *citocromo c* non ha quindi legami coordinativi liberi e, a differenza dell'emoglobina, non può legare ossigeno. Il citocromo c è localizzato sulla superficie esterna della membrana mitocondriale interna a cui è legato con legami deboli. Si tratta, dunque, di una proteina periferica o estrinseca di membrana (gli altri citocromi fanno parte dei complessi lipoproteici di membrana formati da proteine intrinseche di membrana, cioè proteine immerse nello spessore della membrana).

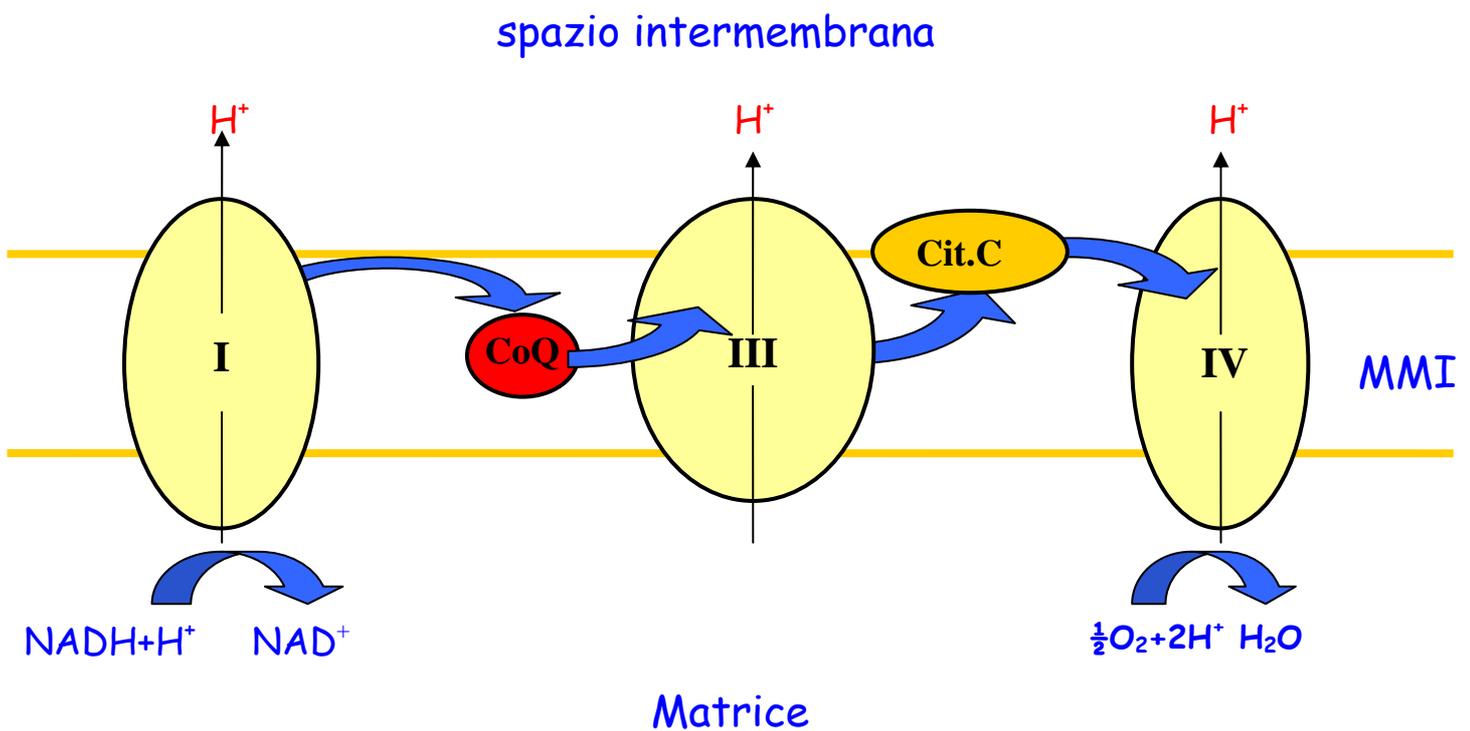
● COMPLESSO IV

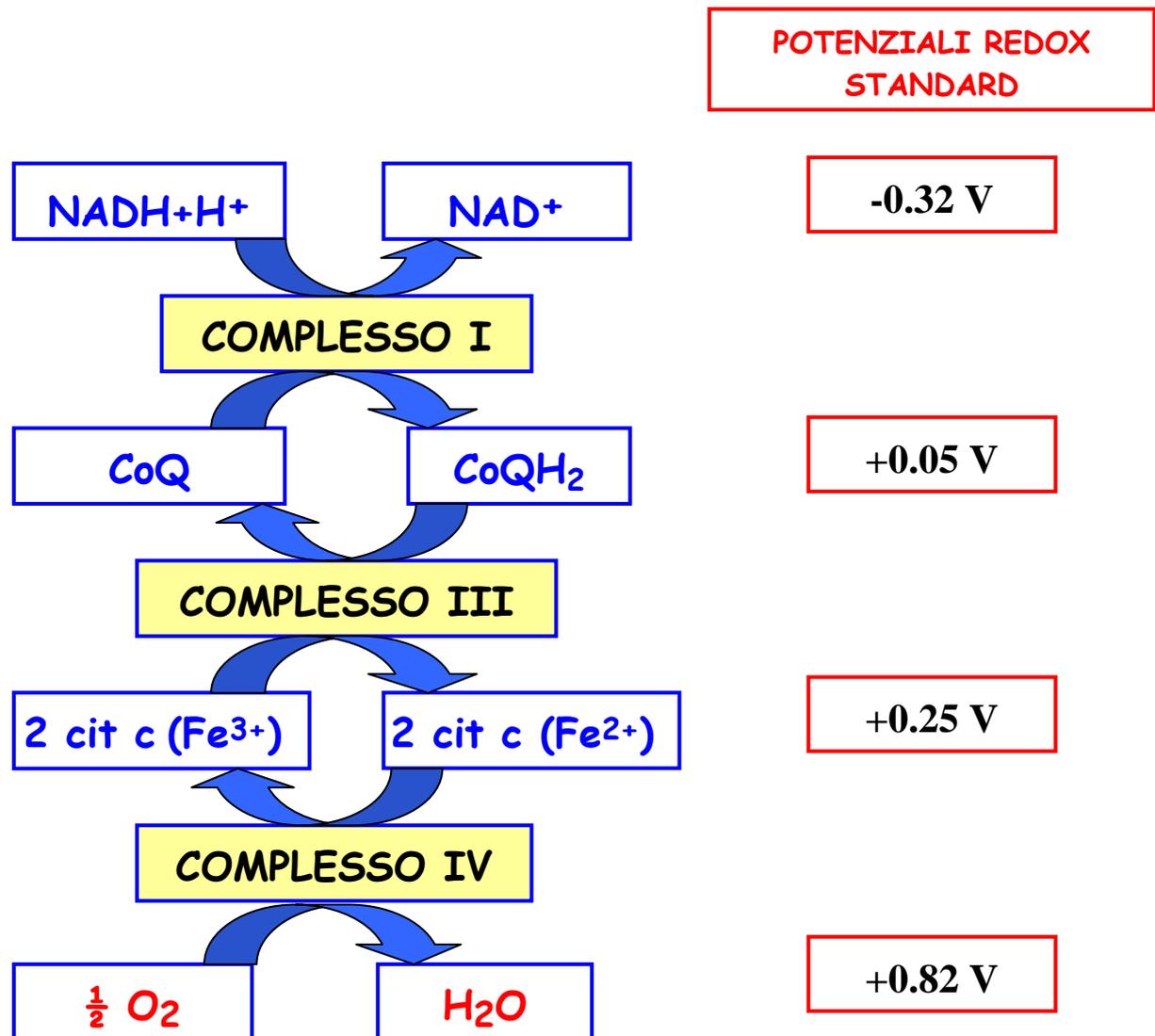
Il complesso IV trasferisce gli elettroni dal citocromo c all'ossigeno con formazione di acqua. Viene anche chiamato *citocromo C ossidasi (Cox)*.



Contiene come coppie redox 2 citocromi (*citocromo a* e *citocromo a₃*) e 2 atomi di rame (CuA e CuB). Il complesso binucleare citocromo a₃ e CuB reagisce con l'ossigeno. Questi due citocromi, in particolare il cit.a₃, differiscono sostanzialmente dai precedenti: la struttura proteica dei citocromi b,c e c₁ consente di schermare l'atomo di Ferro presente all'interno della struttura porfirinica in modo che non riesca a reagire con l'ossigeno. Il citocromo a₃ *deve* invece poter reagire con l'ossigeno, l'accettore finale di elettroni della catena respiratoria.

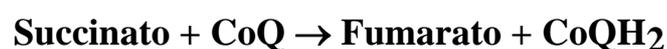
In breve gli elettroni vengono trasportati dal complesso I al complesso III mediante il coenzima Q e dal complesso III al complesso IV mediante il citocromo c. Ogni volta che una coppia di elettroni attraversa uno dei complessi (complesso I, III, IV) il salto di potenziale redox rilascia energia libera sufficiente per promuovere la sintesi di una molecola di ATP.



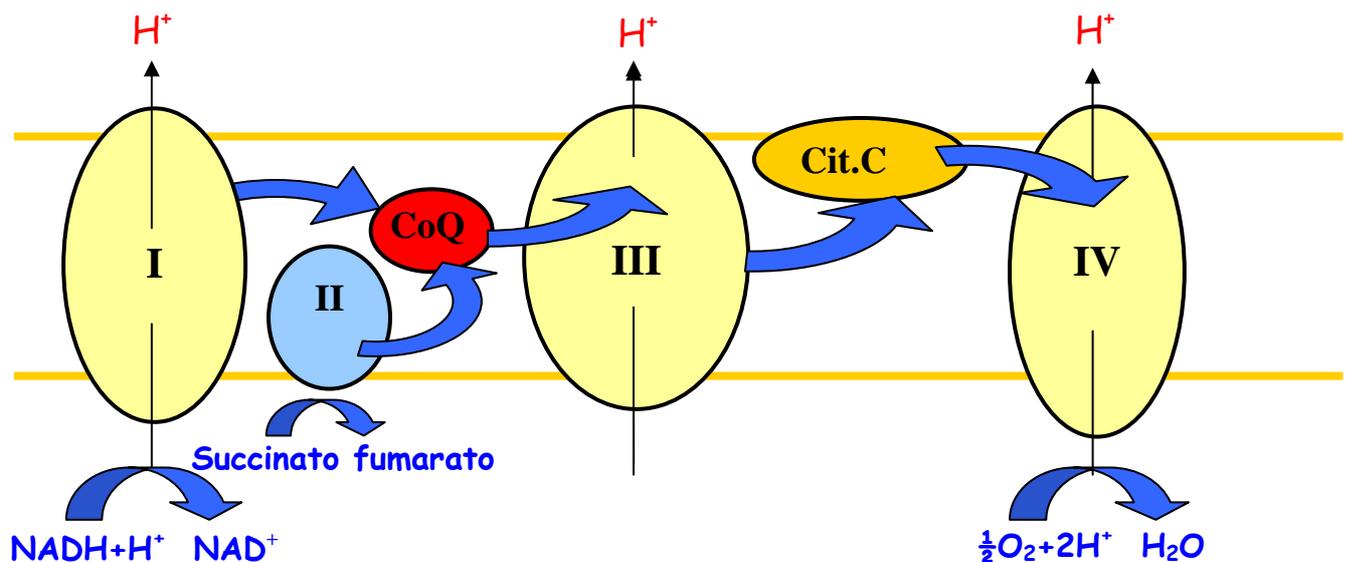


4) Il complesso II e gli altri punti di ingresso della catena respiratoria.

Oltre alla NADH+H⁺ deidrogenasi FMN dipendente, un'altra deidrogenasi convoglia elettroni al CoQ riducendolo. Questa deidrogenasi è un enzima del ciclo di Krebs, la *succinato deidrogenasi* FAD-dipendente, enzima che catalizza la deidrogenazione del succinato in fumarato.



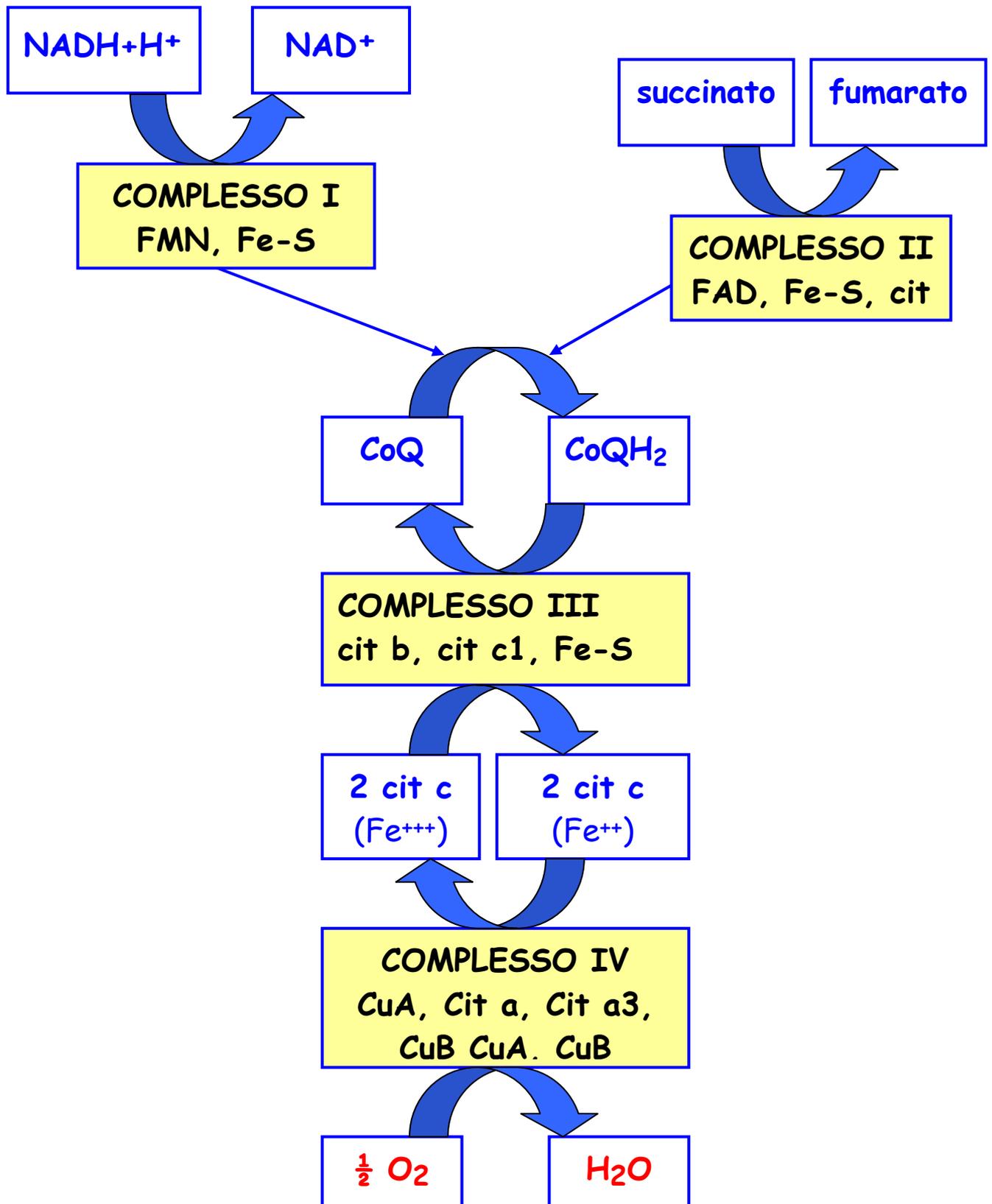
E' il solo enzima del ciclo di Krebs ad essere legato alla membrana mitocondriale interna. Contiene una molecola di FAD, dei centri ferro-zolfo e un citocromo (b_{560}). Gli elettroni passano dal succinato al FAD e poi attraverso i centri Fe-S ed il citocromo all'ubichinone. Diversamente dai complessi I-III-IV il complesso II non presenta attività di pompa protonica ed il potenziale redox della coppia succinato/fumarato è più positivo (+0.03) rispetto alla coppia NADH/NAD⁺. Quindi il trasferimento di elettroni da una mole di succinato (o di FADH₂) fino all'ossigeno tramite i complessi II-III-IV fornirà l'energia per la sintesi di 2 moli di ATP.



Esistono altri complessi che permettono il trasferimento di elettroni da substrati metabolici al coenzima Q, senza però presentare attività di pompa protonica:

- 1) *Acil-CoA deidrogenasi*. E' primo enzima della beta-ossidazione (vedi lezione sull'argomento). E' un enzima FAD-dipendente che viene poi riossidato da un altro enzima FAD-dipendente, la "electron transferring flavoprotein" (ETFP). La ETFP, tramite un centro ferro-solfo, trasferisce gli elettroni al Coenzima Q.
- 2) *Glicerolo-3-fosfato deidrogenasi FAD-dipendente mitocondriale*. E' un enzima localizzato nella membrana mitocondriale interna, ma con il sito catalitico che lega il glicerofosfato rivolto verso lo spazio intermembrana. Fa parte di uno dei sistemi shuttle per il trasporto degli equivalenti riducenti dal citosol al mitocondrio.

Quindi il coenzima Q rappresenta un punto di convergenza per l'ingresso nella catena respiratoria di elettroni provenienti da diversi substrati.



5) La fosforilazione ossidativa e la teoria chemiosmotica.

Nei mitocondri la sintesi dell'ATP da ADP e Pi è catalizzata da un altro complesso proteico della membrana interna: **il complesso V o ATP sintasi**. L'energia liberata durante il trasporto degli elettroni attraverso i complessi I-IV deve essere trasferita in una forma utilizzabile dall'ATP sintasi. Si parla di un **accoppiamento energetico** tra trasporto degli elettroni nella catena respiratoria e la sintesi di ATP a livello dell'ATP sintasi. Il meccanismo più accreditato è quello descritto nella cosiddetta "teoria chemiosmotica" elaborata da **Peter Mitchell**, il quale ha ricevuto per i suoi lavori il premio Nobel per la chimica nel 1978.

Tale teoria sostiene che l'energia liberata durante il trasporto degli elettroni viene utilizzata per pompare idrogenioni (H^+ o protoni) dalla matrice mitocondriale allo spazio intermembrana. Si crea così, una differenza nella concentrazione di protoni nelle zone adiacenti i due lati della membrana mitocondriale interna: la zona della matrice presenta una concentrazione protonica più bassa rispetto al lato citosolico della membrana mitocondriale interna. Si dice che si è stabilito un **gradiente elettrochimico di H^+ (protoni)** tra i due lati della membrana mitocondriale interna. L'energia conservata in questo gradiente è formata da due componenti (come indicato dal termine "elettrochimico"):

- 1) una componente è *l'energia potenziale chimica* associata alla differenza di concentrazione della specie chimica H^+ tra le due regioni separate dalla membrana;
- 2) la seconda componente è la *differenza di potenziale elettrico* tra i due lati della membrana dovuta al fatto che la specie chimica, con differente concentrazione tra i due lati della membrana, è uno ione e presenta una carica positiva.

Ricordiamo che la concentrazione degli H^+ , idrogenioni, viene misurata in unità di pH. Il pH è il logaritmo negativo della concentrazione idrogenionica.

Il gradiente elettrochimico protonico ha dunque 2 componenti:

- il ΔpH , la differenza di pH tra le due regioni separate dalla membrana mitocondriale interna (matrice più alcalina)
- il $\Delta \psi$, la differenza di potenziale elettrico tra i due lati della membrana mitocondriale interna (matrice più negativa).

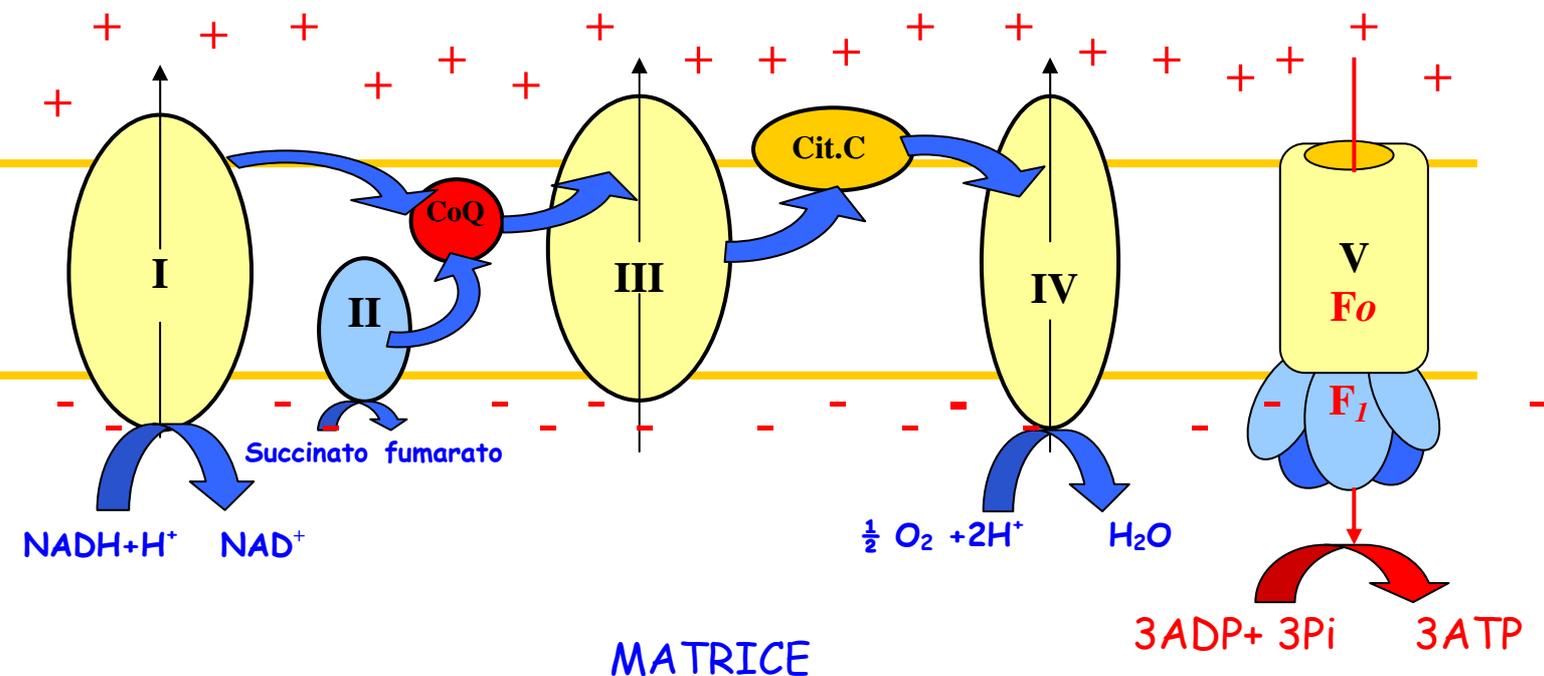
L'energia libera conservata sotto forma di un gradiente elettrochimico protonico (detta anche **forza motrice protonica**) verrà successivamente utilizzata per sintetizzare ATP mediante l'ATP sintasi. *I complessi I, III, IV possono essere considerati delle vere pompe protoniche che utilizzano l'energia liberata dal trasporto degli elettroni per pompare contro gradiente protoni dalla matrice allo spazio intermembrana.*

6) ATP sintasi o F_0F_1 ATPasi.

L'*ATP sintasi*, conosciuta anche come *F_0F_1 ATPasi*, è una proteina transmembrana (della membrana mitocondriale interna) costituita da due unità funzionali: una porzione F_0 che attraversa l'intero spessore della membrana (*F₀ significa fattore che lega l'antibiotico oligomicina*) e una porzione globulare F_1 che sporge nella matrice mitocondriale (vedi figura). F_0 è un canale protonico transmembrana, mentre F_1 è una proteina periferica di membrana che contiene i siti catalitici per la sintesi di ATP rivolti verso la matrice. La componente F_1 è associata alla componente F_0 per mezzo di uno stelo proteico. I corpi sferoidali, osservabili in microscopia elettronica, sulla superficie interna della membrana mitocondriale interna sono le porzioni F_1 .

La forza motrice protonica (o gradiente elettrochimico protonico), precedentemente formata durante il trasporto di elettroni nella catena respiratoria, permette un movimento di protoni a favore di gradiente lungo il canale rappresentato dalla porzione F_0 (la membrana mitocondriale interna non è permeabile ai protoni). Il passaggio di protoni lungo la porzione F_0 provoca un cambiamento di conformazione nella porzione F_1 che determina la sintesi di ATP.

Spazio intermembrana



È possibile dissociare in provetta la porzione F_1 dalla porzione F_0 mediante un trattamento con urea. F_1 dissociato da F_0 non è in grado di sintetizzare ATP, ma lo idrolizza: per questo motivo la proteina F_1 è stata anche chiamata ATPasi mitocondriale.

7) Il rapporto P:O.

Il rapporto P:O indica il numero di molecole di fosfato inorganico (P) che vengono incorporate nell'ADP (per formare ATP) per ogni atomo di ossigeno che viene ridotto ad acqua. Nel caso della riossidazione del NADH il rapporto P:O è uguale a 3, cioè 3 moli di ATP si formano per mole di NAD riossidato. L'ossidazione del succinato e degli altri substrati (glicerofosfato, acilCoA) che cedono gli elettroni al CoQ attraverso i rispettivi complessi (complesso II, glicerolo fosfato deidrogenasi, acilCoA deidrogenasi e ETP) producono un P:O di 2.

Nel corso di queste lezioni abbiamo utilizzato i valori classici del rapporto P:O cioè 3 ATP formati per mole di NADH riossidato e 2 ATP per mole di $FADH_2$ riossidato. Alcuni dati attualmente disponibili indicano che questi valori andrebbero rivisti e suggeriscono 2,5 ATP per il NAD e 1,5 ATP per il FAD. Con i nuovi valori dall'ossidazione completa di una mole di glucosio (attraverso la glicolisi, la decarbossilazione ossidativa del piruvato, il ciclo di Krebs e la fosforilazione ossidativa) si otterrebbero 32 ATP (anziché 38 come calcolato con i valori classici).

In questo corso continueremo ad utilizzare i valori classici per il calcolo del bilancio energetico delle vie metaboliche, ma ricordatevi che questi valori sono in discussione.

8) Controllo respiratorio.

In condizioni fisiologiche il trasporto degli elettroni è strettamente accoppiato alla sintesi dell'ATP. Non si ha trasporto degli elettroni e consumo di ossigeno nella catena respiratoria se contemporaneamente l'ADP non viene fosforilato ad ATP. Questo stretto accoppiamento è rivelato dal fatto che la velocità di consumo di ossigeno di una sospensione mitocondriale dipende dalle concentrazioni di ADP disponibile per la fosforilazione. Se tutto l'ADP è stato convertito in ATP il consumo di ossigeno diminuisce drasticamente.

Nei mitocondri isolati è possibile misurare il consumo di ossigeno mediante l'ossigrafo, un apparecchio dotato di un elettrodo sensibile alle variazioni della concentrazione di ossigeno. Nel grafico (a) sono riportati i valori sperimentali del consumo di ossigeno in mitocondri incubati con substrato ossidabile e fosfato: il consumo di ossigeno è scarso come si evince dalla lieve pendenza della curva. Quando si aggiunge ADP la velocità del consumo di ossigeno aumenta (forte

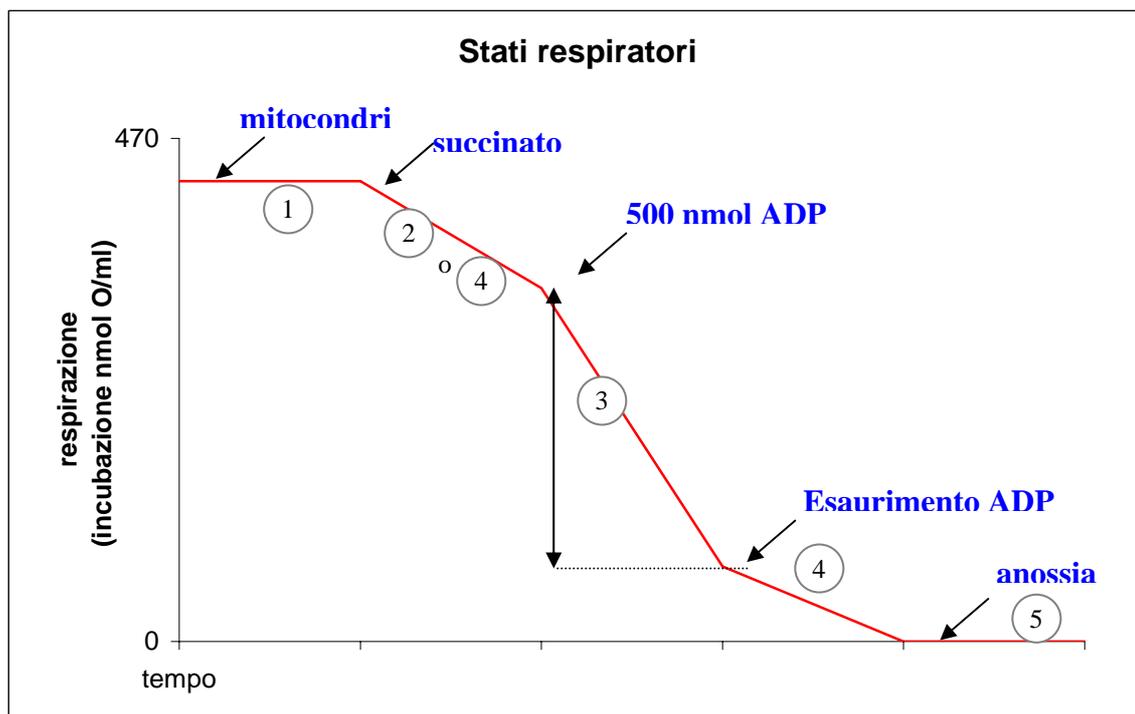
pendenza della curva) per rallentare nuovamente quando tutto l'ADP è stato fosforilato in ATP. Ulteriori aggiunte di ADP provocano una risposta analoga alla precedente.

Si chiama indice di controllo respiratorio il rapporto tra la velocità di consumo di ossigeno in presenza di ADP e la velocità in assenza di ADP.

Attraverso la traccia ossigrafica è possibile misurare il consumo di ossigeno un minuto prima e un minuto dopo l'aggiunta di ADP, ovvero in assenza (stato 2 o 4) e in presenza (stato 3) di ADP.

L'indice di controllo respiratorio equivale al rapporto tra la velocità del consumo di O₂ in stato 3 e la velocità del consumo di O₂ in stato 4:

$$\text{Indice Controllo Respiratorio} = \frac{\text{velocità respiratoria (Stato 3)}}{\text{velocità respiratoria (Stato 4)}}$$



Un alto valore dell'indice di controllo respiratorio indica un buon accoppiamento mitocondriale. In genere più elevato è questo indice, maggiore è l'efficienza fosforilativa dei mitocondri e più stretto l'accoppiamento tra processo ossidativo e fosforilativo.

Per definire l'indice di controllo respiratorio abbiamo utilizzato le definizioni di stato 3 e stato 4. Questa terminologia è stata introdotta per identificare le possibili condizioni sperimentali di una sospensione mitocondriale durante gli esperimenti di consumo di ossigeno.

Ecco schematicamente il significato degli altri stati:

Stato 1: mitocondri isolati in presenza di fosfato ma senza substrato

Stato 2: viene aggiunto il substrato (la respirazione resta bassa a causa della mancanza di ADP)

Stato 3: viene aggiunto l'ADP (respirazione rapida)

Stato 4: tutto l'ADP è stato convertito ad ATP (la respirazione rallenta)

Stato 5: anossia (è stato consumato tutto l'ossigeno)

Vedremo nei prossimi paragrafi come il livello di accoppiamento mitocondriale si può abbassare fino all'abolizione del controllo respiratorio ($ICR=0$): in presenza di agenti disaccoppianti il consumo di ossigeno procede a velocità massima senza sintesi di ATP.

9) Inibitori e disaccoppianti.

Inibitori sito-specifici del trasporto di elettroni.

Ricordiamo alcuni esempi di composti chimici in grado di bloccare il trasporto di elettroni (e quindi il consumo di ossigeno e la sintesi di ATP) a livello della catena respiratoria:

- il *rotenone*, una tossina vegetale usata dagli Indiani dell'Amazzonia per avvelenare i pesci, blocca il trasporto degli elettroni nel complesso I;
- il *cianuro* blocca il trasporto nel complesso IV.

Inibitori di F_0F_1 ATPasi

Un caso interessante dal punto di vista sperimentale è rappresentato dall'azione della tossina naturale oligomicina. Questa molecola si lega a F_0 (la o che segue la F nella sigla indica proprio l'oligomicina) e blocca il passaggio dei protoni attraverso F_0 e quindi la sintesi di ATP. Il gradiente elettrochimico, che non viene consumato, raggiunge un valore massimo, oltre al quale l'attività delle pompe protoniche, il trasporto di elettroni ed il consumo di ossigeno si arrestano.

Agenti disaccoppianti.

Gli agenti disaccoppianti bloccano la sintesi di ATP, ma non il trasporto di elettroni ed il relativo consumo di ossigeno, che continua a velocità massima. La teoria chemiosmotica fornisce una spiegazione razionale del meccanismo di azione dei disaccoppianti. Alcune di queste molecole (ad esempio il *dinitrofenolo*) sono infatti dei protonofori, sono cioè in grado di trasportare protoni attraverso la membrana mitocondriale interna. Rendendo la membrana permeabile ai protoni

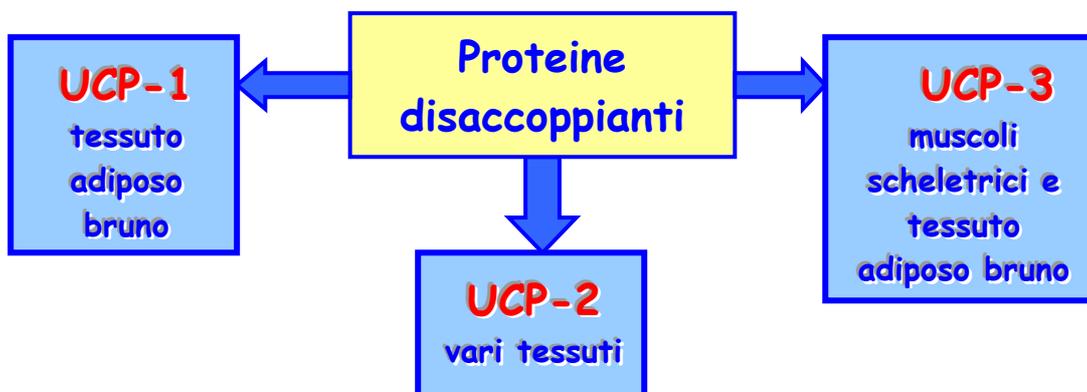
provocano una dissipazione del gradiente elettrochimico senza sintesi di ATP. Il trasporto di elettroni continua a velocità massima ma l'energia viene dispersa sotto forma di calore.

Gli effetti disaccoppianti degli ionofori possono essere considerati una delle prove sperimentali a favore del meccanismo chemio-osmotico della fosforilazione ossidativa.

10) Proteine disaccoppianti.

Oggi conosciamo delle proteine endogene (cioè prodotte nel nostro organismo) che sono in grado di provocare un disaccoppiamento della fosforilazione ossidativa (disaccoppiamento del trasporto degli elettroni dalla sintesi di ATP) simile a quello provocato dagli agenti disaccoppianti esogeni. In realtà si tratta di una famiglia di proteine chiamate proteine disaccoppianti (in sigla **UCP** dall'inglese *uncoupling protein*). Le proteine più note di questa famiglia sono tre:

- **UCP1** o termogenina che si trova nel cosiddetto grasso bruno;
- **UCP2** espressa in diversi tessuti;
- **UCP3** espressa in maniera predominante nel muscolo scheletrico.



Diamo qualche informazione in più sulla **termogenina o UCP1**.

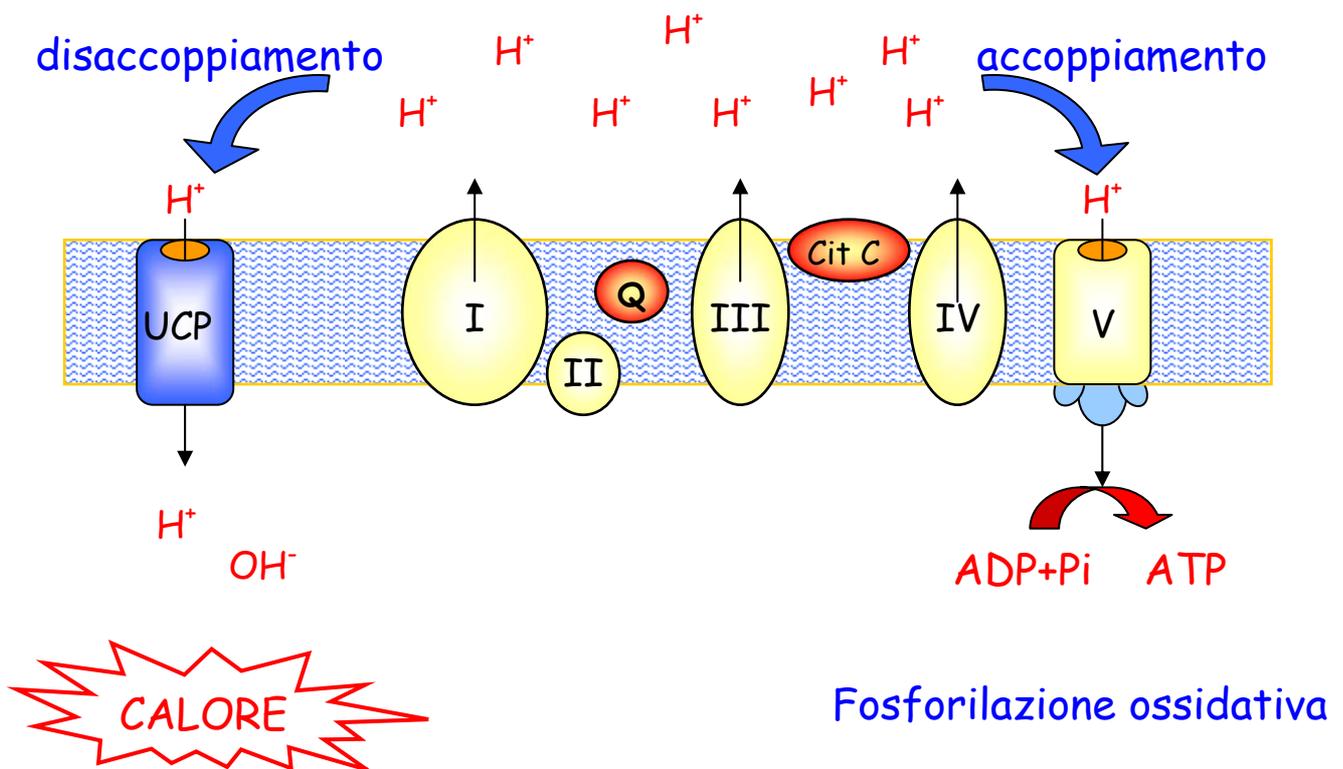
La funzione del **tessuto adiposo bruno** (grasso bruno) è quella di generare calore. Questo tessuto è diverso dal tipico tessuto adiposo (bianco) in quanto contiene numerosi mitocondri i cui citocromi conferiscono la caratteristica colorazione scura.

I mammiferi appena nati che sono privi di pelliccia, come gli uomini, e i mammiferi che vanno in letargo sono caratterizzati dalla presenza, nella regione del collo e nella parte superiore della schiena, di grasso bruno che genera calore mediante termogenesi non da brividi (l'idrolisi dell'ATP durante la contrazione muscolare causata dai brividi produce anch'essa calore). Il meccanismo di generazione del calore nel tessuto adiposo bruno richiede il disaccoppiamento regolato della fosforilazione ossidativa. I mitocondri del grasso bruno contengono

un canale per i protoni conosciuto con il nome di proteina disaccoppiante (**UCP1**, chiamata anche **termogenina**), una proteina assente nei mitocondri degli altri tessuti. Negli animali adattati al freddo, l'UCP costituisce nel grasso bruno fino al 15% delle proteine presenti nella membrana mitocondriale interna. Il flusso dei protoni attraverso l'UCP viene inibito da concentrazioni fisiologiche di nucleotidi purinici (ADP, ATP, GDP, GTP), ma questa inibizione può essere rimossa dagli acidi grassi liberi.

Nei mitocondri del grasso bruno la termogenesi è sotto controllo ormonale. La noradrenalina stimola la produzione del secondo messaggero cAMP e quindi attiva la proteina chinasi cAMP dipendente. La chinasi successivamente attiva la triacilglicerolo lipasi ormone sensibile fosforilandola. La lipasi attivata idrolizza i trigliceridi per ottenere acidi grassi liberi che vanno a contrastare l'effetto inibitorio dei nucleotidi purinici sull'UCP.

Il risultante flusso di protoni attraverso l'UCP porta alla dissipazione del gradiente protonico presente attraverso la membrana mitocondriale interna. Questo processo consente all'ossidazione del substrato di procedere (e di generare calore) senza sintesi di ATP.



11) Il genoma mitocondriale.

I mitocondri contengono un loro genoma, costituito da una molecola di **DNA circolare a doppia elica di 16569 paia di basi**. Nel genoma mitocondriale dell'uomo vi sono 37 geni, compresi 13 che **codificano per proteine della catena respiratoria**. I geni rimanenti codificano per RNA ribosomiali ed RNA transfer essenziali per l'apparato di sintesi proteica dei mitocondri. Molte delle proteine mitocondriali sono codificate da geni nel nucleo e sono sintetizzate da ribosomi citoplasmatici e successivamente importate nei mitocondri.

Sono note mutazioni del DNA mitocondriale che provocano malattie nell'uomo (ad es. la **neuropatia ottica ereditaria di Leber** che provoca perdita bilaterale della visione). Le malattie da mutazione del DNA mitocondriale presentano una modalità caratteristica di trasmissione ereditaria: sono malattie ad **ereditarietà materna**. La patologia viene trasmessa dalla madre come conseguenza del fatto che tutti i mitocondri dell'embrione sono derivati dalla madre. Il numero di mitocondri nell'oocita è di gran lunga maggiore che nello spermatozoo. Sembra inoltre che i mitocondri dello spermatozoo non entrino nell'oocita al momento della fecondazione.

12) La teoria dell'origine endosimbiotica dei mitocondri.

Questa ipotesi presuppone che i primi organismi con un metabolismo aerobico completamente funzionante, cioè compresa la sintesi di ATP associata alla respirazione (fosforilazione ossidativa), fossero dei procarioti (batteri). Gli eucarioti primitivi che vivevano anaerobicamente acquisirono la capacità di utilizzare la fosforilazione ossidativa quando stabilirono delle relazioni simbiotiche con batteri che erano penetrati nel loro citosol.

Il fatto che i mitocondri contengano un loro DNA ed un apparato di sintesi proteica è in favore della teoria. Le sequenze del DNA mitocondriale sono molto simili a quelle del genoma di certi batteri aerobici ed i ribosomi mitocondriali hanno dimensioni, struttura e sequenze dell'RNA ribosomiale più simili a quelli dei batteri che ai ribosomi presenti nel citoplasma delle cellule eucariotiche. Inoltre numerosi enzimi mitocondriali ricordano quelli dei batteri.

Se i mitocondri sono i discendenti degli endosimbionti primitivi, numerosi geni del progenitore devono essersi trasferiti dal DNA mitocondriale al DNA nucleare dell'eucariota ospite nel corso dell'evoluzione. Infatti i mitocondri non contengono tutti i geni necessari a specificare tutte le loro proteine; molte di esse sono codificate dal DNA nucleare, vengono tradotte da ribosomi citoplasmatici e importate nei mitocondri.

Capitolo V

I radicali liberi

- 1) *Introduzione*
- 2) *Riduzione completa dell'ossigeno*
- 3) *Le forme parzialmente ridotte dell'ossigeno*
- 4) *Formazione dei radicali liberi nei mitocondri e negli eritrociti*
- 5) *Reazioni chimiche innescate dall'anione superossido nei tessuti: la dismutazione, la reazione di Haber Weiss, la reazione di Fenton*
- 6) *Reazioni innescate dal radicale idrossile nelle membrane cellulari: la lipoperossidazione*
- 7) *Sistemi di difesa enzimatici*
- 8) *La vitamina E*
- 9) *I radicali liberi nei processi infiammatori*

1) Introduzione

I radicali liberi sono atomi o molecole con un elettrone spaiato nell'orbitale esterno.

Un orbitale può essere occupato da due elettroni e in questa condizione è *saturo*. Di norma atomi o molecole con orbitali non saturi, tendono a formare legami con altri atomi o molecole, condividendo gli elettroni mediante legame covalente, cedendo il proprio elettrone spaiato, oppure appropriandosi di un altro elettrone, a seconda della elettronegatività delle molecole interagenti (legame ionico).

A causa della loro configurazione elettronica i radicali liberi sono molecole altamente reattive. Un radicale libero può essere elettricamente neutro, negativo o positivo e può partecipare alle reazioni ossidandosi (cedendo l'elettrone) o riducendosi (acquistando l'elettrone). L'ossigeno è un elemento che ha la tendenza a formare radicali liberi e data l'elevata elettronegatività, attira elettroni dando luogo alle forme ridotte dell'ossigeno, distinguibili in *complete* o *parziali*.

2) Riduzione completa dell'ossigeno:

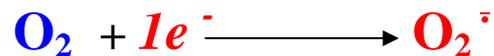
● *Riduzione tetravalente*



La riduzione tetravalente dell'ossigeno avviene normalmente alla fine della catena respiratoria e non dà luogo alla formazione di radicali liberi. La molecole di ossigeno, acquistando 4 elettroni, si lega facilmente con gli idrogenioni (H^+) formando 2 molecole di acqua.

3) Le forme parzialmente ridotte dell'ossigeno

● *Riduzione monovalente*



L'ossigeno, acquistando un elettrone, diventa un radicale libero, l'*anione superossido*. La molecola con l'elettrone spaiato si indica con un puntino ad apice del simbolo chimico e poiché l'ossigeno è una molecola elettricamente neutra, con un elettrone in più assume carica negativa (anione, simbolo $\cdot -$).

● *Riduzione bivalente*



L'ossigeno, acquistando due elettroni, immediatamente si lega a due idrogenioni formando il *perossido di idrogeno*, più comunemente noto come *acqua ossigenata*. I perossidi sono molecole in cui due atomi di ossigeno sono legati in modo covalente tra loro e ciascun atomo di ossigeno è legato ad un'altra specie chimica. Se quest'ultima è l'idrogeno, otterremo il perossido di idrogeno o acqua ossigenata:



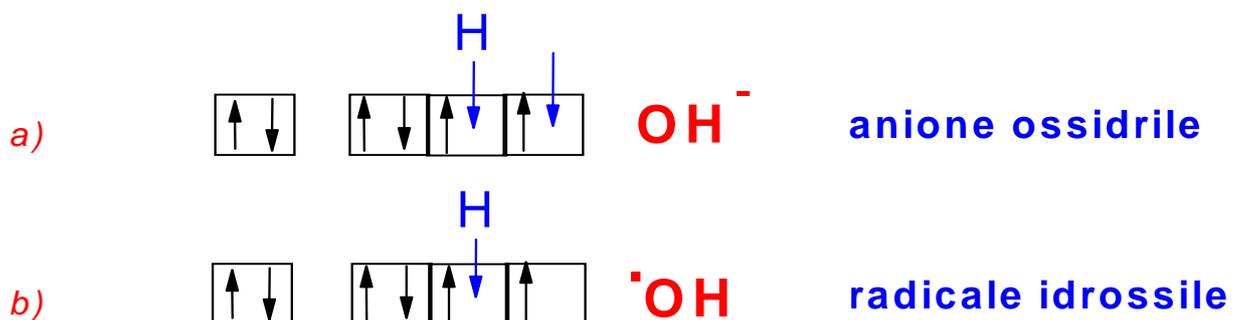
Tale molecola non è un radicale libero, però la sua presenza favorisce la formazione della specie più pericolosa tra i radicali liberi dell'ossigeno, il radicale idrossile.

● **Riduzione trivalente**



La molecola di ossigeno che acquista due elettroni, si scinde: un atomo accetta due elettroni e diventa l'**anione ossidrilico** (OH^-), una molecola carica elettricamente che non è un radicale libero, in quanto non presenta elettroni spaiati. Ricordiamo che nella configurazione dell'atomo di ossigeno, dei quattro orbitali esterni, due sono occupati da elettroni appaiati, mentre gli altri due sono occupati da un singolo elettrone. In tale forma l'ossigeno è elettricamente neutro (numero di elettroni uguale al numero di protoni). Ricevendo i due elettroni, l'atomo di ossigeno completa gli orbitali, ma assume carica doppiamente negativa, quindi tenderà a legarsi con H^+ , formando l'anione ossidrilico.

L'altro atomo di ossigeno accetta un elettrone, completa un orbitale e assume carica negativa che viene neutralizzata dal legame con un idrogenione: si forma quindi il **radicale idrossile** ($\cdot\text{OH}$), elettricamente neutro ma radicale, in quanto presenta un elettrone spaiato. Questa, tra le specie dei radicali, è la più pericolosa e con maggiore reattività chimica; reagisce, infatti, con tutte le principali macromolecole organiche danneggiandone la struttura. È definita pertanto una specie "killer".



configurazione esterna dell'atomo di ossigeno con celle (orbitali) e freccette (elettroni):

- a) riceve 2 elettroni e un protone (idrogenione) e forma l'anione ossidrilico;
- b) riceve 1 elettrone e un protone (idrogenione) e forma il radicale idrossile.

4) Formazione dei radicali liberi nei mitocondri e negli eritrociti

-Mitocondri-

La maggior parte dell'ossigeno utilizzato nei processi metabolici mitocondriali, va incontro a riduzione completa dando luogo alla formazione di molecole di acqua. Tuttavia, una piccola quota di ossigeno (1-3%), può ridursi parzialmente.

Le forme parzialmente ridotte dell'ossigeno si formano per perdita (*leakage*) di elettroni durante il trasporto nella catena respiratoria. In particolare tale perdita avviene a livello del coenzima Q (ubichinone) che può reagire con l'ossigeno molecolare. In larga misura, la struttura molecolare del coenzima Q impedisce questo fenomeno e trasferisce correttamente gli elettroni al complesso III, ma a volte degli elettroni possono sfuggire e ridurre parzialmente l'ossigeno in modo monovalente formando l'anione superossido ($O_2^{\cdot-}$). Questa fuga impedisce agli elettroni di essere correttamente inviati verso la citocromo ossidasi e di ridurre in modo tetravalente l'ossigeno, formando acqua.

Nei tessuti con intensa attività metabolica e molti mitocondri (ad es. nel tessuto muscolare), la produzione di radicali liberi è elevata: si ipotizza, quindi, che, durante lo sforzo muscolare, si producano radicali liberi. Tuttavia, nei soggetti allenati, si dovrebbero sviluppare adeguati sistemi di difesa.

-Eritrociti-

Gli eritrociti, pur non avendo mitocondri e utilizzando quindi solo il sistema anaerobico, sono tra le cellule con la maggiore produzione di anioni superossidi. L'eritrocita è un sacchetto membranoso appiattito, a forma di disco biconcavo, nel cui interno è presente l'emoglobina, la molecola che trasporta l'ossigeno. Si ricorda che l'emoglobina contiene uno ione ferroso (in forma bivalente, Fe^{++}) al centro dell'anello tetrapirrolico; la struttura molecolare che circonda lo ione Fe^{++} impedisce che quest'ultimo possa reagire con l'ossigeno nonostante la notevole affinità. In questo modo l'emoglobina trasporta l'ossigeno sotto forma di *emoglobina ossigenata* (e non ossidata). Tuttavia, la struttura molecolare che scherma il ferro può consentire, in minima quota (1-2%), un trasferimento di elettroni dal ferro all'ossigeno: l'ossigeno si riduce parzialmente formando l'anione superossido ($O_2^{\cdot-}$), mentre il ferro viene ossidato nella forma trivalente Fe^{+++} . L'emoglobina ossidata, detta *metaemoglobina*, non è in grado di trasportare l'ossigeno.

L'eritrocita viene dunque danneggiato sia a causa della formazione di anione superossido, sia perché non riesce più a trasportare l'ossigeno.

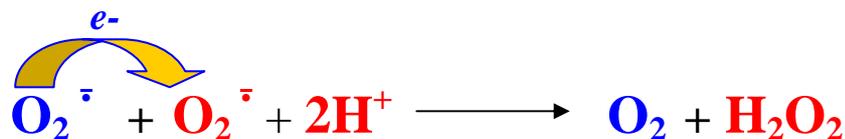
Ma negli eritrociti si sono sviluppati adeguati sistemi di difesa contro i radicali liberi: l'enzima *metaemoglobina reduttasi* è in grado di ridurre il ferro nella forma bivalente e di rigenerare l'emoglobina, limitando così il danno da radicali liberi. Descriveremo più avanti gli enzimi che renderanno innocua la produzione di anione superossido.

5) Reazioni chimiche innescate dall'anione superossido nei tessuti: la dismutazione, la reazione di Haber Weiss, la reazione di Fenton

La formazione dell'anione superossido dà il via alla produzione della specie killer dei radicali dell'ossigeno, il radicale idrossile. Tale formazione avviene in seguito a una prima reazione, la *dismutazione tra due molecole di anione superossido*. Come sarà esaminato successivamente, il prodotto di tale reazione (perossido di idrogeno) può generare il radicale idrossile accettando un elettrone da un donatore diverso a seconda che avvenga la reazione di *Haber-Weiss* o la reazione di *Fenton*.

• La dismutazione dell'anione superossido

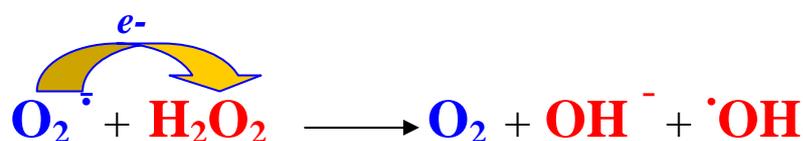
In generale la dismutazione è una reazione di ossido-riduzione tra due molecole uguali in cui una molecola si ossida (cede l'elettrone) e l'altra si riduce (acquista l'elettrone). La dismutazione dell'anione superossido è la reazione che avviene tra due molecole di anione superossido: una di queste molecole, cedendo l'elettrone, diventa O₂; l'altra, accettando l'elettrone, si riduce in modo bivalente, formando il *perossido di idrogeno* H₂O₂ (acqua ossigenata).



Quindi la reazione di dismutazione conduce alla riduzione bivalente dell'ossigeno: è sufficiente che si formi anione superossido (riduzione monovalente dell'ossigeno) affinché si generi perossido di idrogeno mediante dismutazione. La reazione di dismutazione è una reazione chimica ad alta velocità.

• La reazione di Haber Weiss

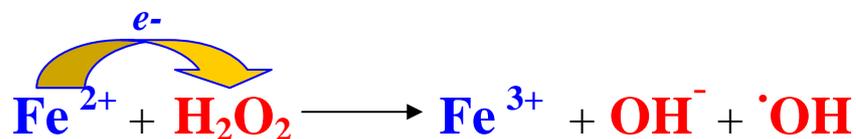
Il perossido di idrogeno formato in seguito alla dismutazione, reagisce con una molecola di anione superossido. E' anche questa una reazione di ossido-riduzione in cui l'anione superossido cede l'elettrone alla molecola di perossido di idrogeno che, ricevendo l'elettrone, si divide in due molecole: lo *ione ossidrilico* (OH⁻) e il *radicale idrossile* (OH[•]).



La reazione di Haber Weiss conduce alla riduzione trivalente dell'ossigeno e quindi alla formazione del radicale idrossile, la specie pericolosa dei radicali liberi dell'ossigeno.

● **La reazione di Fenton**

La formazione del radicale idrossile può avvenire anche attraverso un'altra reazione, nella quale il donatore di elettroni al perossido di idrogeno è il ferro libero bivalente. In tale reazione, detta di *Fenton*, il ferro cede un elettrone al perossido di idrogeno passando così dalla forma bivalente (ferrosa) alla forma trivalente (ferrica). Anche in questo caso il perossido di idrogeno, ricevendo l'elettrone, si scinde in ione ossidrile e radicale idrossile.



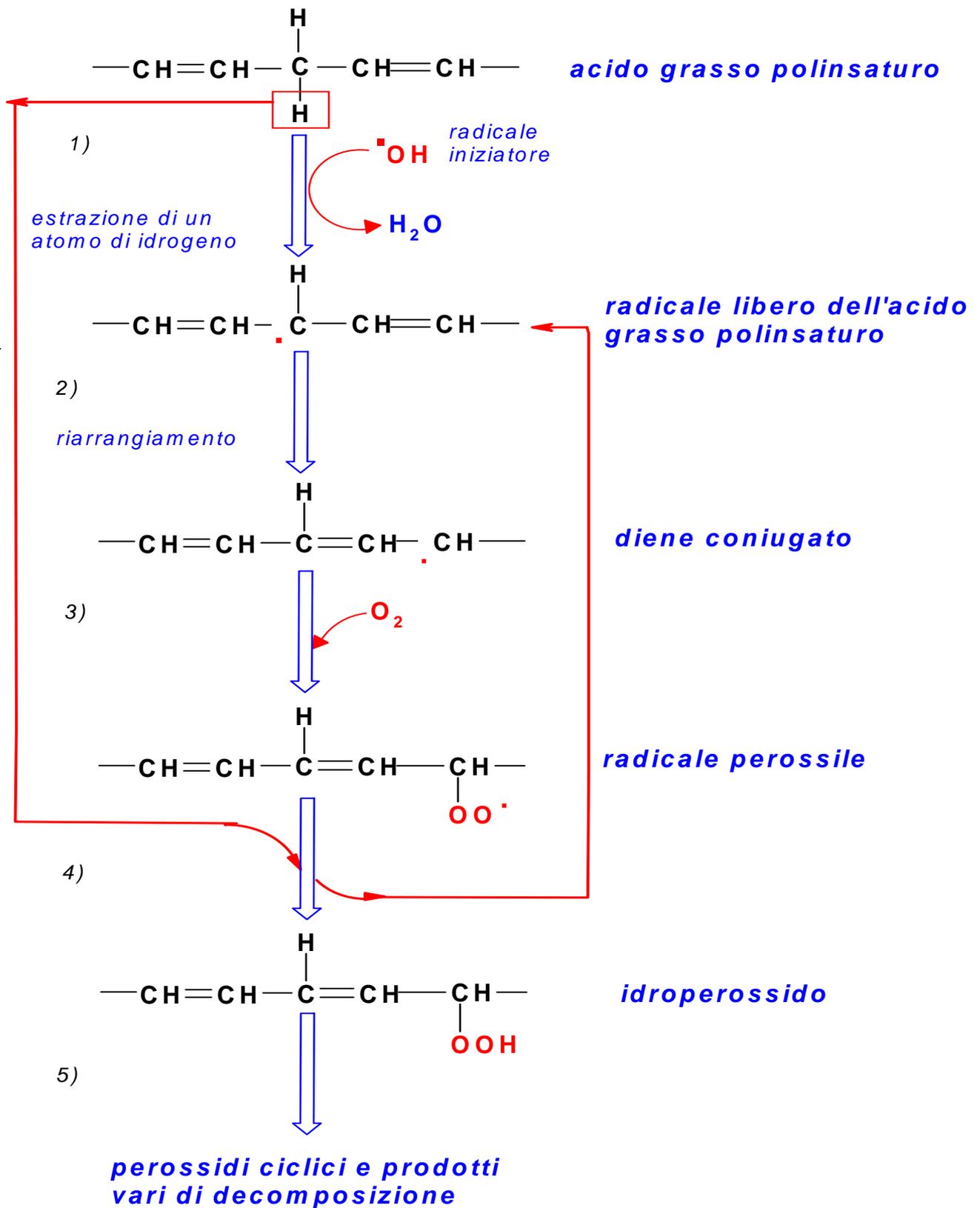
Alte concentrazioni di ferro libero o patologie quali l'*emocromatosi* (accumulo di ferro nei tessuti per un difetto genetico) possono causare danni da radicali liberi. La reazione di dismutazione dell'anione superossido è quindi la prima tappa a seguito della quale, attraverso la reazione di Haber Weiss o mediante la reazione di Fenton, si genera il radicale idrossile.

6) Reazioni innescate dal radicale idrossile nelle membrane cellulari: la lipoperossidazione.

Il radicale idrossile può reagire con le molecole costituenti le membrane cellulari, in particolare, con le catene di acidi grassi insaturi presenti nei fosfolipidi.

Il radicale idrossile stacca un *atomo di idrogeno* da un atomo di carbonio (gruppo metilenico) della catena di acido grasso (vedi figura, punto 1), formando così una molecola di acqua. La molecola dell'acido grasso è diventata un radicale in quanto, l'atomo di carbonio, privato dell'atomo di idrogeno, presenta un elettrone spaiato e questo conferisce alla molecola elevata reattività.

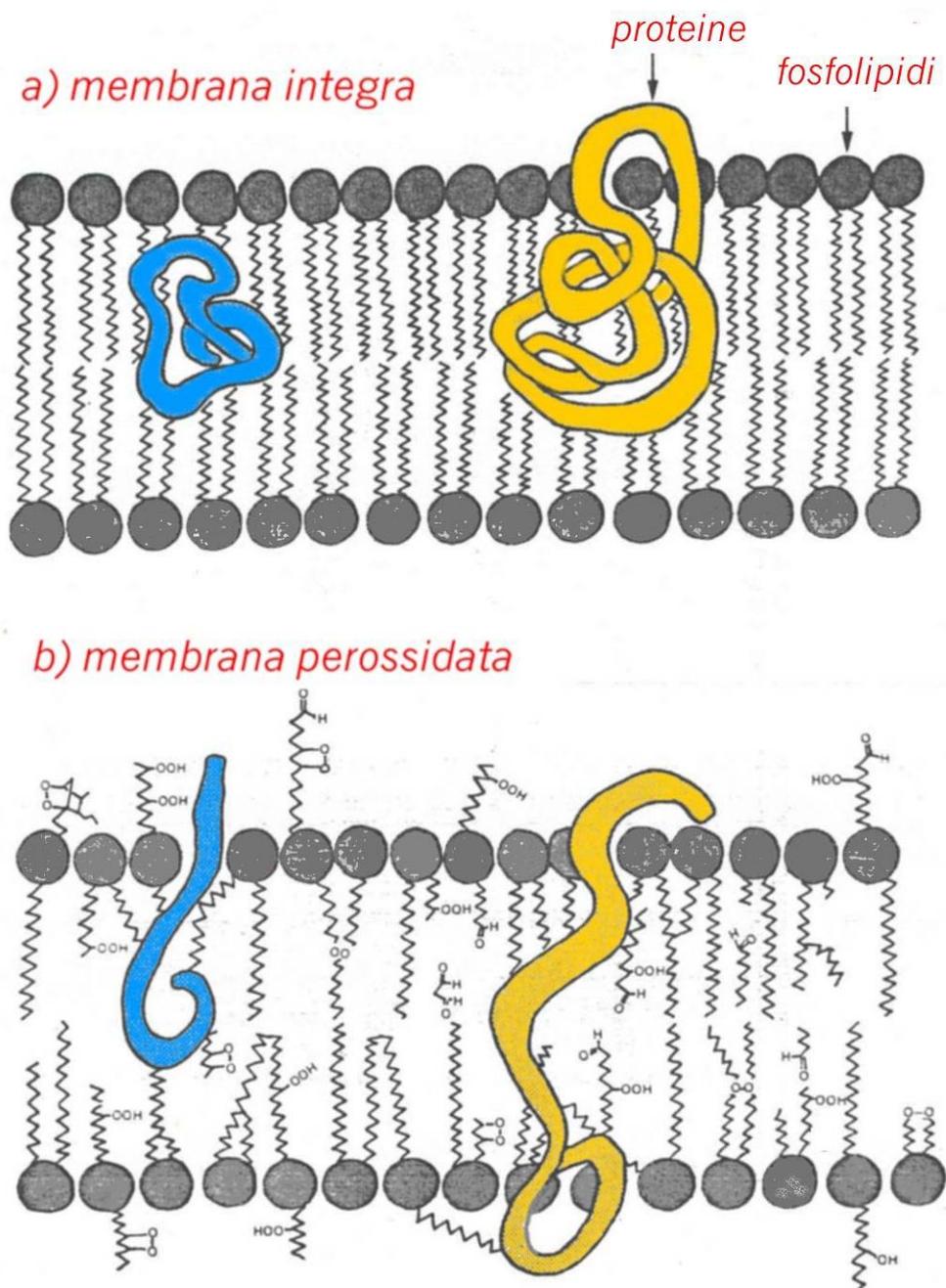
Questa molecola, dopo essersi riarrangiata (2) a diene coniugato (due doppi legami separati da un legame singolo), reagisce con l'ossigeno presente ad elevate concentrazioni (3), formando così il *radicale perossile* (3): un atomo della molecola di ossigeno condivide l'elettrone (cioè forma un legame chimico) con il carbonio, mentre l'altro atomo di ossigeno rimane con un elettrone spaiato.



Si è formato dunque un nuovo radicale altamente reattivo, che a sua volta può reagire con un altro acido grasso dei fosfolipidi delle membrane cellulari, staccando un atomo di idrogeno (*freccia rossa 1 → 4*) ed innescando un altro ciclo di lipoperossidazione. Il radicale perossile è diventato un *idroperossido di acido grasso* (4)

La molecola di acido grasso che ha ceduto l'atomo di idrogeno è diventato un nuovo radicale che potrà ricominciare il ciclo di reazioni (a partire dalla 2) che conduce alla formazione di un altro idroperossido dell'acido grasso.

In teoria, questa catena di reazioni potrebbe portare alla distruzione totale delle membrane cellulari (ricordiamo che gli acidi grassi fanno parte della struttura dei fosfolipidi di membrana) se non esistessero adeguati sistemi di difesa contro i radicali liberi



Gli idroperossidi sono gruppi polari e conferiscono caratteristiche polari alle catene degli acidi grassi dei fosfolipidi di membrana; le membrane cellulari perdono l'impermeabilità al passaggio di acqua e ioni garantita dalla presenza delle catene idrofobiche degli acidi grassi dei fosfolipidi: vengono così annullati i gradienti ionici elettrochimici generati dalle pompe ATP-asi di membrana. La membrana cellulare si disintegra e avviene la morte cellulare per lisi delle membrane.

7) Sistemi di difesa enzimatici

● **Enzima superossido dismutasi**

Il primo sistema di difesa enzimatica contro i radicali liberi dell'ossigeno utilizza l'enzima **superossido dismutasi (SOD)**.



Tale enzima accelera la reazione di dismutazione tra due molecole di anione superossido: questa reazione enzimatica potrebbe apparire paradossale perché è la stessa reazione chimica che avviene già ad alta velocità. In realtà, un'ulteriore accelerazione della dismutazione consente di eliminare velocemente l'anione superossido impedendogli di reagire con H_2O_2 e di generare il radicale idrossile.

Inoltre, l'ossigeno prodotto dalla reazione catalizzata da SOD è l'*ossigeno tripletto*, una forma di O_2 allo stato fondamentale che, a differenza della molecola di ossigeno generata nella reazione di dismutazione non catalizzata (*ossigeno singoletto*), è una forma molecolare con minore reattività.

● **Enzima catalasi**

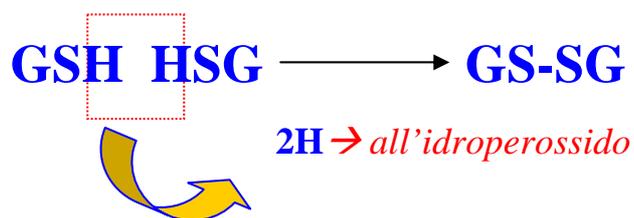
Il secondo sistema di difesa utilizza l'enzima **catalasi**. Tale enzima catalizza la reazione di **dismutazione tra due molecole di perossido di idrogeno**.



Nella reazione di dismutazione una molecola di H_2O_2 si ossida, l'altra si riduce formando così una molecola di ossigeno e due molecole di acqua. L'importanza di tale reazione consiste nel rimuovere l'acqua ossigenata in modo che non possa reagire con l'anione superossido: l'obiettivo della superossidodismutasi e della catalasi è quello di bloccare la reazione di *Haber Weiss* e quindi di impedire la formazione del radicale idrossile.

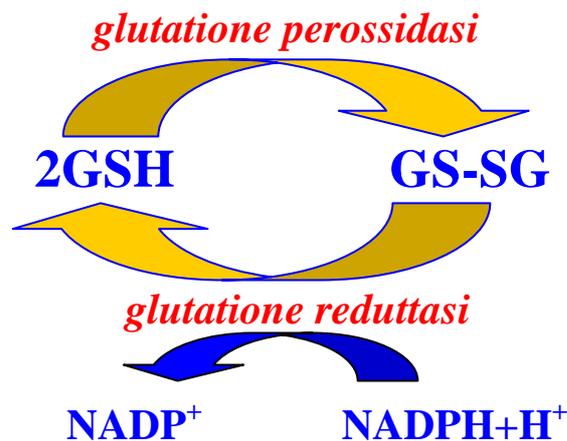
● **Enzima glutatione-perossidasi**

Il terzo sistema di difesa enzimatica agisce sugli idroperossidi ed utilizza l'enzima **glutatione-perossidasi**. Tale enzima utilizza come donatore di atomi di idrogeno il **glutatione ridotto (GSH)**. Il glutazione (*glutamilcisteinilglicina*) è un tripeptide formato da glutammato, cisteina e glicina; la cisteina possiede il gruppo sulfidrilico SH dal quale si distacca l'atomo di idrogeno. In realtà per neutralizzare l'idroperossido sono necessarie due atomi di idrogeno e quindi due molecole di glutazione. Il glutazione ossidato è, quindi, un dimero formato da due molecole di glutazione legate fra di loro per mezzo di un ponte disolfuro (GSSG).



E' importante ricordare che l'enzima glutatione perossidasi utilizza come cofattore il selenio.

Le scorte di glutazione utilizzato dalla glutatione perossidasi vengono rigenerate grazie all'azione di un enzima, **glutatione reduttasi**, che riduce il glutatione ossidato e lo rende nuovamente disponibile. L'enzima glutatione reduttasi agisce in coppia con un donatore di elettroni, il NAD fosfato ridotto ($NADPH+H^+$).



Il NADPH+H⁺ è un coenzima mobile di deidrogenasi che agisce in coppia con l'enzima *G6P-deidrogenasi*. Tale enzima ossida il *glucosio-6-P* in *lattone dell'acido 6-fosfogluconico*, formando NADPH+H⁺. Questa reazione appartiene ad una via di utilizzazione del glucosio alternativa alla glicolisi, la via dei pentoso-fosfati detta anche *shunt dell'esoso mono-fosfato*. Questa via è particolarmente utilizzata dalle cellule muscolari e dagli eritrociti dove sono necessarie grandi concentrazioni di NADPH+H⁺ per combattere i radicali liberi.

8) La vitamina E

La vitamina E (tocoferolo) esercita un'azione antiperossidante, proteggendo dalla perossidazione gli acidi grassi. Esercita la sua azione protettiva sulle membrane cellulari grazie alla sua capacità di inserirsi nel doppio strato fosfolipidico: possiede infatti una coda idrofobica che gli permette di integrarsi nella struttura di membrana. Un'altra porzione della molecola gli permette invece di reagire con i radicali liberi, interrompendo la cascata ciclica di reazioni radicaliche.

L'azione antiperossidativa della vitamina E è potenziata notevolmente dal *selenio*, cofattore della glutazione perossidasi.

Gli oli vegetali sono ricchi di vitamina E, specialmente l'olio di germe di grano.

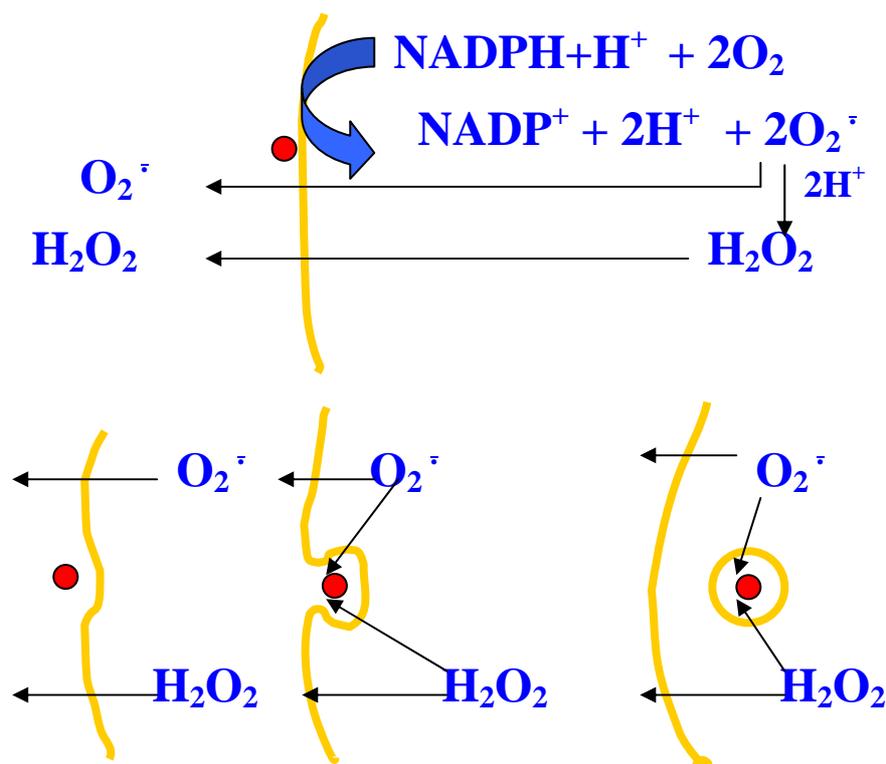
Il fabbisogno giornaliero per l'uomo è di 10-15 mg/die.

9) I radicali liberi nei processi infiammatori

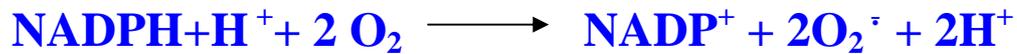
I globuli bianchi o leucociti, svolgono un ruolo di difesa nei confronti di batteri, virus e parassiti. Il sistema difensivo dei globuli bianchi è specializzato, data la varietà di agenti patogeni. In particolare ai linfociti è affidata la produzione di anticorpi, ai monociti, dopo essersi trasformati in macrofagi, è affidato il compito di fagocitare e quindi digerire gli agenti patogeni. I primi agenti che fanno barriera contro le infezioni sono però i *leucociti polimorfonucleati granulosi* (o *granulociti*) e tra questi i neutrofili presentano la maggiore capacità fagocitante.

Per ottenere la morte dei batteri aggrediti e fagocitati, i neutrofili adottano particolari tecniche tra cui quella di produrre sostanze tossiche quali l'anione superossido, l'acqua ossigenata, il radicale idrossile e l'ossigeno singoletto.

Appena i neutrofili entrano in contatto con l'agente esterno si attivano consumando un'elevata quantità di ossigeno e di glucosio. Questa risposta cellulare è definita "*respiratory burst*".



L'enzima principale coinvolto nel burst respiratorio è il *NADPH ossidasi* in grado di produrre anione superossido utilizzando come riducente il NAD fosfato ridotto formatosi nel metabolismo ossidativo degli esosi.



Il NADP^+ prodotto in questa reazione, assieme a quello prodotto dalla reazione catalizzata dalla glutatione reduttasi, è in grado di stimolare la via metabolica dei pentoso fosfati per cui si spiega l'aumentato consumo di glucosio che si verifica durante la fagocitosi. La *NADPH ossidasi* sembra essere localizzata nella membrana plasmatica o connessa ad essa mediante i microtubuli in quanto durante la stimolazione una grande quantità di superossido viene rilasciato all'esterno della cellula. In seguito alla fagocitosi, l'agente estraneo viene inglobato in un vacuolo costituito da invaginazioni della membrana stessa e quindi il superossido viene direttamente riversato sull'agente estraneo: ciò spiega l'elevata capacità distruttiva dei neutrofilo nei confronti di sostanze estranee.

Resta ancora da chiarire il meccanismo mediante il quale il superossido provochi l'uccisione dei batteri; l'ipotesi più avvalorata riconduce all'azione combinata del superossido e dell'acqua ossigenata proveniente dalla dismutazione di due molecole di superossido. Questi due agenti possono infatti reagire tra loro e dare origine al radicale idrossile.

Capitolo VI

Il Glicogeno

- 1) *I polisaccaridi*
- 2) *L' amido*
- 3) *Il glicogeno*
- 4) *I depositi di glucosio in forma di glicogeno e la pressione osmotica intracellulare*
- 5) *Distribuzione tissutale del glicogeno e significato funzionale*
- 6) *Glicogenosintesi*
- 7) *Glicogenolisi*
- 8) *Schema riepilogativo*
- 9) *Regolazione della glicogenolisi*
- 10) *Schema del sistema dell'AMP ciclico e della cascata delle reazioni protein chinasiche nella regolazione della glicogenolisi*
- 11) *Le attività della glicogeno sintasi e della glicogeno fosforilasi sono regolate in modo speculare*

1) I polisaccaridi.

Sono *polimeri di monosaccaridi* o loro derivati.

Da un punto di vista *strutturale* si possono dividere in:

- **omopolisaccaridi**: formati da un solo tipo di monosaccaride;
- **eteropolisaccaridi**: formati da due o più tipi di monosaccaridi.

Dal punto di vista *funzionale* si possono distinguere:

- **polisaccaridi nutrizionali o di riserva** (amido nei vegetali, glicogeno negli animali);
- **polisaccaridi strutturali o di sostegno** (cellulosa nei vegetali, mucopolisaccaridi o chitina negli animali).

2) L' amido

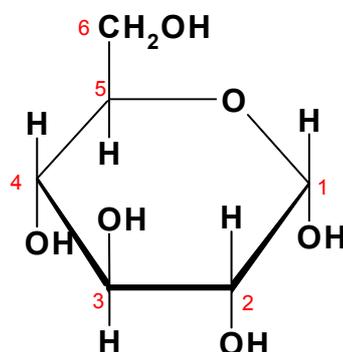
È un polimero dell'alfa-glucosio e rappresenta il tipico polisaccaride di riserva dei vegetali dove è depositato nei semi, nei tuberi e nelle radici in forma di granuli. I granuli di amido contengono due omopolisaccaridi, entrambi polimeri dell'alfa-glucosio: l'*amilosio* (20-28%) e l'*amilopectina* (72-80%). L'amilosio consiste di catene lineari composte da unità di alfa-glucosio (da 200 a 300) unite fra di loro da legami alfa-1,4-glucosidici. L'amilopectina è invece costituita da catene ramificate (da 10.000 a 20.000 molecole di alfa-glucosio). (Si veda più avanti la spiegazione sulle basi strutturali delle ramificazioni nel paragrafo sul glicogeno).

Prodotti di parziale idrolisi dell'amido sono le destrine, impiegate come additivi alimentari.

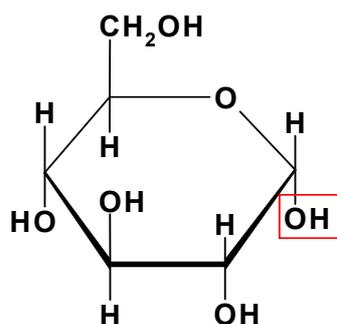
3) Il glicogeno

È un *polimero dell'alfa-glucosio* e rappresenta il tipico polisaccaride di riserva degli animali.

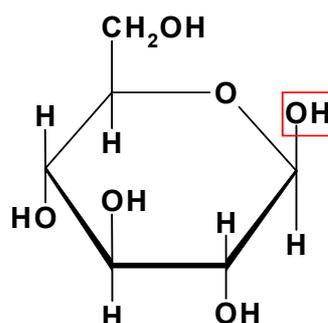
Ricordiamo la numerazione degli atomi di carbonio della molecola del glucosio: notare la posizione del carbonio 6 (fuori dalla struttura ciclica piranosica).



Esistono due forme stereoisomeriche del glucosio (forme alfa e beta dette anche anomeri) dovute alla posizione dei sostituenti del carbonio 1: nella forma alfa l'OH del C1 resta proiettato sotto il piano dell'anello, nella forma beta sopra.



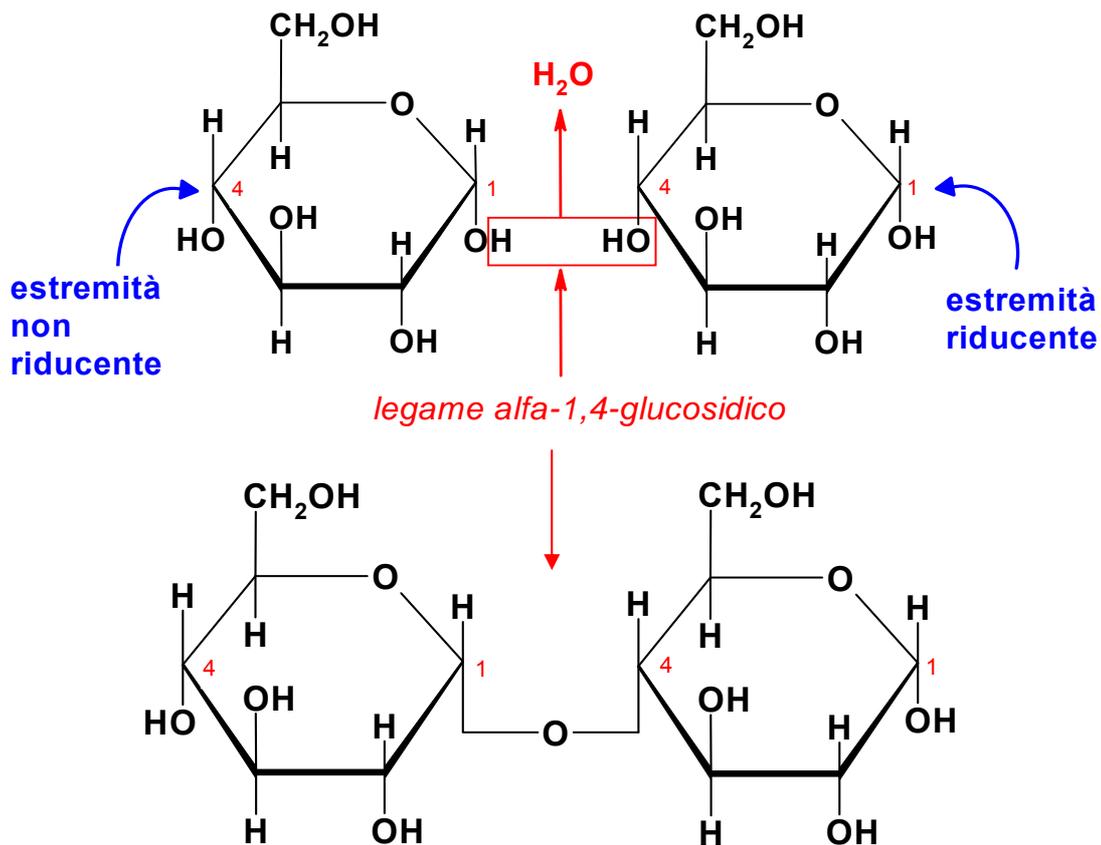
alfa-glucosio



beta-glucosio

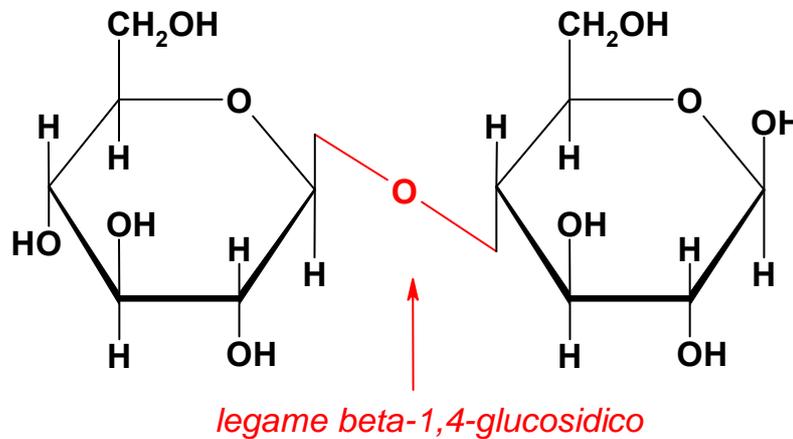
Nella molecola del glicogeno (e dell'amido) le molecole di glucosio sono legate fra di loro con *legame alfa-1,4-glucosidico*.

Si può considerare il legame alfa-1,4-glucosidico come il risultato della reazione tra OH del C1 di una molecola di glucosio ed OH del carbonio 4 della molecola successiva, con rimozione di una molecola di acqua e formazione di un ponte ad ossigeno tra C1 e C4.



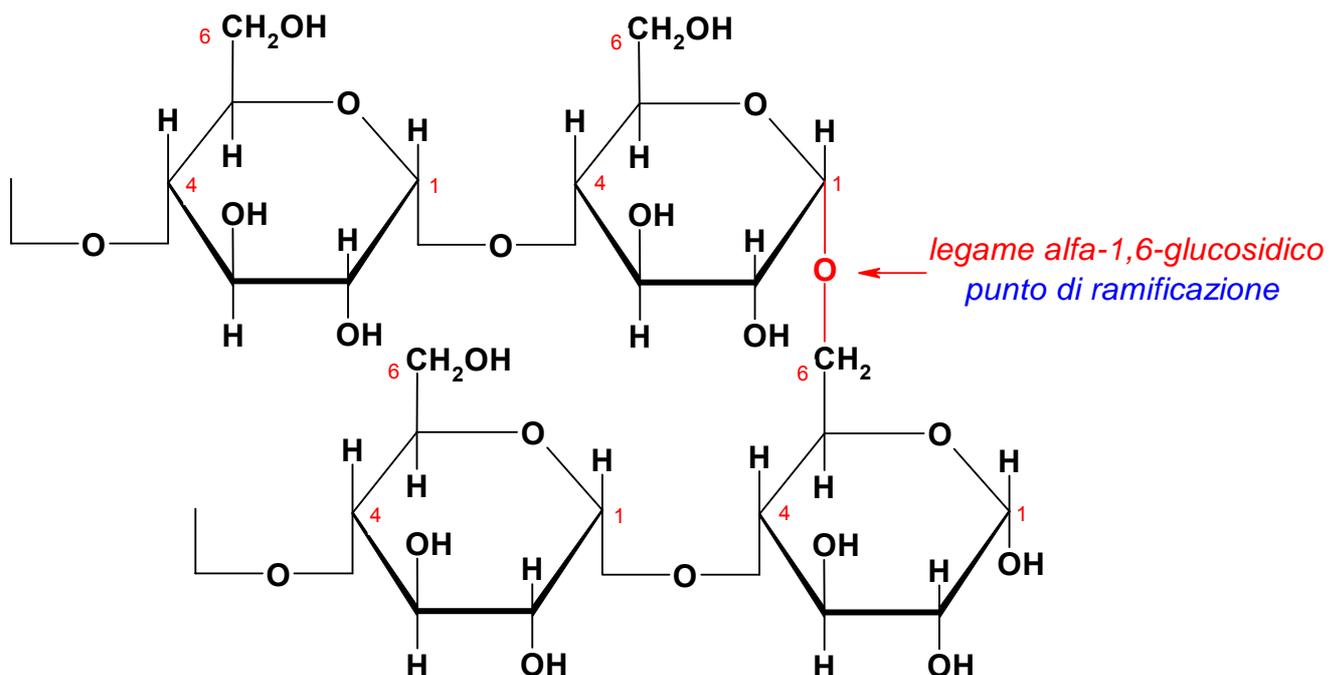
Il disaccaride (unione di 2 glicidi) mostrato nella figura precedente si chiama **maltosio**.

I polimeri formati da n molecole di beta-glucosio formano polisaccaridi non digeribili dal nostro organismo (la cellulosa), in quanto non vi sono enzimi digestivi in grado di idrolizzare il legame beta-1,4-glucosidico.



Il glicogeno sarà formato da numerose unità glicidiche di alfa-glucosio unite da legami alfa-1,4-glucosidici. Si ottiene una catena lineare con due estremità: l'estremità con l'OH libero in C1 (estremità riducente) e l'estremità con l'OH libero in C4 (estremità non riducente). Il glicogeno accresce le sue dimensioni aggiungendo molecole di alfa-glucosio dall'estremità **non riducente**.

In realtà il glicogeno è un polimero ramificato, infatti in alcuni punti, detti *di ramificazione*, le catene lineari sono unite tra loro con *legami alfa-1,6-glicosidici*.



La frequenza di legami alfa-1,6-glicosidici è di 1 ogni 10 legami alfa-1,4-glicosidici.

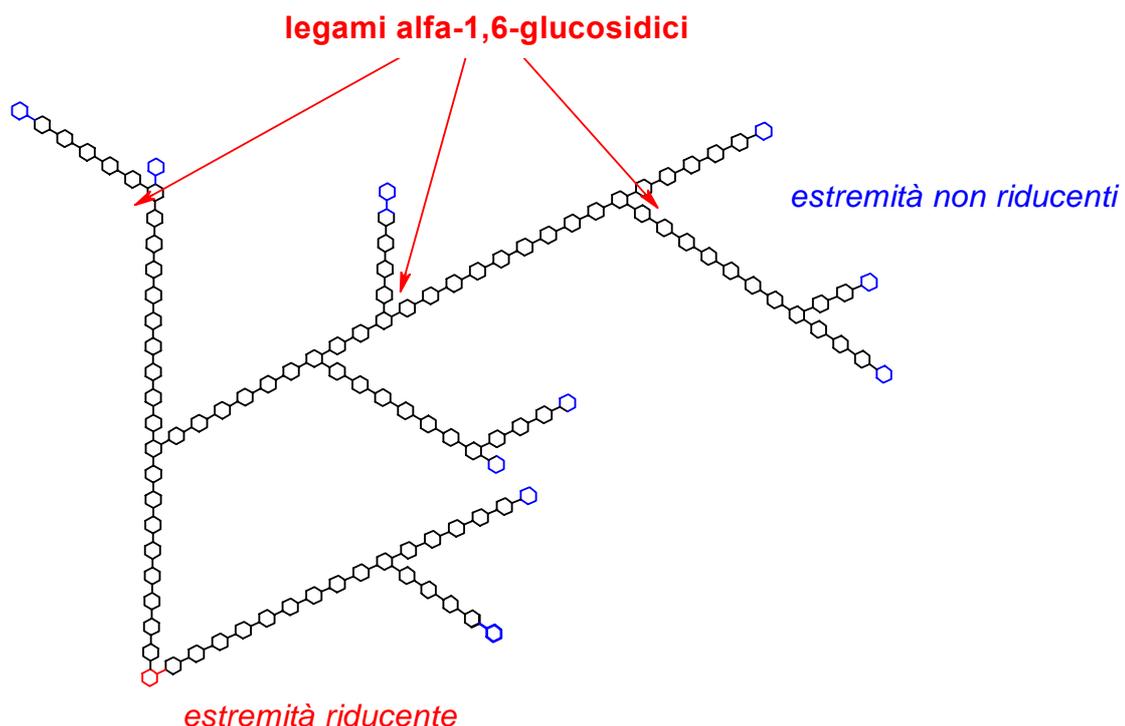
Il glicogeno è più ramificato rispetto alla molecola dell'amilopectina dell'amido. Nel caso dell'amilopectina, infatti, il rapporto tra legami alfa-1,4-glicosidici e legami alfa-1,6-glicosidici è di 20:1.

La molecola del glicogeno ha dunque l'aspetto di un cespuglio molecolare con una sola estremità riducente e numerose estremità non riducenti (vedi figura). Fino a 30.000 unità di glucosio possono partecipare alla formazione di un molecola di glicogeno (peso molecolare 5×10^6).

E' possibile osservare con la microscopia elettronica i depositi di glicogeno nei tessuti sotto forma di granuli di glicogeno.

Qual' è il vantaggio fornito dalla presenza delle ramificazioni? Come vedremo la sintesi del glicogeno (glicogenosintesi) e la sua degradazione (glicogenolisi) procedono a partire dall'estremità non riducente.

La presenza di numerose estremità non riducenti per molecola di glicogeno accelera la velocità dei processi metabolici del glicogeno.



4) I depositi di glucosio in forma di glicogeno e la pressione osmotica intracellulare.

Abbiamo detto che il glicogeno è un polimero del glucosio e, dal punto di vista funzionale, rappresenta solo una forma di deposito di tale monosaccaride. Ma perché spendere ATP per sintetizzare glicogeno? Non sarebbe preferibile conservare il glucosio in forma libera all'interno delle cellule fino alla sua utilizzazione? Una quantità di glucosio libero pari a quella contenuta nel glicogeno porterebbe la concentrazione di glucosio all'interno della cellula epatica ad un valore di 400 mM. La pressione osmotica dipende dalla concentrazione delle molecole (concentrazione espressa in molarità). Una concentrazione intracellulare di glucosio pari a 400 mM causerebbe l'ingresso di acqua nella cellula ed il suo rigonfiamento fino alla rottura della membrana plasmatica (lisi osmotica). 400 mM di glucosio possono essere invece conservati con una concentrazione intracellulare di glicogeno di circa 0,01 mM. Possiamo quindi conservare un gran numero di molecole di glucosio all'interno delle cellule senza provocare drastici incrementi della pressione osmotica. Inoltre la concentrazione intracellulare di glucosio varia rapidamente con l'attività funzionale della cellula (il muscolo in attività consuma rapidamente il glucosio). Se il glucosio fosse conservato in forma libera le variazioni di concentrazione si accompagnerebbero a rapide e notevoli variazioni della pressione osmotica intracellulare, variazioni incompatibili con le funzioni cellulari. L'esistenza di un polimero del glucosio, come il glicogeno, permette grandi e rapide variazioni dei depositi di glucosio senza variazioni della pressione osmotica intracellulare. La pressione osmotica dipende, infatti, dal numero delle molecole di glicogeno e non dalla loro dimensione.

Concetti da ricordare:

- La pressione osmotica dipende dal numero delle molecole nell'unità di volume della soluzione;
- durante il metabolismo cambiano le dimensioni delle molecole del glicogeno (cioè il numero di molecole di glucosio per molecola di glicogeno) ma non il loro numero.

5) Distribuzione tissutale del glicogeno e significato funzionale.

I tessuti con le concentrazioni più elevate di glicogeno sono:

- a) **il tessuto epatico**
- b) **il tessuto muscolare**

Il fegato ha una straordinaria capacità di immagazzinare glicogeno. In un uomo ben nutrito il contenuto di glicogeno epatico può ammontare a più del 10% del peso totale dell'organo. Il muscolo ha una concentrazione di glicogeno inferiore (al massimo 1-2%). Tuttavia, poiché la massa complessiva del tessuto muscolare (35 kg) è nettamente superiore a quella del fegato (1,8 Kg), in totale il glicogeno muscolare è circa il doppio di quello epatico.

	gr glicogeno per 100gr tessuto	peso in Kg del tessuto	contenuto totale in glicogeno
Fegato	10%	1,8 Kg	circa 180 gr
Muscolo	1-2%	35 Kg	circa 350 gr

I depositi di glicogeno muscolare ed epatico hanno ruoli funzionali differenti.

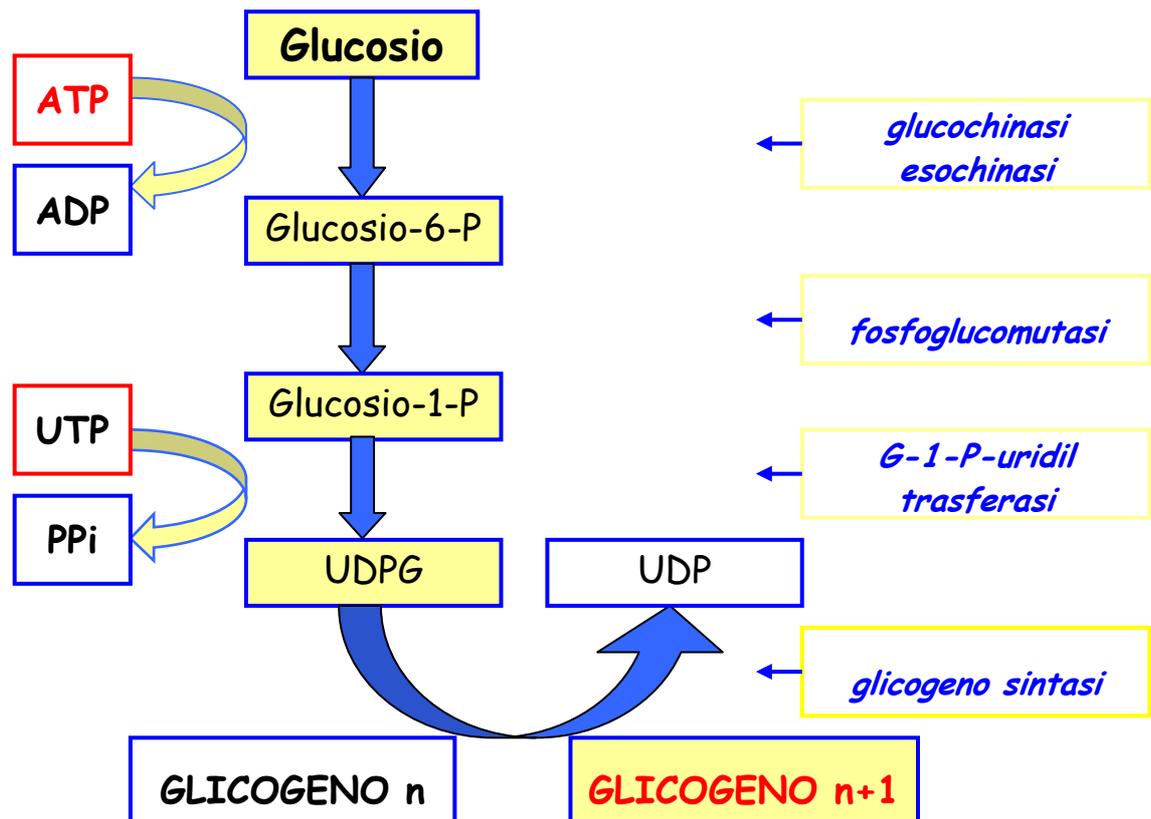
Il glicogeno muscolare serve come deposito di glucosio per la fibrocellula muscolare in cui è contenuto. Il glicogeno epatico è invece una riserva di glucosio per il mantenimento dei livelli glicemici e, quindi, a disposizione degli altri tessuti dell'organismo.

La differenza biochimica fondamentale è la presenza dell'enzima *glucosio-6-fosfato fosfatasi* nel fegato. Questo enzima converte il glucosio-6-fosfato (incluso quello che proviene dal processo della glicogenolisi) in glucosio libero mediante una reazione di idrolisi del legame fosfoestereo. Il glucosio libero, a differenza del glucosio 6-fosfato, è in grado di attraversare la membrana plasmatica e di passare nel circolo sanguigno. Il fegato, grazie a questo enzima, è in grado di rilasciare glucosio nel sangue e di contribuire al mantenimento dei livelli glicemici in condizioni di digiuno. Ciò è di particolare importanza per il sistema nervoso che, in condizioni fisiologiche, utilizza prevalentemente il glucosio quale substrato energetico.

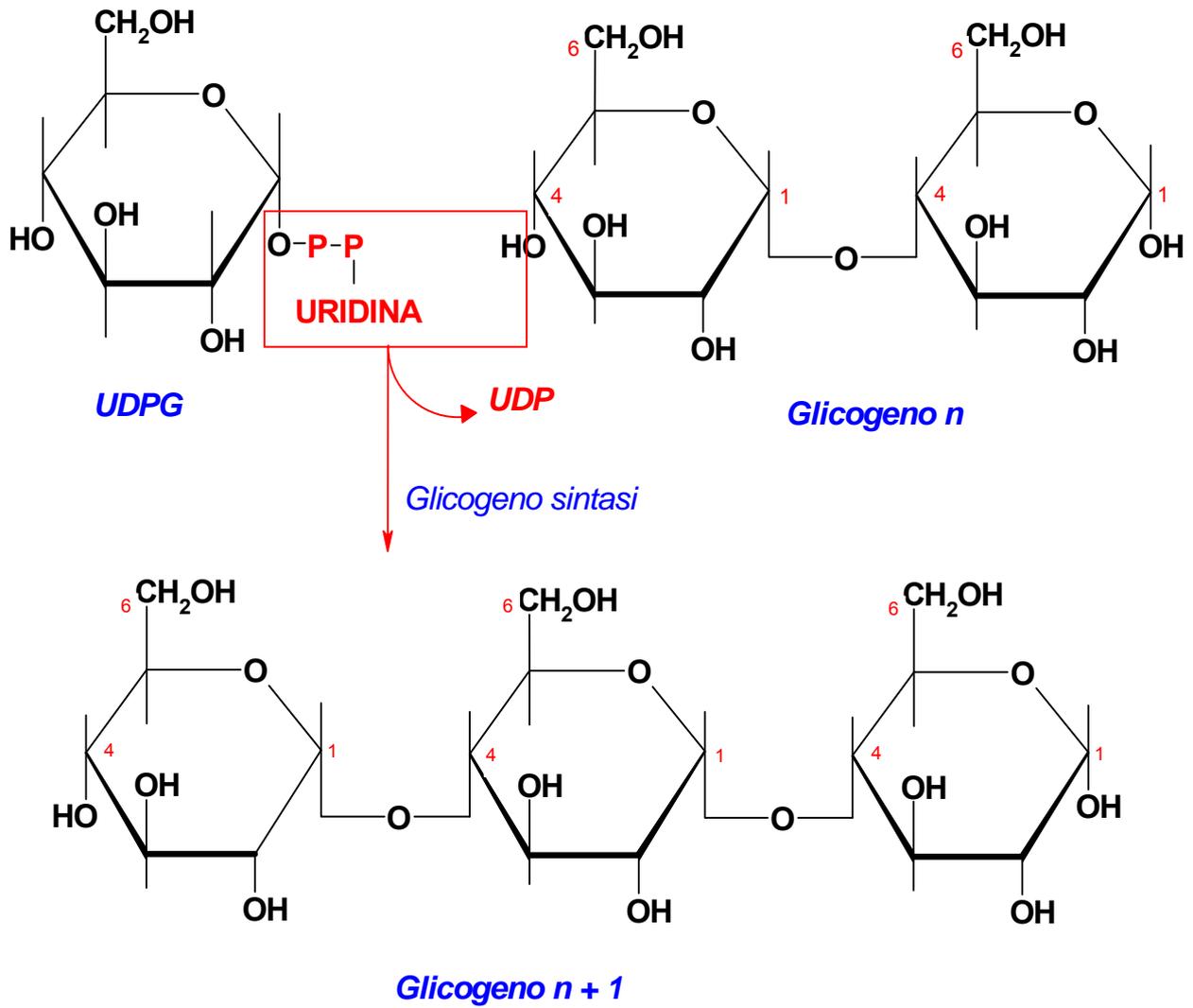
Il muscolo potrà invece utilizzare il glucosio 6-fosfato nel processo glicolitico per la produzione di ATP. La resa energetica della glicolisi anaerobia a partire da una molecola di glucosio contenuta nel glicogeno sarà di 3 ATP, anziché di 2 ATP. Si risparmia infatti la molecola di ATP utilizzata nella 1° reazione (esochinasica), dato che dalla glicogenolisi si ottiene già glucosio fosforilato (glucosio 1 fosfato che si converte in glucosio 6 fosfato).

6) Glicogenosintesi

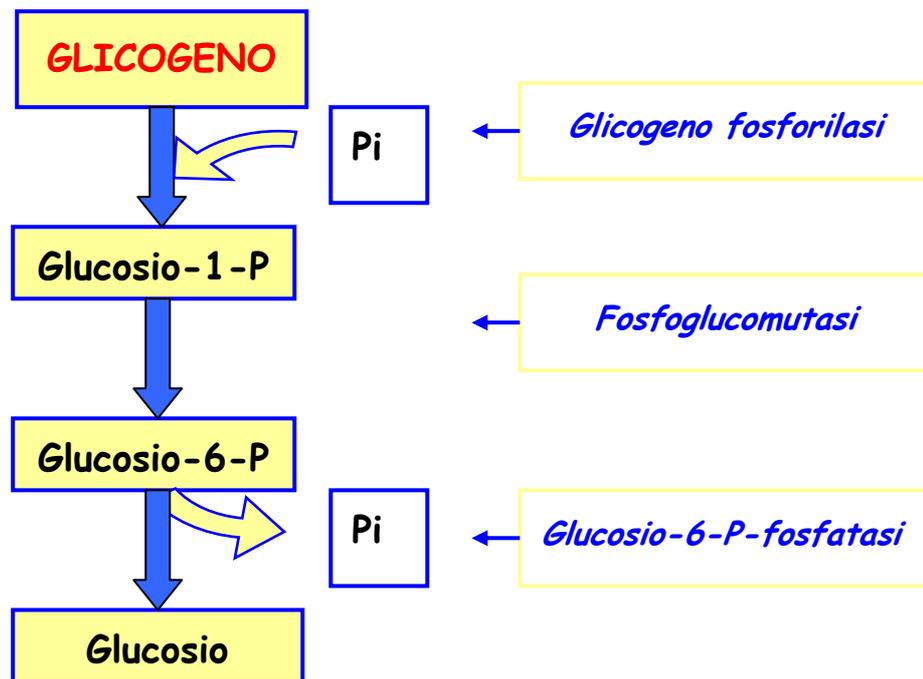
La glicogenosintesi è la via catabolica che provvede alla sintesi del glicogeno; tale via anabolica richiede consumo di energia, difatti per ogni molecola di glucosio che viene aggiunta al glicogeno verranno utilizzate 2 molecole di ATP.



La prima tappa prevede la fosforilazione, ad opera dell'enzima *esoquinasi* o *glucochinasi*, del glucosio in posizione 6 (G-6-P). Quindi l'enzima *fosfoglucomutasi* catalizza l'isomerizzazione del G6P in glucosio-1-P. A questo punto il G-1-P reagisce con l'uridin trifosfato (UTP) e si formano l'uridindifosfoglucosio (UDPG) e pirofosfato organico (PPI), reazione catalizzata dall'enzima *glucosio-1-P-uridil trasferasi*. Il residuo di glucosio incorporato nell'UDPG può, a questo punto, essere aggiunto all'estremità non riducente (C4) del glicogeno, con l'eliminazione dell'UDP (enzima *glicogeno sintasi*). Quindi la sintesi del glicogeno richiede in realtà l'intervento di una molecola di UTP e di una di ATP. La sintesi del glicogeno fin qui descritta, non è un processo *ex-novo*, ma un'apposizione di molecole di glucosio su preesistenti molecole di glicogeno. Difatti la sintesi *ex-novo* di glicogeno avviene a partire da glicoproteine, dette *iniziatrici* o *primer* (le glicogenine).



7) Glicogenolisi

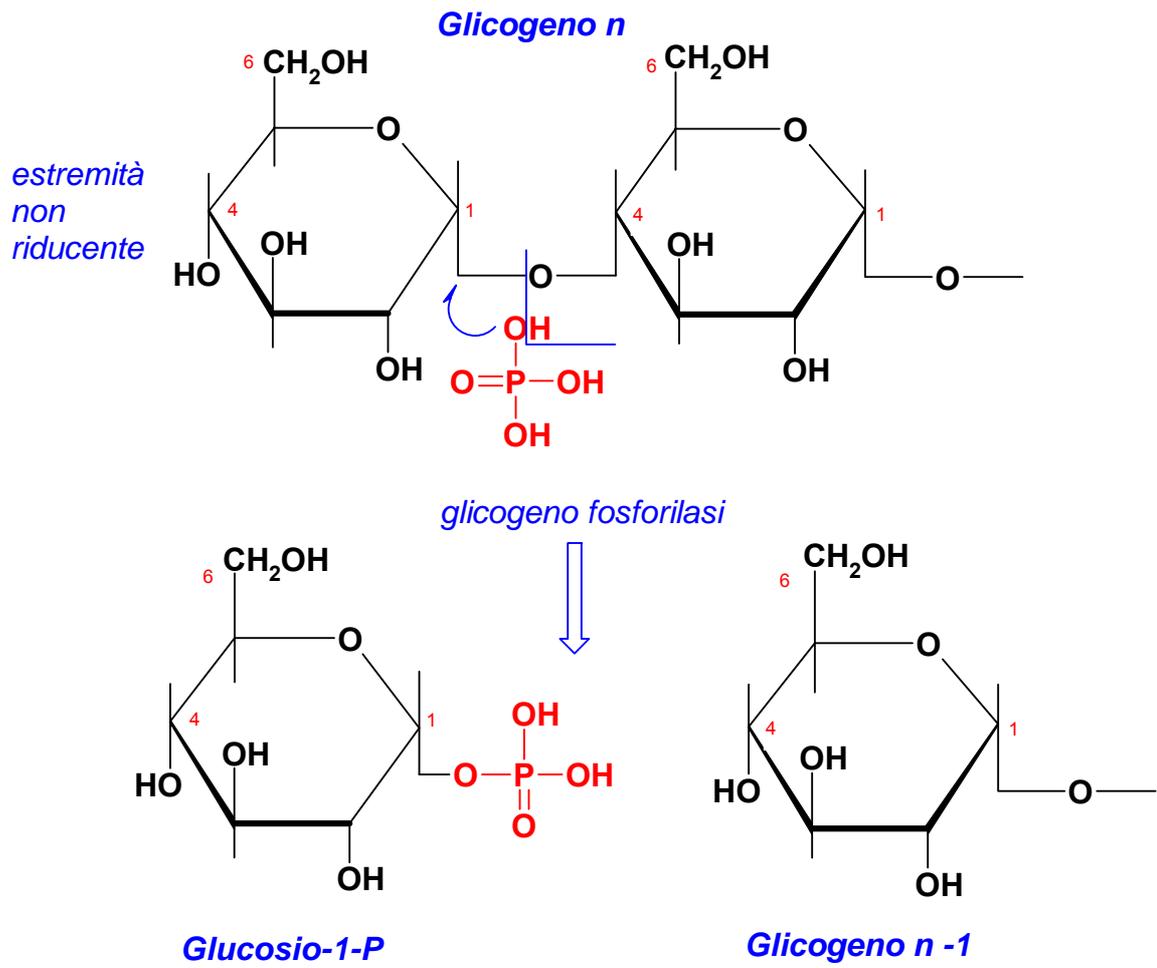


La rottura del legame alfa-1,4-glicosidico, a partire da una estremità non riducente, ha luogo mediante un processo di **fosforolisi**.

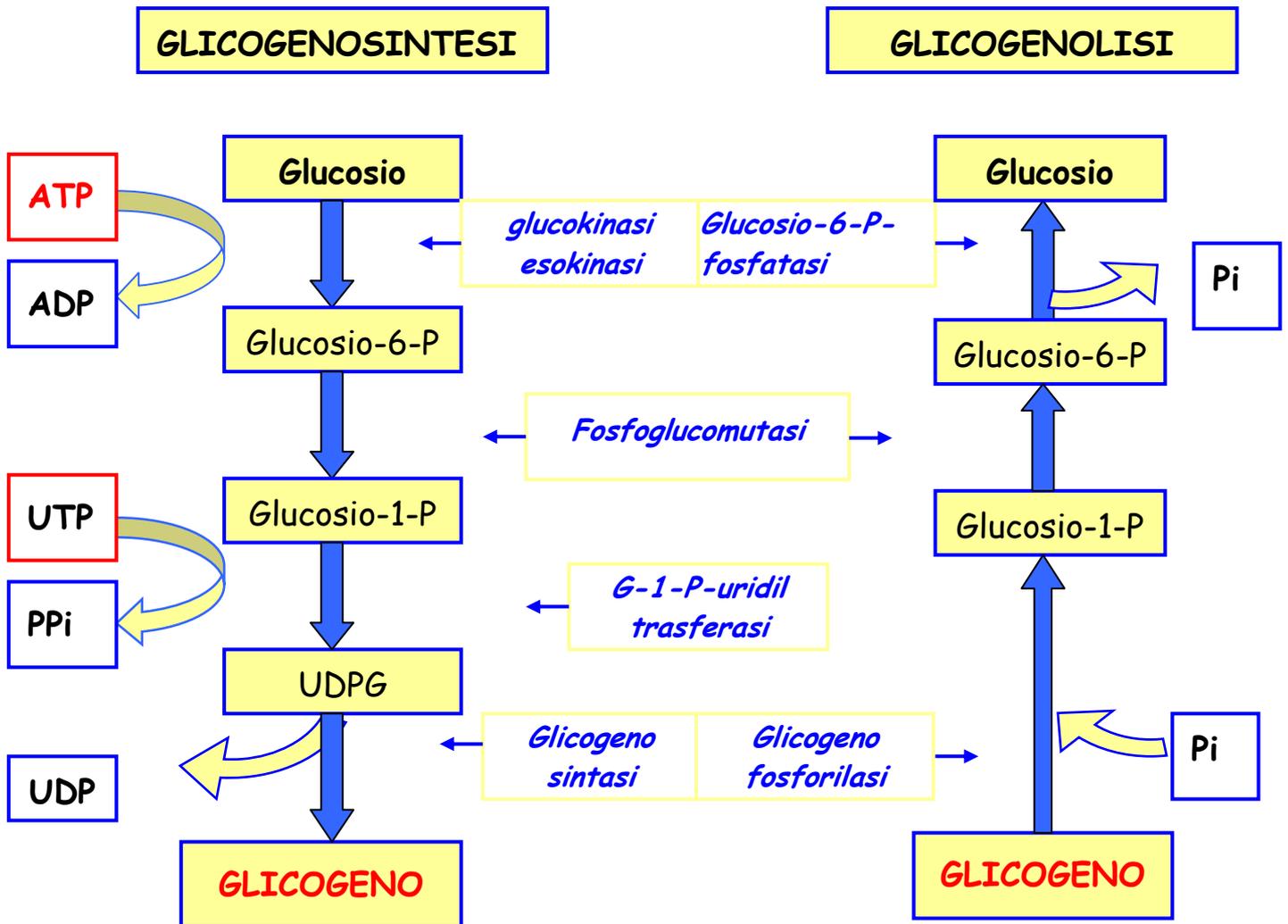
L'enzima *glicogeno fosforilasi* utilizza P_i (fosfato inorganico) per rompere il legame glucosidico α -1,4.

Il P_i si lega al carbonio in posizione 1 formando glucosio-1-fosfato. Il glucosio-1-fosfato può essere trasformato in glucosio-6-fosfato in una reazione catalizzata dall'enzima *fosfoglucomutasi*.

Altri due enzimi intervengono nella sintesi e nella degradazione del glicogeno: *l'enzima ramificante* per la formazione dei legami alfa 1,6 glicosidici delle ramificazioni e *l'enzima deramificante* per la rottura idrolitica dei punti di ramificazione. In realtà il meccanismo d'azione di questi due importanti enzimi è più complesso e implica anche delle reazioni glucan transferasiche. Si rimanda ai testi di Biochimica per un approfondimento.



8) Schema riepilogativo



9) Regolazione della glicogenolisi

Esistono due isoenzimi della *glicogeno fosforilasi* (l'enzima responsabile della glicogenolisi) espressi nel fegato e nel muscolo. La loro regolazione è diversa in accordo con le differenti funzioni del glicogeno epatico e muscolare.

Muscolo

1) *Regolazione da metaboliti*

L'**AMP** è un potente attivatore allosterico dell'enzima della glicogenolisi (glicogeno fosforilasi). Durante l'attività muscolare avremo infatti un consumo di ATP ed un incremento dei livelli di AMP (ricordare l'attività miochinasica descritta nei capitoli precedenti). L'AMP segnala che la cellula muscolare ha bisogno di substrato energetico (glucosio-6-fosfato derivato dal glicogeno) per la produzione di ATP.

2) *Regolazione ormonale*

L'ormone **adrenalina**, prodotto nella midollare del surrene, è in grado di interagire con specifici recettori posti nella membrana delle cellule muscolari attivando (tramite il secondo messaggero cAMP ed una cascata di fosforilazioni; vedi più avanti) la glicogenolisi.

3) *Regolazione dai livelli di calcio citosolico*

Durante la contrazione muscolare si ha un incremento dei livelli di **calcio citosolico** in seguito al rilascio di calcio dai depositi del reticolo sarcoplasmatico. Il calcio, tramite una specifica protein chinasi calcio e calmodulina dipendente (fosforilasi chinasi; vedi più avanti paragrafo 10), attiva la glicogeno fosforilasi e la glicogenolisi.

Il calcio sincronizza l'attivazione della glicogeno fosforilasi con la contrazione muscolare. Il processo di glicogenolisi nel muscolo aumenta di diverse centinaia di volte subito dopo l'inizio della contrazione e ciò richiede l'attivazione rapida della glicogeno fosforilasi. L'attivazione della contrazione muscolare e l'attivazione della glicogenolisi sono ambedue innescate dall'incremento dei livelli di calcio citosolico, assicurando così la loro sincronia.

Fegato

1) Regolazione da metaboliti

I livelli di **glucosio intracellulare** regolano l'attività della glicogeno fosforilasi epatica. Il glucosio inibisce l'attività dell'enzima e quindi la glicogenolisi.

2) Regolazione ormonale

Sia l'**adrenalina** (prodotta dalla midollare del surrene) sia il **glucagone** (ormone prodotto dalle cellule alfa delle isole pancreatiche) attivano la glicogenolisi mediante recettori di membrana ed il sistema dell'AMP ciclico.

Regolazione della glicogenolisi		
	Muscolo	Fegato
Regolazione da metaboliti	AMP (+)	Glucosio (-)
Regolazione ormonale	Adrenalina (+) Insulina (-)	Adrenalina (+) Glucagone (+) Insulina (-)
Regolazione dai livelli di calcio citosolico	(+) $\uparrow(\text{Ca}^{++})_i \rightarrow$ fosforilasi chinasi \rightarrow glicogeno fosforilasi	

Cenni sul glucagone e sull'insulina

Il **glucagone** è un polipeptide di 29 aminoacidi rilasciato dalle cellule alfa delle isole pancreatiche in condizioni di ipoglicemia (in particolare durante il digiuno).

I tessuti bersaglio del glucagone sono il *fegato* ed il *tessuto adiposo*. Nelle cellule di entrambi i tessuti il glucagone, legandosi agli specifici recettori di membrana, stimola l'adenilato ciclasi aumentando la concentrazione intracellulare di cAMP. (§ 10)

Nel fegato il glucagone attiva la *glicogenolisi*, mentre nel tessuto adiposo stimola la *lipolisi* che mobilizza dai depositi altri substrati energetici (grassi) utili in condizioni di digiuno.

La stimolazione della glicogenolisi epatica realizzata dal glucagone permette un passaggio di glucosio dai depositi epatici al sangue e tende a riportare alla norma i valori glicemici (la concentrazione di glucosio nel sangue). Il mantenimento di valori costanti di glicemia durante il digiuno è di particolare importanza per il sistema nervoso, che in condizioni normali, utilizza il glucosio come fonte energetica predominante.

Come vedremo nei prossimi capitoli il glucagone attiva anche la *gluconeogenesi*, un altro processo metabolico che consente al fegato di immettere glucosio nel sangue.

L'azione del glucagone è contraria a quella dell'insulina ed analoga a quella dell'adrenalina; bisogna comunque sottolineare che il fegato è molto più sensibile all'azione del glucagone rispetto all'adrenalina, mentre *il muscolo è sensibile solo all'adrenalina*.

Glucagone → ormone catabolico

L'**insulina** è un altro ormone polipeptidico (2 catene polipeptidiche di 21 e 30 aminoacidi unite da ponti disolfuro) prodotto dalle cellule beta delle isole pancreatiche.

L'insulina è rilasciata in condizioni di iperglicemia (quindi durante la fase post-prandiale) e stimola i processi metabolici che mettono in deposito il glucosio in eccesso nella fase post-prandiale. Attiverà quindi la glicogeno sintesi ed inibirà la glicogenolisi.

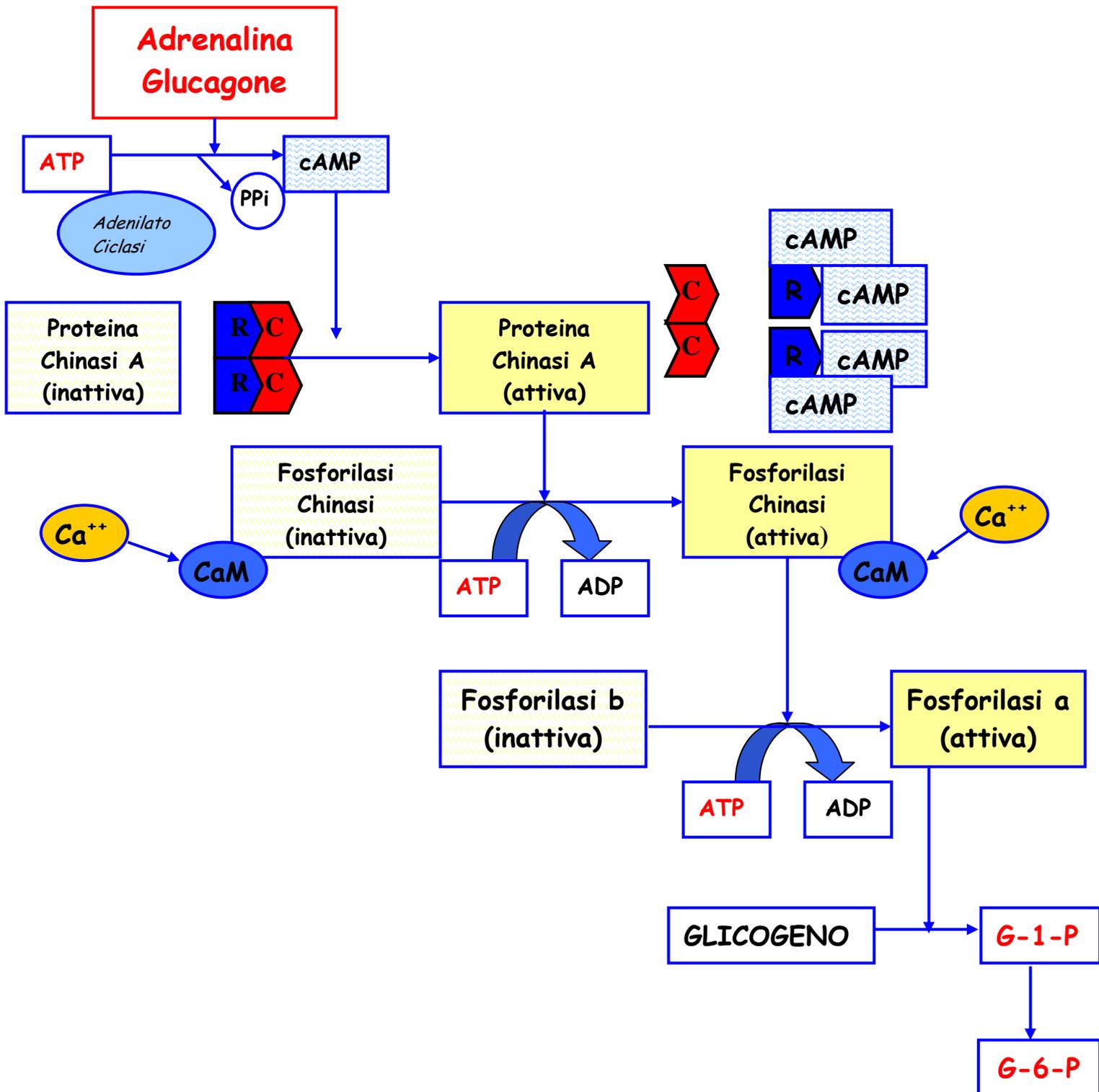
Come vedremo nei prossimi capitoli l'insulina inibisce la gluconeogenesi, stimola la lipogenesi ed inibisce l'enzima lipasi del tessuto adiposo.

In generale l'insulina e il glucagone hanno effetti antagonisti sul metabolismo.

Insulina → ormone anabolico

Effetti antagonisti del glucagone e dell'insulina		
Effetti ematici	GLUCAGONE	INSULINA
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Glicemia ▪ NEFA ▪ Corpi chetonici 	↑ ↑ ↑	↓ ↓ ↓
Meccanismi		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Glicogenosintesi (fegato) ▪ Glicogenolisi (fegato) ▪ Gluconeogenesi (fegato) ▪ Sintesi proteica ▪ proteolisi ▪ Lipolisi (tessuto adiposo) ▪ Lipogenesi (tessuto adiposo) ▪ Chetogenesi (fegato) 	↓ ↑ ↑ ↓ ↑ ↑ - ↑	↑ ↓ ↓ ↑ - ↓ ↑ ↓

10) Schema del sistema dell'AMP ciclico e della cascata delle reazioni protein chinasiche nella regolazione della glicogenolisi



Lo studio della regolazione della glicogenolisi ci offre l'opportunità di esaminare alcuni aspetti del meccanismo di azione cellulare di ormoni come l'adrenalina e il glucagone.

In generale gli ormoni sono messaggeri chimici che rilasciati nel circolo sanguigno da organi specializzati (ghiandole endocrine) agiscono su tessuti e cellule bersaglio, modificandone le attività enzimatiche e l'espressione genica. Alcuni ormoni esercitano i loro effetti senza penetrare nell'ambiente intracellulare. In questo caso la molecola ormonale interagisce con un cosiddetto "recettore" della membrana plasmatica. I recettori sono proteine intrinseche di membrana (cioè proteine che attraversano l'intera membrana plasmatica) che presentano dal lato extracellulare un sito di legame per l'ormone (detto anche ligando). L'interazione dell'ormone con il recettore produce l'attivazione (o in alcuni casi l'inibizione) di un enzima localizzato nella membrana plasmatica ma con il sito catalitico rivolto verso l'ambiente intracellulare: tale enzima di membrana viene detto *enzima effettore*.

(Nota. l'interazione tra il complesso ormone-recettore e l'enzima effettore è mediato da una classe di proteine etrotrimeriche leganti i nucleotidi guanilici dette proteine G; consultare i libri di testo di Biochimica per ulteriori informazioni sull'argomento).

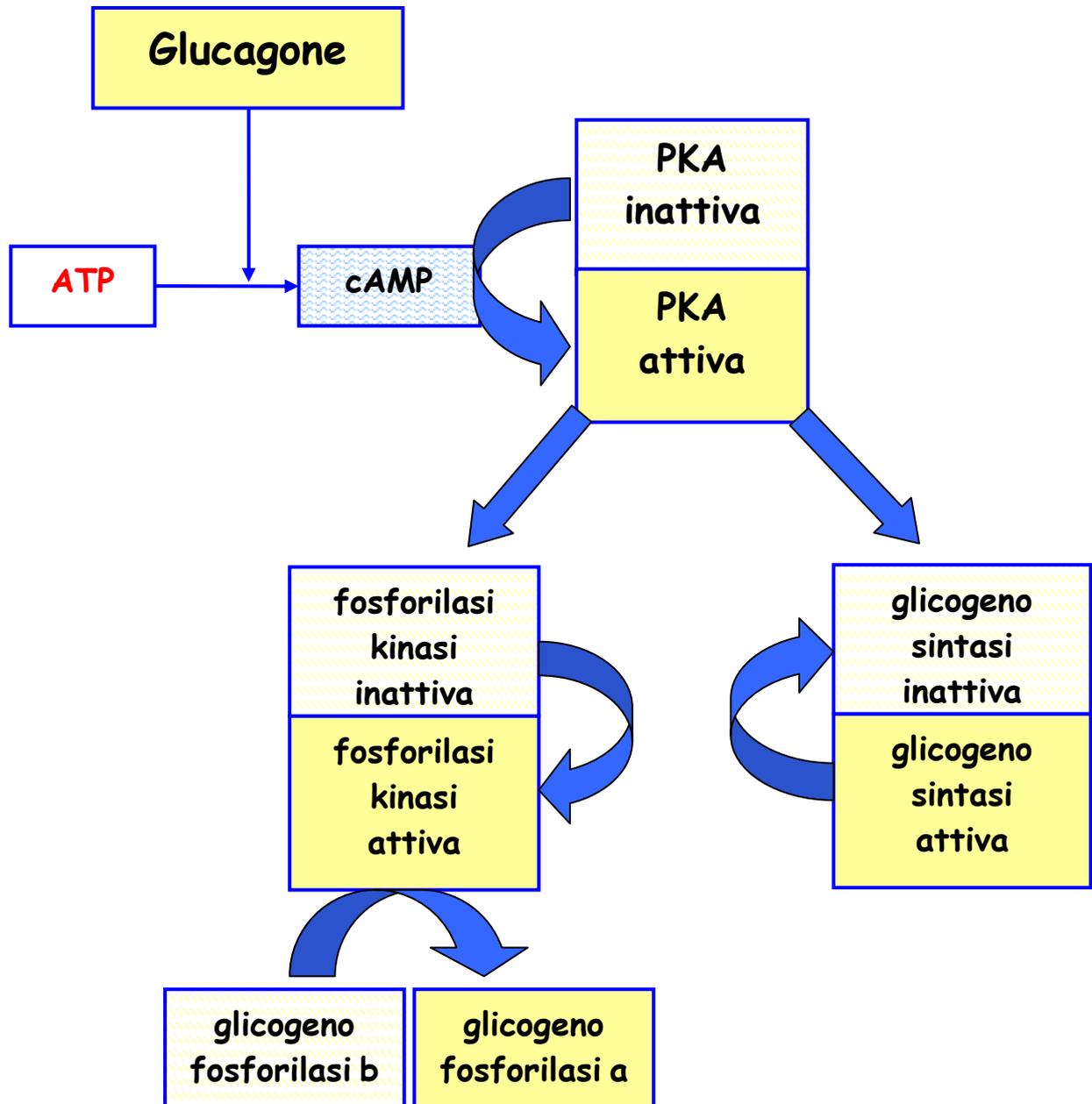
Il più noto tra gli enzimi effettori (ed il primo ad essere studiato) è l'enzima *adenilato ciclasi*. L'adenilato ciclasi catalizza la reazione di trasformazione dell'ATP in AMP ciclico (cAMP) con liberazione di pirofosfato (PPi). In definitiva l'interazione del glucagone con il suo recettore specifico sulla membrana delle cellule epatiche risulta nell'attivazione dell'enzima adenilato ciclasi e in un rapido incremento dei livelli intracellulari di cAMP. Per tale ragione il cAMP è stato definito il "secondo messaggero" (il primo messaggero è, infatti, l'ormone stesso). *In che modo l'incremento dei livelli intracellulari di cAMP provoca l'attivazione della glicogenolisi?* Il cAMP attiva un altro enzima localizzato nell'ambiente intracellulare: la *protein chinasi cAMP-dipendente o protein kinasi A (PKA)*. Questo enzima è formato da 4 subunità: 2 subunità regolatrici e 2 subunità catalitiche. In presenza di bassi livelli intracellulari di cAMP le 4 subunità sono associate e l'attività delle subunità catalitiche è inibita. In seguito all'aumento dei livelli di cAMP le subunità regolatrici legano 2 molecole di cAMP per subunità e questo provoca la dissociazione delle subunità catalitiche. Le subunità catalitiche libere sono attive. Come indicato dal nome le protein chinasi sono enzimi che catalizzano la fosforilazione delle proteine substrato utilizzando il fosfato gamma dell'ATP. Nel caso del meccanismo di attivazione ormonale della glicogenolisi la PKA catalizza il trasferimento del fosfato gamma dell'ATP su uno specifico residuo di serina di un altro enzima chiamato *fosforilasi chinasi*. L'enzima fosforilasi chinasi esiste quindi in due forme. una forma defosforilata inattiva e una forma fosforilata attiva. Questo enzima, a sua volta, catalizza la fosforilazione della *glicogeno fosforilasi*, l'enzima responsabile della glicogenolisi. Anche la glicogeno fosforilasi esiste, quindi, in due forme: la cosiddetta *glicogeno*

fosforilasi b (defosforilata inattiva) e la *glicogeno fosforilasi a* (fosforilata attiva). Questo meccanismo dove una protein chinasi ha come substrato un'altra protein chinasi (PKA → fosforilasi chinasi) o un'altra proteina enzimatica (fosforilasi chinasi → glicogeno fosforilasi) viene indicato con il nome di **cascata chinastica**.

Le cascate enzimatiche, come quella appena illustrata, provocano una amplificazione del messaggio originale. La concentrazione degli ormoni nel sangue è in genere molto bassa, meno di 10^{-8} M. Il legame di una singola molecola ormonale con la superficie della cellula è in grado di attivare un certo numero di molecole di adenilato ciclasi, ciascuna delle quali può produrre un elevato numero di messaggeri cAMP. Così la produzione del secondo messaggero è già un'importante fase di amplificazione del segnale. Il cAMP attiva poi la PKA capace di fosforilare un gran numero di molecole di fosforilasi chinasi che, a loro volta, sono in grado di fosforilare un numero ancora più grande di molecole di glicogeno fosforilasi. Quindi ciò che inizia come uno stimolo appena percettibile sulla superficie della cellula si trasforma in una grossa mobilitazione di glucosio dai depositi di glicogeno.

La glicogeno fosforilasi b può essere attivata mediante fosforilazione in glicogeno fosforilasi a. Tuttavia bisogna ricordare che nel muscolo la glicogeno fosforilasi b può essere anche attivata mediante il legame diretto di molecole di AMP, (vedi regolazione della glicogenolisi muscolare nel paragrafo 8). I livelli di AMP mettono in correlazione le richieste energetiche della cellula muscolare con la glicogenolisi. Un altro livello di regolazione è situato a livello dell'enzima fosforilasi chinasi. Questo enzima è associato con una piccola proteina, la *calmodulina*, che possiede 4 siti di legame per il calcio. Quando i livelli di calcio citosolico si innalzano (durante la contrazione muscolare) i siti di legame della calmodulina vengono occupati dal calcio e ciò provoca un cambiamento di conformazione della proteina e l'attivazione dell'enzima fosforilasi chinasi. Come già detto nel paragrafo 8, questo meccanismo assicura la sincronia della attivazione della contrazione muscolare e della glicogenolisi.

12) Le attività della glicogeno sintasi e della glicogeno fosforilasi sono regolate in modo speculare.



Capitolo VII

Gluconeogenesi

- 1) *Definizione di gluconeogenesi epatica*
- 2) *Reazioni della gluconeogenesi*
- 3) *Bilancio energetico della gluconeogenesi da piruvato*
- 4) *Gluconeogenesi da lattato*
- 5) *Ciclo Lattato-Glucosio (Muscolo – Fegato, Eritrocita-Fegato)*
- 6) *Significato funzionale della gluconeogenesi durante il digiuno*
- 7) *Gluconeogenesi da glicerolo*
- 8) *Gluconeogenesi da aminoacidi e cenni sul catabolismo ossidativo degli aminoacidi*
- 9) *Relazione fra gluconeogenesi e ciclo di Krebs negli epatociti*
- 10) *Aminoacidi essenziali*

1) Definizione di gluconeogenesi epatica

La gluconeogenesi è la via metabolica che permette la sintesi del glucosio a partire da composti non glucidici.

Tale via metabolica sarà molto attiva durante il digiuno. Il cervello (ed in generale il tessuto nervoso) utilizza come substrato energetico fondamentale il glucosio ed è necessario mantenere stabili le concentrazioni ematiche di glucosio (glicemia) anche in condizioni di digiuno, in modo che non venga a mancare il necessario apporto glucidico al sistema nervoso. Il fegato è l'organo che dà il maggior contributo a questo compito e viene definito il "glucostato" del nostro organismo. Infatti, durante la fase di assorbimento dei glicidi alimentari, avrà il compito di captare il glucosio e di trasformarlo in forme di deposito (glicogenosintesi, conversione zuccheri-grassi). Durante il digiuno dovrà invece immettere glucosio nel sangue in modo da compensare il consumo degli altri organi (ed in particolare del sistema nervoso). A tale scopo sono molto attive nel fegato 2 vie metaboliche: la glicogenolisi (vedi capitolo VI) e la gluconeogenesi (vedi più avanti la sezione su "significato funzionale della gluconeogenesi durante il digiuno")

La gluconeogenesi avviene nel fegato e nel rene e consente di sintetizzare glucosio a partire da substrati detti *gluconeogenici*. Tali substrati sono:

1. **gli aminoacidi gluconeogenici;**
2. **il glicerolo;**
3. **gli acidi grassi a catena dispari** (limitatamente al frammento a 3 atomi di carbonio, propionil CoA, che si ottiene nell'ultima tappa della beta-ossidazione degli acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio); *E' degno di nota il fatto che l'organismo umano non è in grado di utilizzare gli acidi grassi con numero pari di atomi di carbonio per produrre glucosio (non è possibile convertire l'acetyl-CoA in glucosio).* Bisogna ricordare che gli acidi grassi con numero dispari rappresentano una frazione trascurabile del totale degli acidi grassi del nostro organismo. La conversione grassi-zuccheri è, quindi, un processo trascurabile nel nostro organismo, mentre la conversione zuccheri-grassi ha una notevole importanza fisiologica (vedi capitolo VIII).
4. **lattato** (la biosintesi di glucosio da lattato viene anche chiamata Glucogenesi).

Questi substrati devono essere prima trasformati in piruvato o in composti intermedi del ciclo di Krebs, in quanto la gluconeogenesi prevede una serie di reazioni che coincidono con quelle della glicolisi, ma con decorso inverso. Soltanto tre reazioni della glicolisi, la 1°, la 3° e la 10°, sono irreversibili, in condizioni fisiologiche, se catalizzate da enzimi glicolitici; nella gluconeogenesi sono pertanto catalizzate da enzimi diversi.

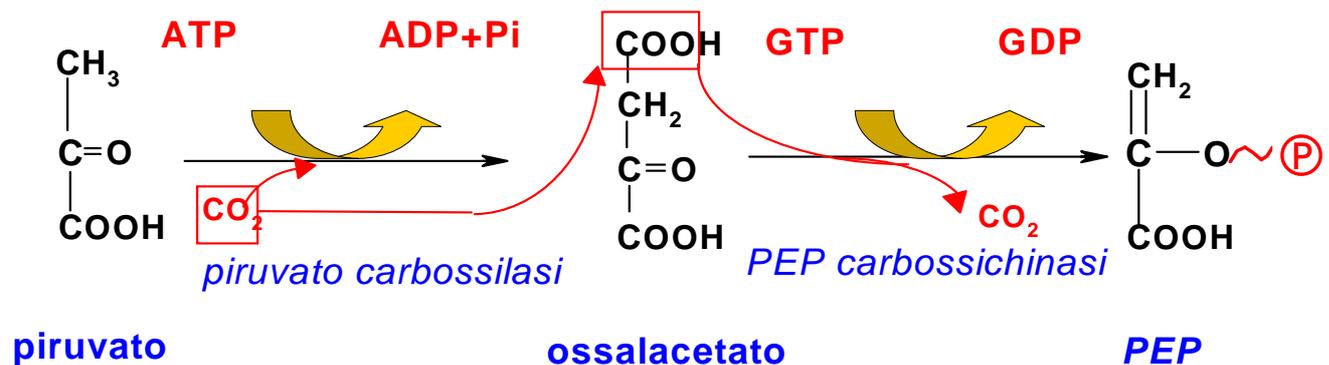
Le tre reazioni irreversibili della glicolisi sono:

- **la prima** (catalizzata dall'enzima esochinasi);
- **la terza** (catalizzata dall'enzima fosfofruttochinasi);
- **la decima** (catalizzata dall'enzima piruvato chinasi).

2) Reazioni della gluconeogenesi

Percorriamo le tappe della glicolisi in senso inverso (da piruvato a glucosio) soffermandoci in particolare ad analizzare le reazioni irreversibili della glicolisi.

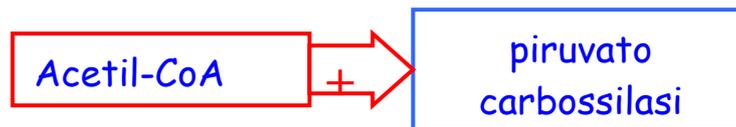
● Decima reazione



La conversione del piruvato in PEP avviene **in due reazioni** in sequenza. La prima reazione è una **carbossilazione** che avviene all'interno dei mitocondri in quanto l'enzima che la catalizza ha sede nella matrice mitocondriale: il piruvato, grazie all'enzima *piruvato carbossilasi*, viene convertito in ossalacetato a spese di una molecola di ATP. Si passa da un composto a 3 atomi di carbonio ad uno a 4C: la generazione di ossalacetato permette la successiva formazione di PEP.

È interessante osservare che l'attività dell'enzima piruvato carbossilasi è stimolata allostericamente dall'acetil-CoA.

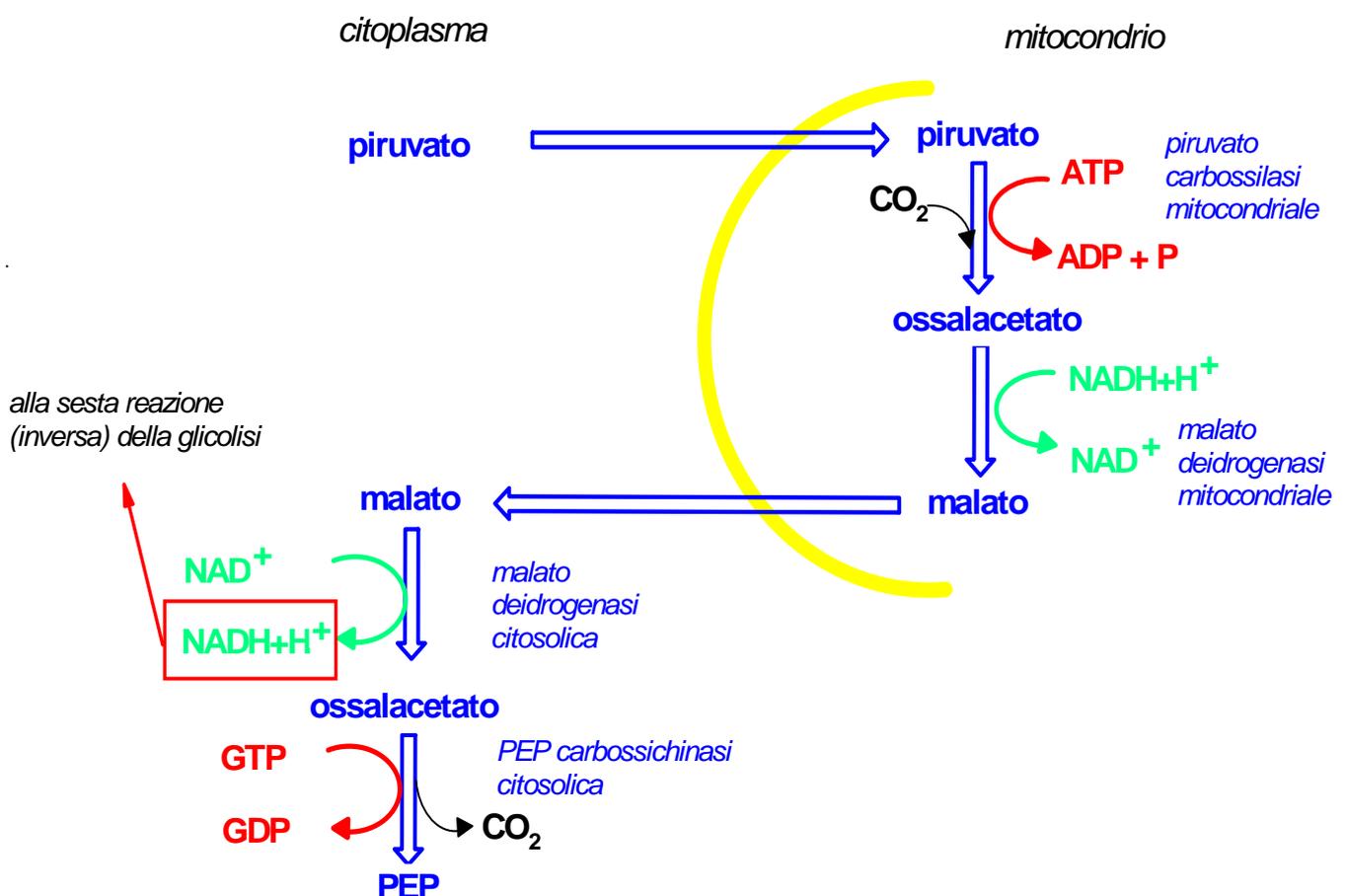
Abbiamo già incontrato la reazione catalizzata dall'enzima piruvato carbossilasi nel capitolo sulle reazioni anaplerotiche del ciclo di Krebs (capitolo III). Infatti tale reazione produce ossalacetato, cioè uno dei substrati di partenza del ciclo di Krebs. Non è dunque sorprendente che in presenza di alti livelli dell'altro substrato di partenza del ciclo di Krebs (l'acetil-CoA) ci sia una stimolazione dell'enzima piruvato carbossilasi. Tuttavia tale regolazione enzimatica ha anche un altro significato nel fegato in condizioni di digiuno. Infatti, durante il digiuno, l'ossalacetato epatico viene indirizzato verso il processo della gluconeogenesi (vedi reazioni successive in questo capitolo) e quindi viene sottratto al ciclo di Krebs. La sottrazione del substrato catalitico (ossalacetato) rallenta la velocità del ciclo di Krebs a livello epatico e favorisce l'accumulo di acetil-CoA. Inoltre, durante il digiuno, nel fegato si ha un'augmentata produzione di acetil-CoA derivante dalla beta-ossidazione degli acidi grassi che sono giunti al fegato dal tessuto adiposo (dove, durante il digiuno, si svolge il processo della lipolisi). L'acetil-CoA, attivando l'enzima piruvato carbossilasi, favorisce la conversione del piruvato in glucosio (gluconeogenesi). L'augmentata produzione di acetil-CoA ed il rallentamento del ciclo di Krebs sono anche alla base dell'aumento della chetogenesi epatica.



Esaminiamo adesso la conversione dell'ossalacetato in fosfo-enolpiruvato (PEP). In questa seconda reazione avviene contemporaneamente la decarbossilazione dell'ossalacetato e la fosforilazione dell'enol-piruvato ottenuto, con formazione del PEP. Il donatore del fosfato è il GTP che si trasforma in GDP.

La reazione è catalizzata dall'enzima *PEP carbossichinasi*, enzima con sede citosolica. Quindi l'ossalacetato deve essere trasportato nel citoplasma attraversando la membrana mitocondriale interna. Questa membrana è scarsamente permeabile all'ossalacetato che può essere trasportato sotto forma di malato o di aspartato.

La conversione mitocondriale dell'ossalacetato in malato, la fuoriuscita del malato nel citosol e quindi la sua successiva trasformazione in ossalacetato consente il trasferimento indiretto dal mitocondrio al citosol di equivalenti riducenti di NAD, necessari per far procedere la gluconeogenesi (vedi lo schema nella figura seguente che illustra il ruolo degli isoenzimi mitocondriale e citosolico della malato deidrogenasi nel trasferimento dell'ossalacetato e del $\text{NADH}+\text{H}^+$).



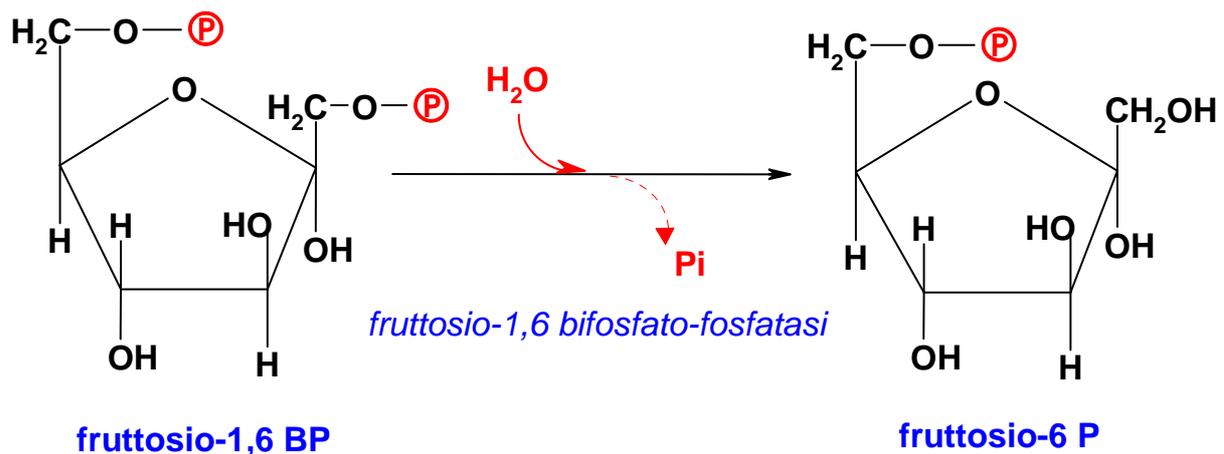
In realtà sono state individuate due isoforme dell'enzima PEP carbossichinasi, una con sede citosolica, l'altra con sede mitocondriale. Il PEP che si forma in sede mitocondriale può essere trasportato attraverso la membrana mitocondriale. Secondo alcuni ricercatori l'isoforma mitocondriale partecipa alla gluconeogenesi da lattato (vedi più avanti), mentre l'isoforma citosolica alla gluconeogenesi da aminoacidi.

Il PEP formato nelle precedenti reazioni percorre le varie reazioni della glicolisi in senso inverso.

● nona → quarta reazione:

Le stesse della glicolisi, ma in senso inverso;

● Terza reazione:

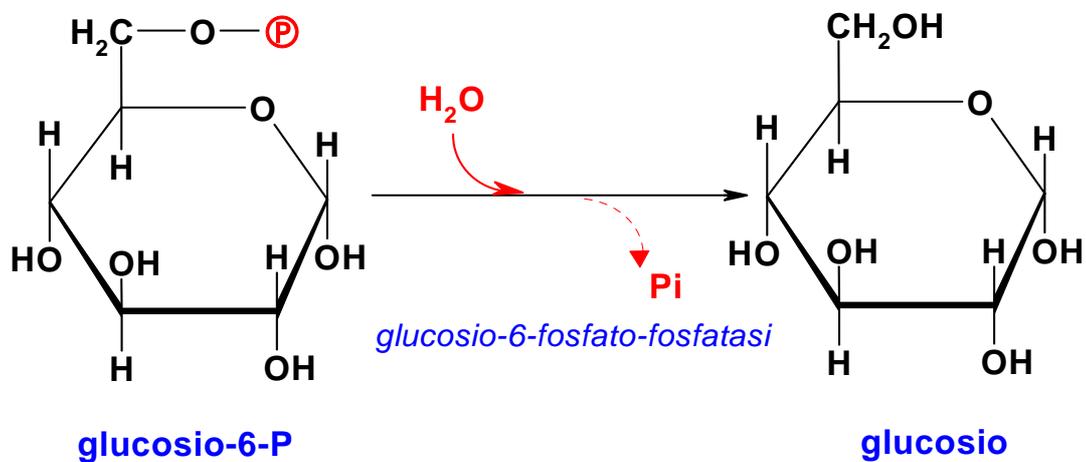


Si ricorda che la terza reazione, nella glicolisi, è catalizzata dall'enzima fosfofruttochinasi. Lo stesso enzima (in condizioni fisiologiche) non può catalizzare la reazione inversa: la defosforilazione del fruttosio 1,6 bisfosfato è catalizzata dall'enzima *fruttosio 1,6- bisfosfato fosfatasi* che rimuove il fosfato in posizione 1 con un meccanismo idrolitico.

● Seconda reazione:

Come nella glicolisi, ma all'inverso.

● **Prima reazione:**

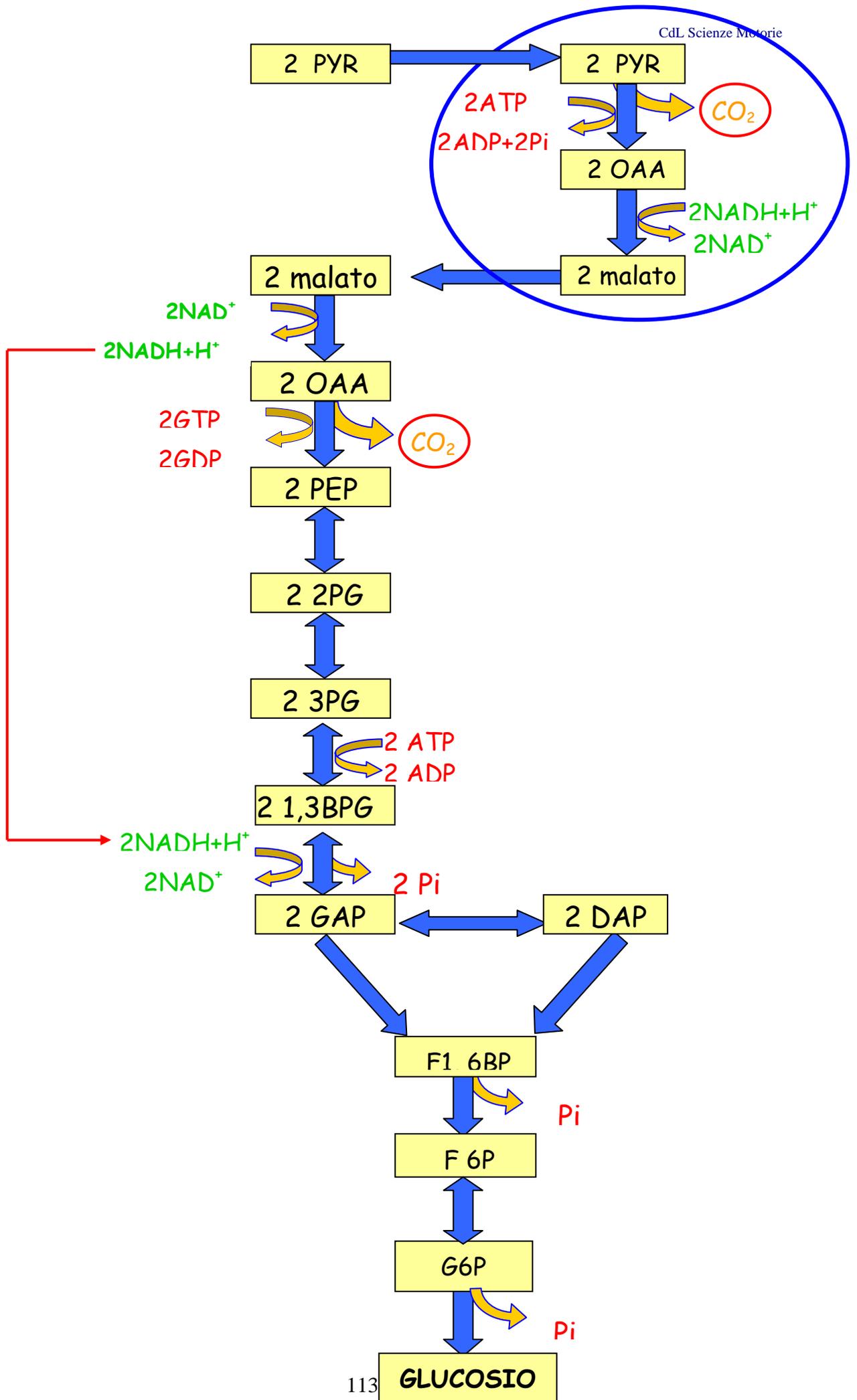


Si ha il distacco idrolitico del fosfato catalizzato da un'altra fosfatasi, la *glucosio 6 fosfato fosfatasi*. L'attività dell'enzima è facilitata da elevate concentrazioni di glucosio-6-fosfato che nel contempo, inibisce l'attività dell'enzima della glicolisi, la esochinasi.

La glucosio-6P-fosfatasi è espressa solo nelle cellule di tessuti che rilasciano glucosio nel sangue, ovvero fegato, rene, intestino. In particolare è il fegato l'organo che regola i livelli della glicemia nel sangue rilasciando glucosio proveniente in primo luogo dai depositi di glicogeno (glicogenolisi) e secondariamente dalla gluconeogenesi, cioè dalla sintesi di glucosio a partire da substrati non glucidici.

Ecco una tabella riassuntiva con gli enzimi delle tre tappe irreversibili della glicolisi e i corrispondenti enzimi della gluconeogenesi necessari per aggirare queste tappe.

	Enzimi della glicolisi	Enzimi della gluconeogenesi
1	<i>esochinasi</i>	<i>glucosio-6-fosfato fosfatasi</i>
3	<i>fosfofruttochinasi</i>	<i>fruttosio-1,6-bisfosfatasi</i>
10	<i>piruvato chinasi</i>	<i>piruvato carbossilasi (richiede ATP)</i> <i>fosfoenolpiruvato carbossichinasi (richiede GTP)</i>

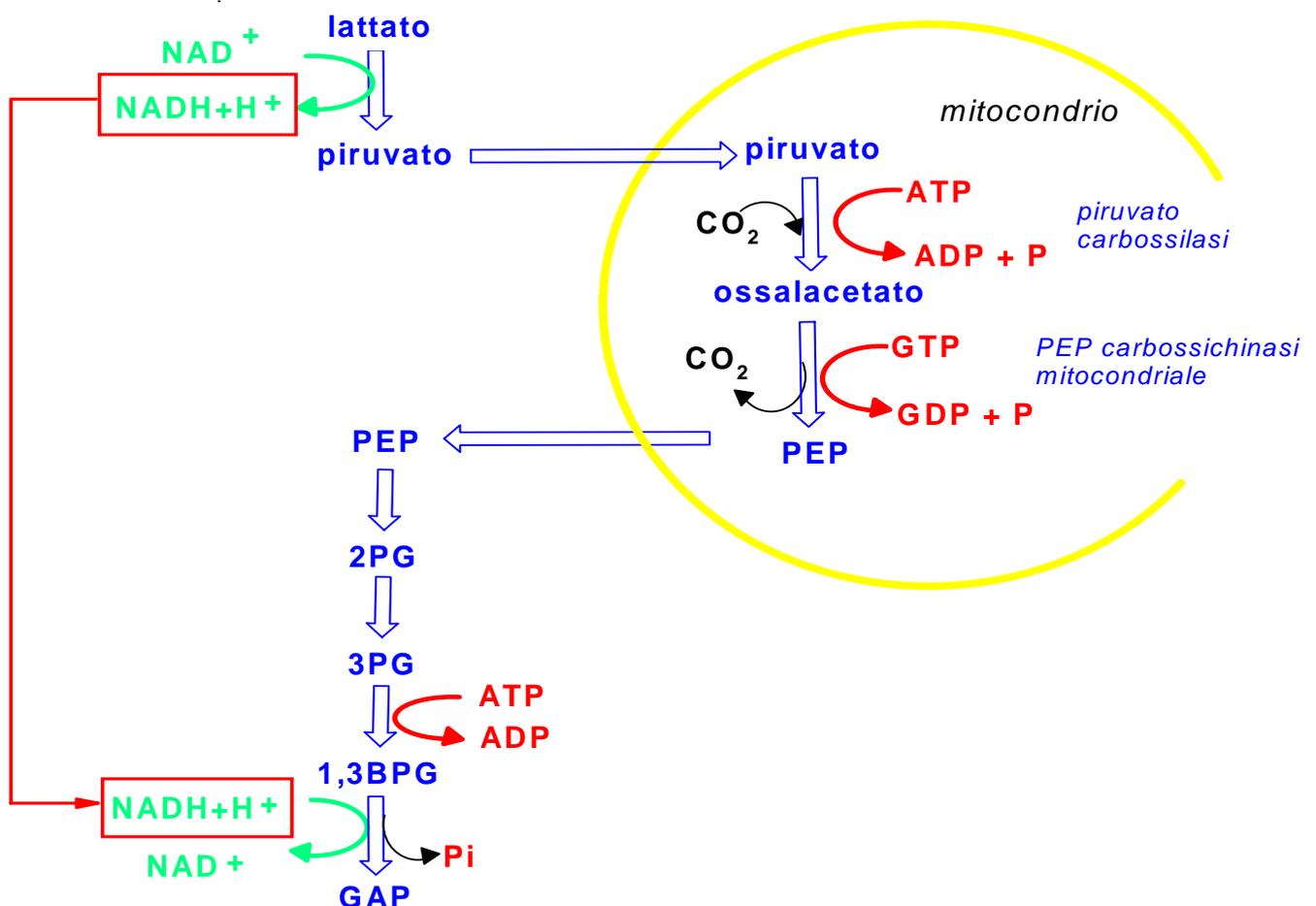


3) Bilancio energetico della gluconeogenesi da piruvato

Moli di ATP consumato per ogni mole di glucosio neosintetizzato nella gluconeogenesi da piruvato:	
$2 \times \text{PYR} \rightarrow 2 \text{ PEP}$	4 ATP
$2 \times 3\text{-PG} \rightarrow 2 \times 1,3\text{-PG}$	2 ATP
$2 \times 1,3\text{-PG} \rightarrow 2 \times \text{GAP}$	2 NADH+H ⁺ (2x3 ATP)
CONSUMO TOTALE	12 ATP

4) Glucogenesi da lattato

Quando il substrato di partenza è il lattato, si parlerà di **glucogenesi** in quanto non avviene una sintesi *ex novo* perchè il lattato stesso origina dal glucosio.



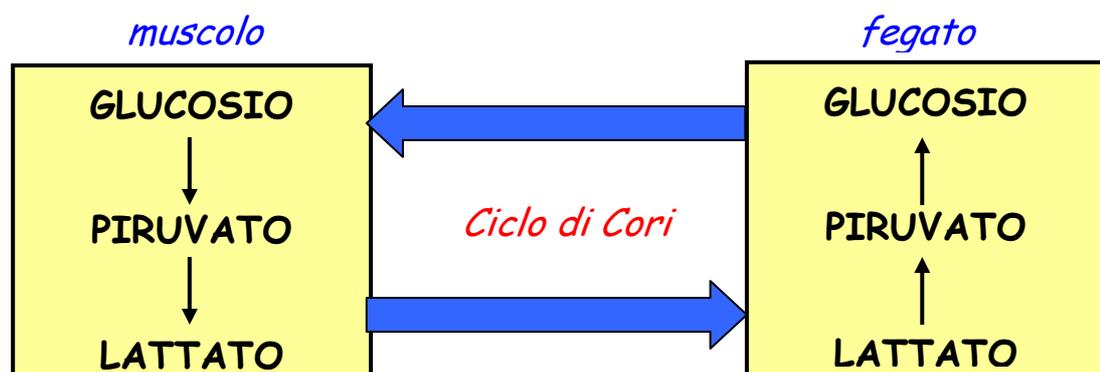
In questa via metabolica si avrà un risparmio di ATP perché il NAD ridotto richiesto dalla tappa catalizzata dall'enzima 3-fosfogliceraldeide deidrogenasi si forma nella tappa di conversione del lattato in piruvato (vedi figura). La decarbossilazione dell'ossalacetato in PEP è catalizzata da un'isoforma della piruvato carbossichinasi con sede mitocondriale .

Moli di ATP consumato per ogni mole di glucosio sintetizzato nella gluconeogenesi da lattato:

2 lattato → 2 PYR	+ 2NADH+H ⁺
2 PYR → 2 PEP	- 4 ATP
2 3-PG → 2 x 1,3-PG	- 2 ATP
2 1,3-PG → 2 x GAP	- 2 NADH+H ⁺
CONSUMO TOTALE	- 6 ATP

5) Ciclo Lattato-Glucosio (Muscolo – Fegato, Eritrocita-Fegato)

Il lattato che si produce nel muscolo nella glicolisi anaerobia, durante uno sforzo di intensità superiore alla soglia anaerobia, viene riconvertito in glucosio a livello epatico durante la fase di recupero. Infatti, durante la fase di recupero dallo sforzo, il lattato diffonde dal muscolo nel sangue e viene captato a livello epatico. L'enzima lattato deidrogenasi catalizza la conversione del lattato in piruvato a livello epatico ed il piruvato viene successivamente convertito in glucosio nel processo della gluconeogenesi epatica. Il glucosio può essere immesso nel sangue grazie all'azione dell'enzima epatico glucosio-6-fosfato fosfatasi e ricaptato a livello muscolare dove può ricostituire le scorte di glicogeno.



Non esiste soltanto un **Ciclo Muscolo – Fegato**, ma anche un **Ciclo Eritrocita – Fegato**, poiché i globuli rossi non possiedono mitocondri ed utilizzano costantemente la glicolisi anaerobia e la produzione di lattato per i loro fabbisogni energetici.

Circa 40 g di lattato vengono prodotti nelle 24 ore dai tessuti aventi un metabolismo esclusivamente anaerobico come gli eritrociti.

6) Significato funzionale della gluconeogenesi durante il digiuno

Il cervello utilizza come substrato energetico il glucosio. In condizioni di digiuno il consumo cerebrale di glucosio, non accompagnato dall'immissione di glicidi alimentari dall'intestino, porterebbe in breve tempo ad una grave riduzione dei valori glicemici (glicemia: concentrazione di glucosio nel sangue; 60-125 mg/100 ml). Allo scopo di mantenere costante la glicemia il *fegato ha il compito, durante il digiuno, di immettere glucosio nel sangue* (il fegato come glucostato). Per questo compito utilizza due processi metabolici: la glicogenolisi e la gluconeogenesi. Per ambedue i processi è fondamentale che il fegato esprima l'enzima glucosio-6-fosfato fosfatasi, l'enzima che converte il G-6-P in glucosio libero capace di attraversare la membrana plasmatica. Le scorte di glicogeno vengono esaurite nell'arco di 18-24 ore, mentre la gluconeogenesi può andare avanti per diversi giorni con un picco di intensità intorno alla terza giornata di digiuno.

I substrati per la gluconeogenesi durante il digiuno sono rappresentati dagli aminoacidi gluconeogenici (derivati dalla degradazione delle proteine) ed dal glicerolo (derivato dalla degradazione dei trigliceridi: lipolisi). Una piccola frazione di scheletri carboniosi a tre atomi di carbonio (propionil CoA), che può essere convertita nell'intermedio del ciclo di Krebs succinil-CoA e quindi in ossalacetato ed in glucosio, deriva dagli acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio. Gli acidi grassi dispari rappresentano, tuttavia, una minoranza, ed è importante ricordare che gli acidi grassi pari non sono substrati per la produzione di glucosio.

7) Gluconeogenesi da glicerolo

Il glicerolo proveniente dall'idrolisi dei trigliceridi soprattutto a livello del tessuto adiposo viene riversato nel circolo sanguigno e, giunto nel fegato, viene trasformato in glucosio. Nel fegato il glicerolo viene fosforilato in glicerolo-3-fosfato dall'enzima *glicerolo chinasi* e poi trasformato in DAP, un intermedio della glicolisi. A questo punto può essere degradato nella glicolisi o essere utilizzato come precursore del glucosio, a seconda delle esigenze dell'organismo.

L'idrolisi dei trigliceridi nel tessuto adiposo (lipolisi) è catalizzata dall'enzima lipasi adipolitica o lipasi ormono-sensibile. Tale lipasi è sotto controllo ormonale:

è attivata dal glucagone durante il digiuno ed è inibita dall'insulina nelle fasi post-prandiali. L'idrolisi dei trigliceridi nel tessuto adiposo produce glicerolo (vedi sopra) ed acidi grassi che, sotto forma di NEFA (non esterified fatty acids), sono trasportati nel sangue dall'albumina e vengono captati dal fegato e dai muscoli.

8) Gluconeogenesi da aminoacidi e cenni sul catabolismo ossidativo degli aminoacidi

Gli aminoacidi sono utilizzati principalmente per sintetizzare nuove proteine ma possono essere anche degradati a scopi energetici. In alcune particolari condizioni, ovvero quando le riserve glucidiche sono esaurite, il nostro organismo è in grado di ricavare glucosio a partire da aminoacidi detti pertanto *gluconeogenici*.

Aminoacidi glucoenigenici e chetogenici		
Glucogenici	Chetogenici	Glucogenici e chetogenici
<i>glicina</i>	<i>leucina</i>	<i>treonina</i>
<i>serina</i>	<i>lisina</i>	<i>isoleucina</i>
<i>valina</i>		<i>fenilalanina</i>
<i>istidina</i>		<i>tirosina</i>
<i>arginina</i>		<i>triptofano</i>
<i>cisterna</i>		
<i>prolina</i>		
<i>idrossiprolina</i>		
<i>alanina</i>		
<i>glutammato</i>		
<i>glutammina</i>		
<i>aspartato</i>		
<i>asparagina</i>		
<i>metionina</i>		

Esamineremo ora alcune reazioni generali del metabolismo degli aminoacidi che consentono la rimozione del gruppo aminico dallo scheletro carbonioso degli aminoacidi. Tali reazioni rappresentano la premessa per:

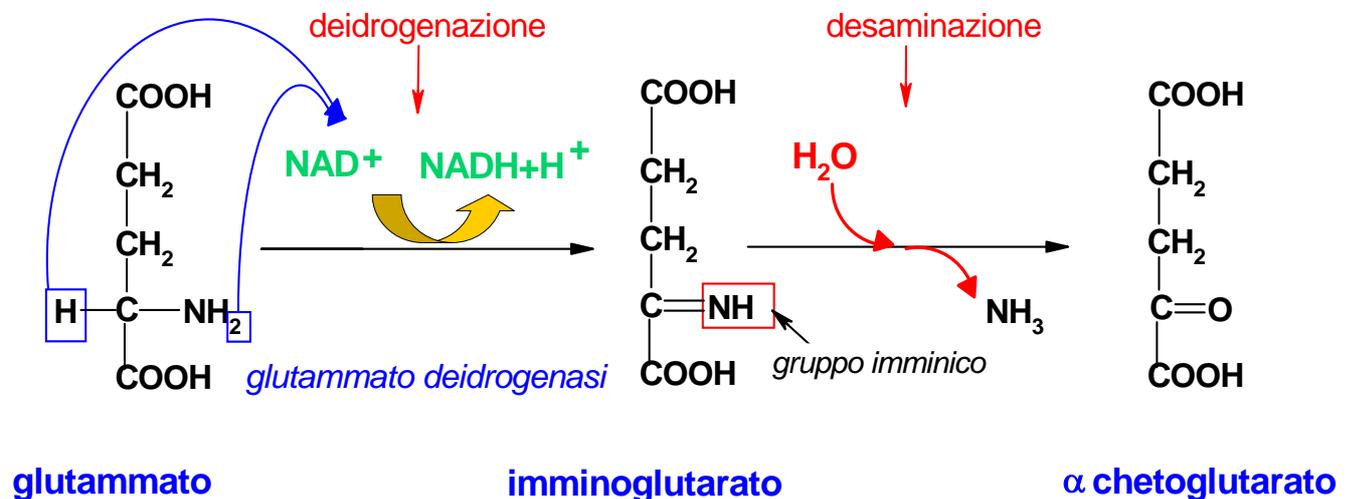
- 1) la gluconeogenesi da aminoacidi;
- 2) il catabolismo ossidativo degli aminoacidi a scopo energetico;
- 3) l'interconversione degli aminoacidi e la biosintesi degli aminoacidi non essenziali;
- 4) il rifornimento di ossalacetato ed altri intermedi del ciclo di Krebs (reazioni anaplerotiche).

Il distacco del gruppo aminico dagli aminoacidi avviene per desaminazione o per transaminazione:

- per **desaminazione** si intende il distacco del gruppo aminico dalla molecola dell'aminoacido;
- per **transaminazione** si intende il trasferimento del gruppo aminico da un aminoacido donatore ad un chetoacido accettore, con formazione di un nuovo aminoacido.

● Desaminazione ossidativa del glutammato

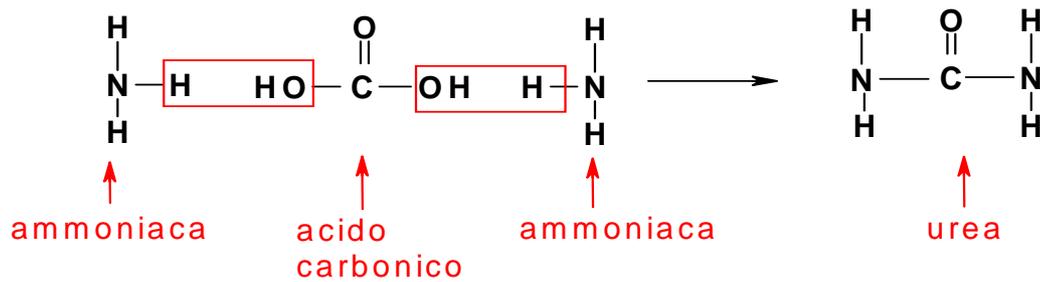
Il gruppo amminico del glutammato può essere convertito in ammoniaca libera in una reazione ossidativa catalizzata dall'enzima *glutammato deidrogenasi*.



È avvenuta una **desaminazione** (perdita del gruppo aminico sotto forma di ammoniaca NH_3) **ossidativa** (deidrogenazione e formazione di NAD ridotto). La reazione ossidativa catalizzata dalla glutammato deidrogenasi precede il distacco idrolitico dell'ammoniaca che avviene spontaneamente. L'enzima è presente esclusivamente nei mitocondri quindi il glutammato viene trasportato all'interno dei mitocondri e attraverso la desaminazione ossidativa viene trasformato in ammoniaca ed α -chetoglutarato.

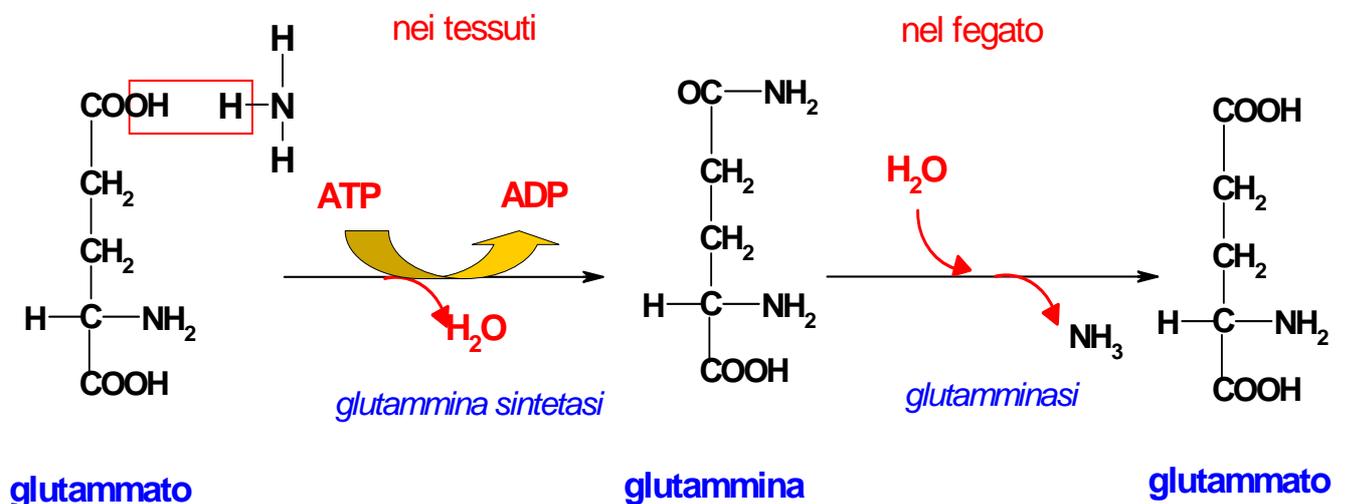
A questo punto, tramite il ciclo di Krebs, l' α -chetoglutarato può essere convertito in ossalacetato e rappresentare un substrato per la gluconeogenesi. Quindi in condizioni di digiuno il glutammato può essere convertito in glucosio. L'ammoniaca ottenuta dalla desaminazione ossidativa del glutammato, avrà come destino, la conversione in urea nel fegato; tale conversione richiede una serie di reazioni (che non esamineremo) che prendono il nome di ciclo dell'urea o ureogenesi. *Il ciclo dell'urea è un processo epatico.*

L'urea è anche chiamata *diammide dell'acido carbonico* infatti si ricava dall'unione di una molecola di acido carbonico con due molecole di ammoniaca.



L'ammoniaca è un composto tossico che deve essere mantenuto a concentrazioni basse. Il ciclo dell'urea consente la conversione dell'ammoniaca in un composto non tossico che può essere eliminato dall'organismo. La sintesi dell'urea è un processo epatico, mentre la sua eliminazione avviene a livello renale con la concentrazione dell'urea nell'urine. L'urea rappresenta il più abbondante prodotto azotato di scarto presente nell'urine e la quantità escreta dipende dal contenuto proteico della dieta.

La desaminazione ossidativa del glutammato può avvenire anche in altri organi, inclusi il muscolo ed il cervello. È necessario che l'ammoniaca sia trasportata dai tessuti periferici fino al fegato in una forma molecolare non tossica. L'ammoniaca può reagire nuovamente con una molecola di glutammato, ma questa volta col carbossile gamma, formando la glutammina.



La glutammina viene rilasciata dal cervello e dal muscolo nel torrente ematico ed è ricaptata dal fegato. Il fegato, attraverso l'enzima *glutaminasi* riconverte la glutammina in **glutammato** + NH_3 , e poi l'ammoniaca in Urea.

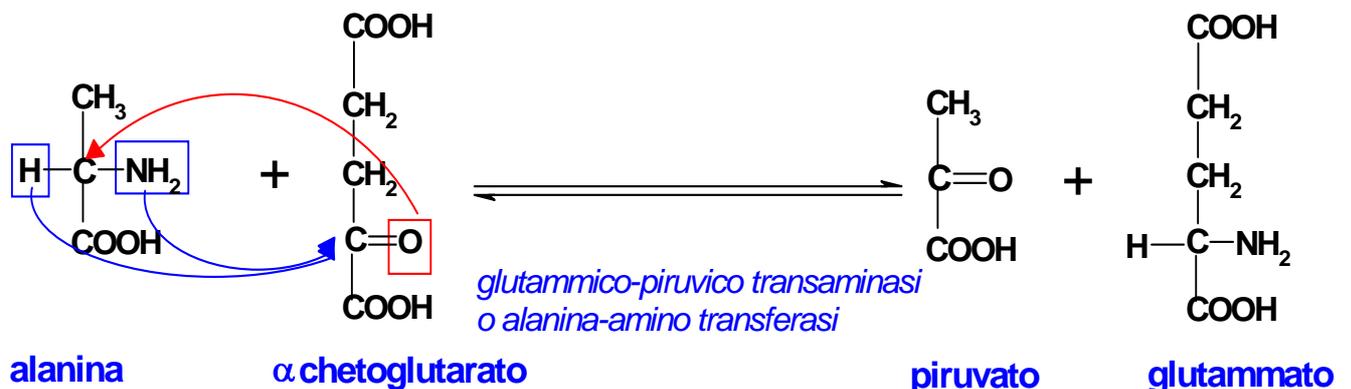
● Transaminazioni

Per transaminazione si intende il trasferimento del gruppo amminico da un amminoacido a un alfa-chetoacido. Gli enzimi che catalizzano tale trasferimento appartengono alla famiglia delle *transaminasi o aminotransferasi*.

Il glutammato è l'unico amminoacido ad andare incontro al meccanismo di desaminazione ossidativa. Esistono reazioni di desaminazione non ossidativa per alcuni amminoacidi (serina, treonina e cisteina) e una forma di desaminazione ossidativa a livello perossisomale. Tuttavia dal punto di vista quantitativo la desaminazione ossidativa del glutammato è la reazione predominante del metabolismo amminoacidico.

Come possiamo allora rimuovere il gruppo amminico dagli altri amminoacidi in modo da utilizzare i loro scheletri carboniosi a scopo bioenergetico o gluconeogenetico?

Un'altra importante serie di reazioni degli amminoacidi sono basate sul trasferimento del gruppo amminico da un amminoacido donatore ad un chetoacido accettore. L'amminoacido (per es. alanina) si converte nel chetoacido corrispondente (piruvato) ed il chetoacido accettore (alfa-chetoglutarato) si converte nell'amminoacido corrispondente (glutammato). Si tratta, quindi, di una reazione con due substrati e due prodotti. Gli enzimi che catalizzano queste reazioni sono chiamati aminotransferasi o transaminasi e la reazione appena descritta sarà catalizzata dall'*alanina aminotransferasi* (nota anche con il vecchio nome di *glutammico-piruvico transaminasi GPT*).

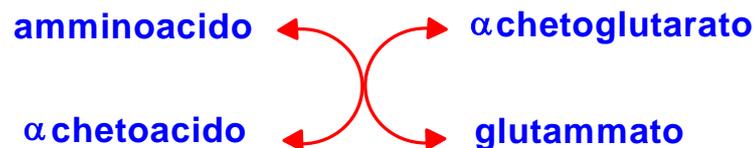


Grazie alla reazione di transaminazione abbiamo convertito l'alanina in piruvato, un composto che può essere degradato a scopo bioenergetico o rappresentare il substrato per la sintesi di glucosio (gluconeogenesi).

Tuttavia, con la stessa reazione di transaminazione, abbiamo convertito una molecola di alfa-chetoglutarato in glutammato. Abbiamo, quindi, sottratto al ciclo di Krebs un importante intermedio metabolico (l'alfa-chetoglutarato). Ciò non rappresenta un problema se teniamo presente che il glutammato può essere

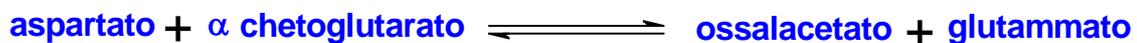
riconvertito in alfa-chetoglutarato mediante la reazione di desaminazione ossidativa che abbiamo esaminato in precedenza. Quindi il processo accoppiato di transaminazione e desaminazione ossidativa (*transdesaminazione*) permette in definitiva di convertire numerosi aminoacidi in chetoacidi ed il loro gruppo amminico in ammoniaca libera.

Questa considerazione ci spiega perché in tutte le reazioni di transaminazione una delle coppie chetoacido-amminoacido è sempre rappresentata da alfa-chetoglutarato-glutammato.



Le reazioni di transaminazioni sono reazioni reversibili che consentono inoltre l'interconversione degli aminoacidi e la biosintesi di aminoacidi non-essenziali a partire da piruvato o da chetoacidi intermedi del ciclo di Krebs.

Un'altra reazione di transaminazione da ricordare è la *aspartato aminotransferasi* (o *glutammico ossalacetico transaminasi GOT*):



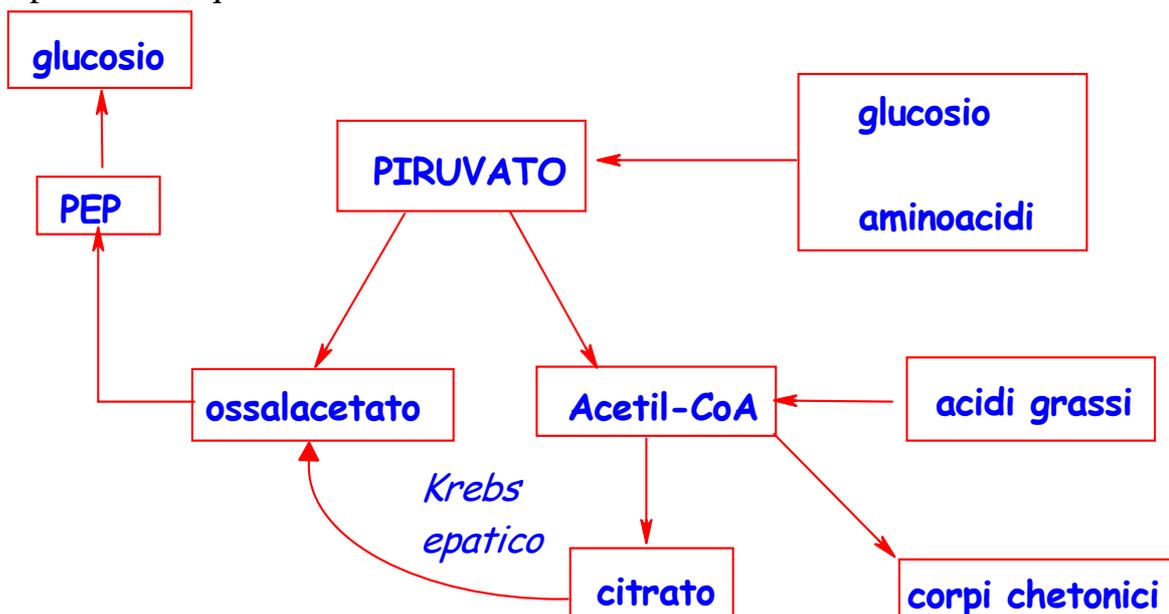
Le transaminasi hanno un'elevata importanza diagnostica in quanto una loro elevata concentrazione nel sangue indica la lesione di un organo; in particolare un'elevata concentrazione di GPT è indice di lesione epatica, mentre un'elevata concentrazione di GOT è indice di lesione al miocardio.

9) Relazione fra gluconeogenesi e ciclo di Krebs negli epatociti

Come abbiamo detto, in condizioni di digiuno, si osserva un attivo processo di gluconeogenesi a livello epatico. Questo processo determina una sottrazione di ossalacetato al ciclo di Krebs. Inoltre, in queste condizioni (digiuno), la produzione di ossalacetato dal piruvato derivante dalla glicolisi sarà ridotta per la minore disponibilità di glucosio. Il risultato sarà un rallentamento del ciclo di Krebs (nota che ciò non avviene nei tessuti dove non ha luogo un'attiva gluconeogenesi).

Nelle stesse condizioni si ha un aumentato flusso di acetil-CoA nel mitocondrio in seguito all'attività della beta-ossidazione degli acidi grassi. Durante il digiuno è, infatti, molto attiva la lipolisi (idrolisi dei trigliceridi depositati nel tessuto adiposo in glicerolo e acidi grassi). Gli acidi grassi vengono veicolati nel sangue legati all'albumina e sono captati a livello di diversi organi (incluso il fegato) per essere utilizzati nel processo della beta-ossidazione. Bisogna notare che il $\text{NADH} + \text{H}^+$ e l'ATP che vengono prodotti durante la beta-ossidazione sostengono dal punto di vista energetico la gluconeogenesi nel fegato. L'eccesso di acetil-CoA proveniente dalla beta-ossidazione, che non può essere utilizzato nel ciclo di Krebs, viene trasformato in corpi chetonici (chetogenesi). I corpi chetonici sintetizzati in sede epatica vengono immessi nella circolazione sanguigna e sono captati da diversi tessuti (principalmente dal tessuto muscolare) dove i corpi chetonici vengono nuovamente trasformati in acetil-CoA che viene poi utilizzato a scopo energetico mediante il ciclo di Krebs. La sintesi dei corpi chetonici è aumentata durante il digiuno, ma è presente anche in condizioni basali: permette il trasferimento di scheletri carboniosi dal fegato ai tessuti extraepatici a scopo energetico. La chetogenesi permette inoltre di liberare il CoA (che è legato all'acetil-CoA) in modo da assicurare la disponibilità di CoA per la beta-ossidazione a livello epatico anche in condizioni di ridotta utilizzazione dell'acetylCoA.

La chetogenesi aumenta anche nel diabete e la chetoacidosi rappresenta una delle complicanze di questa malattia.



10) Aminoacidi essenziali

Nelle sezioni precedenti abbiamo già visto che con le reazioni di desaminazione ossidativa o di transaminazione è possibile sintetizzare alcuni aminoacidi partendo da chetoacidi intermedi del metabolismo. Dato che questi chetoacidi possono derivare dal glucosio è possibile tracciare una via di conversione zuccheri-aminoacidi. Con le reazioni di transaminazione alcuni aminoacidi possono interconvertirsi. In definitiva alcuni aminoacidi possono essere definiti “non essenziali” poiché l’organismo può sintetizzarli in quantità adeguata a soddisfare le esigenze metaboliche. Altri aminoacidi, detti **essenziali**, devono essere assunti con la dieta, non essendo l’organismo in grado di sintetizzarli. Il termine essenziale ha solo significato nutrizionale, si riferisce alla necessità che quel determinato aminoacido sia presente nella dieta in quantità sufficiente e non alla sua importanza nel metabolismo. La presenza equilibrata di tutti gli aminoacidi essenziali determina il **valore biologico** di un alimento.

Lista degli aminoacidi essenziali e semi essenziali (10 aminoacidi):

aminoacidi ramificati: **leucina, isoleucina, valina**

aminoacidi aromatici: **fenilalanina, triptofano**

aminoacidi basici: **lisina (istidina e arginina sono semiessenziali: l’organismo li sintetizza in quantità sufficiente per il fabbisogno proteico di un organismo adulto, ma non di quello in accrescimento)**

Metionina

Treonina

Capitolo VIII

Digestione, assorbimento e trasporto ematico dei lipidi

- 1) *Digestione dei lipidi*
- 2) *Assorbimento degli acidi grassi e dei trigliceridi*
- 3) *Il trasporto dei lipidi*
- 4) *Apporto alimentare, attività fisica e lipoproteine plasmatiche*

1) Digestione dei lipidi

● a) *Tensione superficiale, emulsione, emulsionanti.*

Si chiama *tensione superficiale* quella forza che agisce sulla superficie libera di un liquido e tende a ridurre la dimensione. La tensione superficiale di un liquido esprime quindi l'energia richiesta per far aumentare la sua superficie. Nel caso di due liquidi immiscibili (ad es. acqua ed olio) posti nello stesso recipiente si realizzerà una tensione interfacciale tra i due liquidi: essi si dispongono nel recipiente uno al di sopra dell'altro in base alla loro densità. Se mescoliamo rapidamente il sistema il liquido con maggior tensione superficiale si disperde nell'altro sotto forma di goccioline (la sfera è quel solido che a parità di volume ha la minor superficie). Le goccioline tenderanno a riunirsi (poiché due goccioline hanno una superficie maggiore di una unica goccia avente come volume la somma delle due goccioline e la tensione superficiale tende a ridurre la superficie interfacciale) finché i due liquidi saranno di nuovo separati in due fasi distinte. Per ottenere una emulsione stabile (*emulsione*: dispersione di un liquido in gocce minutissime in un altro nel quale non è miscibile) è necessario aggiungere alla sospensione qualcosa che diminuisca la tensione superficiale. Si chiamano *emulsionanti o tensioattivi* quelle sostanze chimiche che provocano una diminuzione della tensione superficiale.

● b) *Emulsionanti naturali*

I lipidi, per definizione, sono sostanze poco solubili in acqua. Alcune componenti importanti dei lipidi alimentari (trigliceridi, colesterolo esterificato) sono composti altamente idrofobici e, pertanto, tendono a separarsi dalla fase acquosa formando una fase distinta. E' necessario che i lipidi alimentari raggiungano il tratto intestinale sotto forma di emulsione, cioè di goccioline lipidiche disperse nella fase acquosa. Gli enzimi che devono operare la digestione dei lipidi alimentari sono proteine che devono operare all'interfaccia lipidi-acqua: affinché possano agire nella maniera più efficiente è necessario ridurre le dimensioni delle goccioline lipidiche, in modo da aumentare la superficie lipidica esposta alla fase acquosa (il rapporto

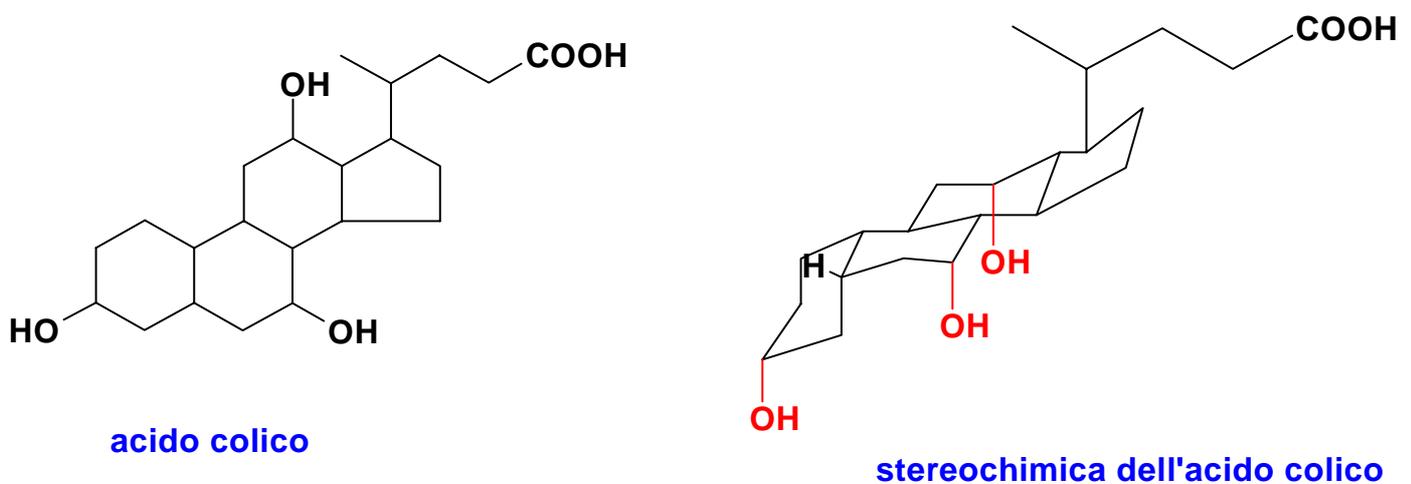
superficie/volume di una sfera aumenta con il diminuire del raggio). In altre parole bisogna ridurre la tensione interfacciale lipidi-acqua e, a questo scopo, sono presenti degli emulsionanti o detergenti fisiologici, quali i fosfolipidi, i lisofosfolipidi e i monoacilgliceroli (o monogliceridi). Si tratta di sostanze anfifiliche o anfipatiche, che possiedono una porzione idrofobica che interagisce con la fase lipidica e una porzione idrofila che interagisce con la fase acquosa.

E' interessante notare che i monogliceridi e i lisofosfolipidi sono i prodotti di digestione dei trigliceridi e dei fosfolipidi (vedi più avanti enzimi della digestione lipidica). Quindi la stessa digestione enzimatica dei lipidi contribuisce a stabilizzare l'emulsione aumentando la concentrazione di sostanze anfifiliche tensioattive come i monogliceridi.

Un'altra importante classe di detergenti biologici, che merita una analisi a parte, è rappresentata dai sali biliari.

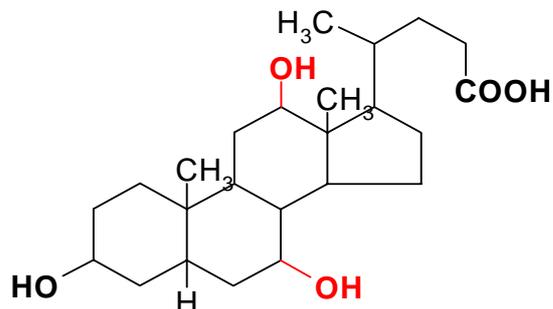
I sali biliari sono prodotti di trasformazione metabolica del colesterolo.

La regione idrofoba delle molecole degli acidi biliari è costituita da una delle due superfici del sistema di anelli chiusi mentre sono idrofile le zone contenenti gli ioni carbossilato o solfonato e i gruppi ossidrilici presenti sull'altra superficie del sistema di anelli.

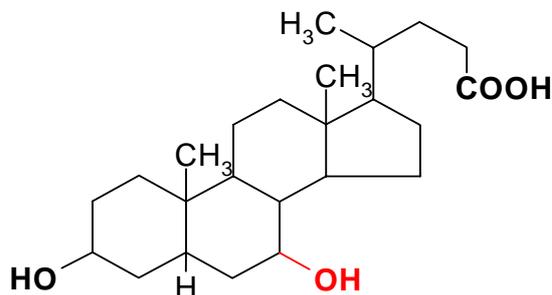


L'acido colico e chenodeossicolico si formano nel fegato direttamente a partire dal colesterolo e sono detti pertanto *primari*; gli acidi deossicolico e litocolico si formano invece nell'intestino per trasformazione dei primari e sono detti pertanto *secondari*.

acidi biliari primari

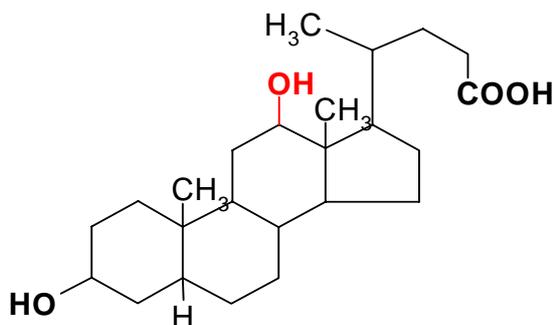


acido colico

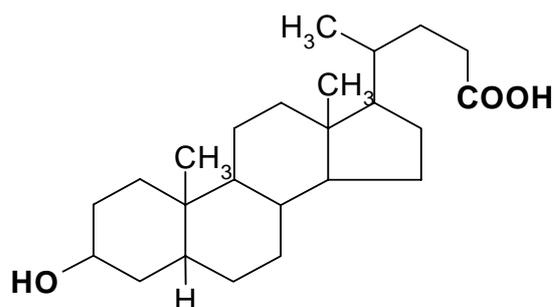


acido chenodeossicolico

acidi biliari secondari

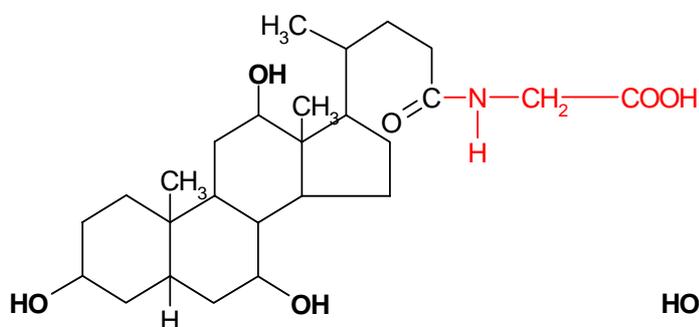


acido deossicolico

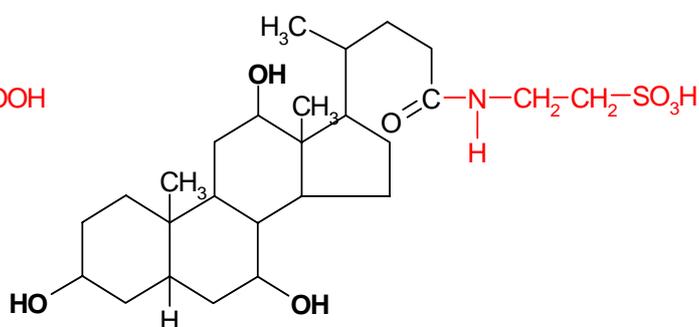


acido litocolico

Gi acidi biliari sono presenti nella bile in forma coniugata ovvero con il loro gruppo carbossilico legato al gruppo amminico (legame carboamidico) della glicina (acidi glicocolici) o della taurina (acidi taurocolici).

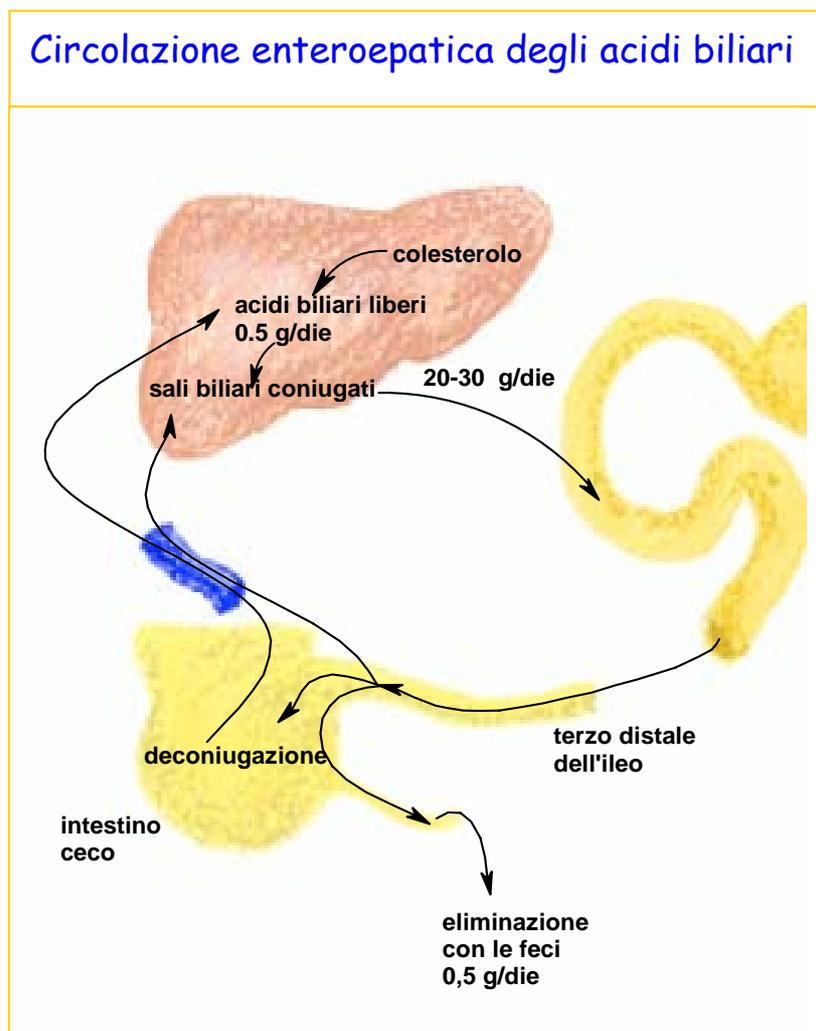


acido glicocolico
(ac. colico + glicina)

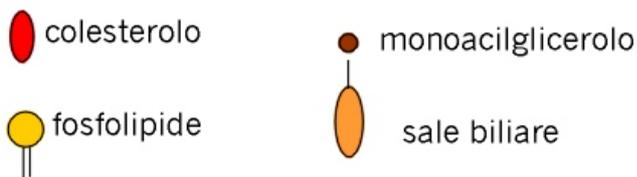
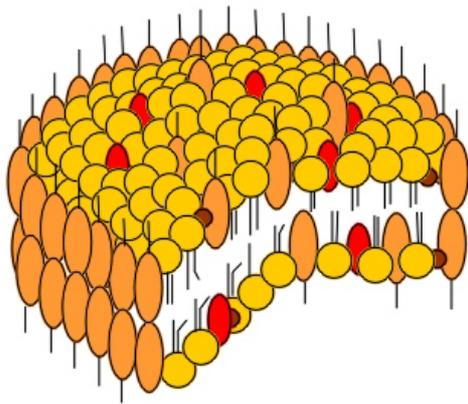


acido taurocolico
(ac. colico + taurina)

Un concetto importante nel metabolismo dei sali biliari è quello del circolo enteroepatico dei sali biliari. Dopo aver svolto (vedi più avanti) la loro funzione intestinale i sali biliari vengono riassorbiti a livello del terzo distale dell'ileo. Passano nella vena porta e sono ricaptati dal fegato da dove vengono nuovamente escreti con la bile. Si ha così un pool di sali biliari (3-5g) che ricircola tra fegato ed intestino circa 7-10 volte al giorno in corrispondenza delle fasi post-prandiali, svolgendo ad ogni passaggio la propria funzione nella digestione dei lipidi. Solo una piccola quota non viene riassorbita a livello del terzo distale dell'ileo e viene eliminata con le feci (0,5g /die). Si realizza in definitiva un risparmio nella sintesi di acidi biliari; infatti il fegato deve provvedere a sostituire giornalmente solo il mezzo grammo perso con le feci mediante la sintesi ex novo di sali biliari a partire da colesterolo. Durante il passaggio a livello intestinale gli acidi biliari primari (colico e chenodeossicolico) subiscono l'azione di enzimi batterici che rimuovono l'ossidrilile in posizione 7 (*7-deidrossilasi*), trasformandosi in acidi biliari secondari (deossicolico e litocolico).



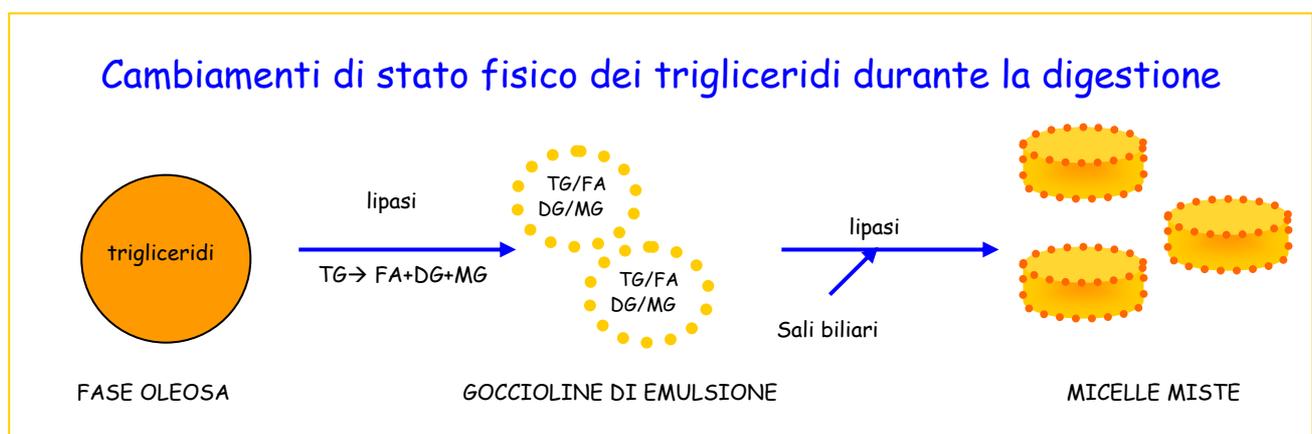
I sali biliari formano reversibilmente degli aggregati detti *micelle*. La concentrazione minima richiesta perché le micelle possano formarsi viene detta concentrazione micellare critica. Le molecole degli acidi biliari nelle micelle sono in equilibrio con quelle libere in soluzione. Così le micelle, al contrario delle goccioline lipidiche in emulsione, sono strutture all'equilibrio con dimensioni ben definite e minori di quelle delle goccioline che costituiscono un' emulsione. Le dimensioni delle micelle variano tipicamente da 40 a 600 nm, a seconda della concentrazione dell'acido biliare e del rapporto acidi biliari/lipidi.



Le micelle degli acidi biliari possono solubilizzare altri lipidi come i fosfolipidi e gli acidi grassi formando *micelle miste con forma discoidale* in cui i fosfolipidi e gli acidi grassi formano un doppio strato mentre le molecole degli acidi biliari occupano le posizioni nei margini rendendoli idrofili.

Le micelle degli acidi biliari possono solubilizzare altri lipidi come i fosfolipidi e gli acidi grassi formando *micelle miste con forma discoidale* in cui i fosfolipidi e gli acidi grassi formano un doppio strato mentre le molecole degli acidi biliari occupano le posizioni nei margini rendendoli idrofili.

All'interno delle micelle miste possono trovar posto e quindi venire solubilizzati altri lipidi insolubili in acqua come il colesterolo. Durante la digestione dei trigliceridi, le molecole di acidi grassi liberi e monogliceridi, debolmente idrosolubili al contrario delle molecole di trigliceridi, vengono rilasciate alla superficie delle goccioline lipidiche in emulsione dove si equilibrano con le stesse molecole ivi presenti e con quelle libere in soluzione che, a loro volta, vengono incorporate nelle micelle degli acidi biliari. Quindi i prodotti dell'idrolisi dei trigliceridi vengono trasferiti in continuazione dalle goccioline in emulsione alle micelle.

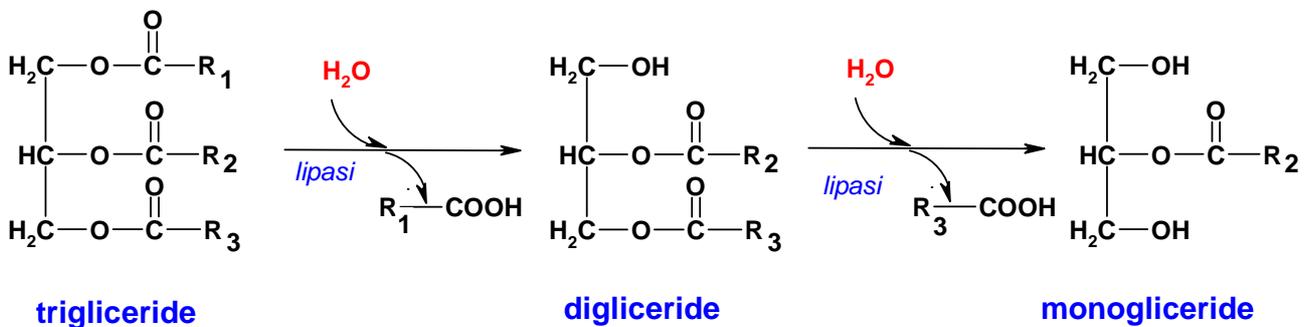


● **c) Enzimi della digestione lipidica**

Gli enzimi responsabili della digestione lipidica intestinale sono le *idrolasi pancreatiche*, prodotte dal pancreas esocrino e riversate nel duodeno tramite il dotto di Wirsung. Esse comprendono la *lipasi pancreatica*, la *colesterol esterasi* e la *fosfolipasi A₂*.

La *lipasi pancreatica*, secreta in una forma inattiva (prolipasi), viene attivata da un cofattore proteico di origine pancreatica (la colipasi). La *colipasi* è una piccola proteina (12 kDa) che si lega sia all'interfaccia acqua-lipidi sia alla lipasi provvedendo ad ancorare e ad attivare l'enzima. La colipasi viene secreta dal pancreas sotto forma di procolipasi e viene pienamente attivata ad opera della tripsina, che catalizza la rimozione di un decapeptide dalla sua estremità ammino-terminale.

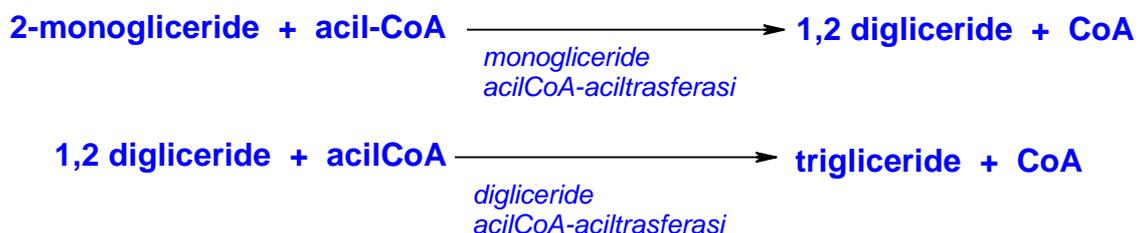
La lipasi pancreatica idrolizza i legami esterei 1 e 3 dei trigliceridi formando acidi grassi e 2 monogliceridi



L'enzima *colesterol esterasi pancreatica* scinde il legame estereo tra il colesterolo e gli acidi grassi mentre l'enzima *fosfolipasi A₂* distacca idroliticamente dai fosfolipidi l'acido grasso in posizione 2 formando lisofosfolipidi.

2) Assorbimento degli acidi grassi e dei monogliceridi

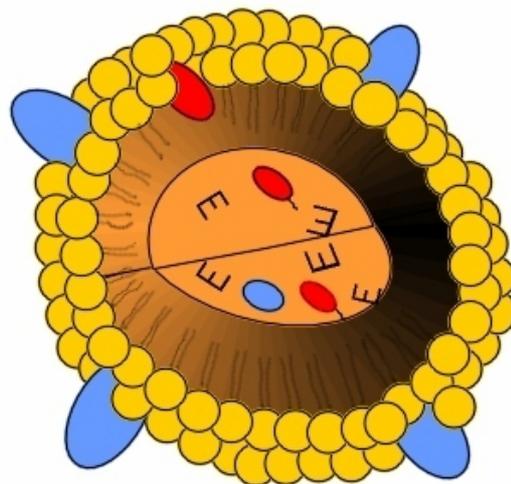
Gli acidi grassi e i monogliceridi provenienti dalla digestione dei lipidi assunti con l'alimentazione vengono assorbiti per diffusione dalle cellule intestinali del digiuno. A livello del reticolo endoplasmico gli acidi grassi vengono attivati in acil-CoA e successivamente esterificati con i monogliceridi per formare trigliceridi.



Il processo di sintesi dei trigliceridi nel lume delle cellule intestinali avviene rapidamente e ciò consente un ulteriore assorbimento di acidi grassi e monogliceridi. Il meccanismo di risintesi dei lipidi all'interno delle cellule intestinali permette di ottenere molecole con una costituzione differente rispetto a quelle assunte con l'alimentazione.

Trigliceridi a lunga catena (> 10 C) e fosfolipidi neosintetizzati, insieme al colesterolo libero e esterificato formano nella cellula intestinale degli aggregati micellari nelle quali i fosfolipidi e il colesterolo libero, insieme a proteine idrofiliche sintetizzate a livello delle stesse cellule intestinali, formano un involucro esterno che racchiude i componenti fortemente idrofobici (trigliceridi e colesterolo esterificato) al suo interno, formando i *chilomicroni*.

Struttura dei chilomicroni

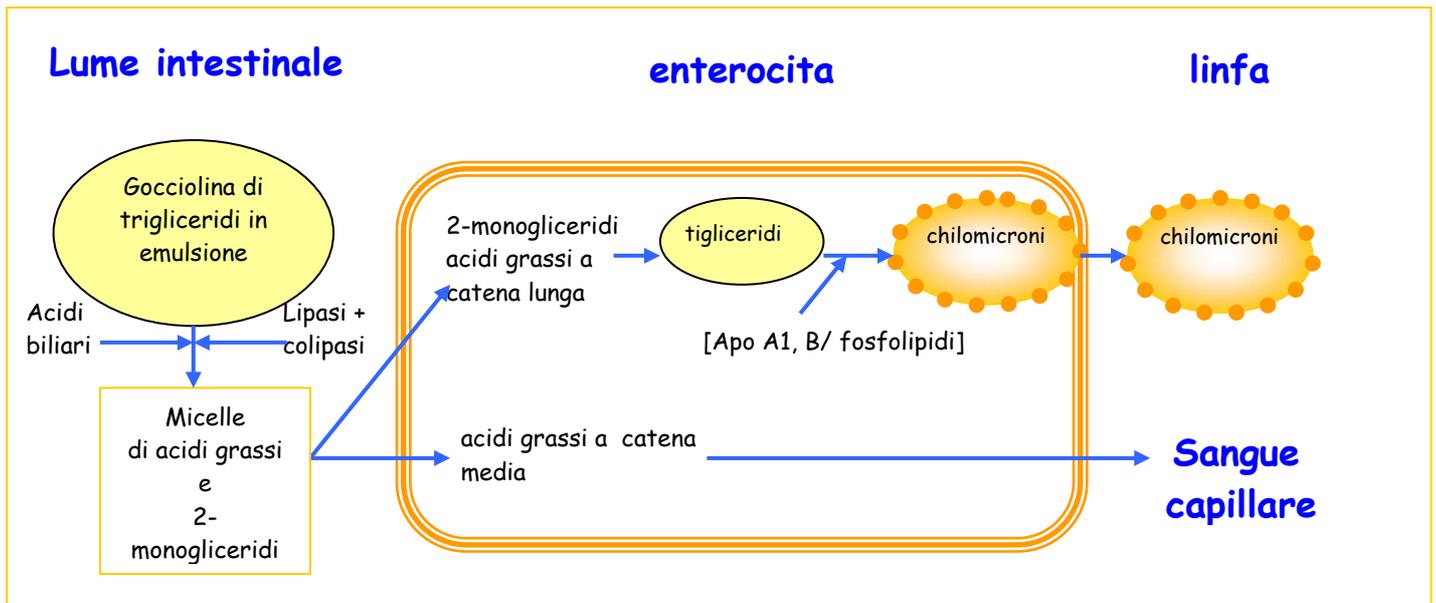


-  trigliceridi
-  proteine
-  fosfolipidi
-  colesterolo libero
-  colesterolo esterificato

Nelle cellule intestinali si formano anche aggregati con una percentuale proteica maggiore (10%), le lipoproteine a bassissima densità (VLDL).

Chilomicroni e VLDL vengono quindi riversati nei vasi linfatici e, tramite il dotto toracico, raggiungono il circolo generale a livello della vena succlavia.

I trigliceridi a media catena (8-10 C) vengono assorbiti dalle cellule intestinali e quindi idrolizzati. Gli acidi grassi che si formano non vengono esterificati in nuovi trigliceridi ma vengono riversati direttamente nei vasi sanguigni e trasportati legati all'albumina direttamente al fegato.



3) Il trasporto dei lipidi

I chilomicroni provenienti dalla digestione degli alimenti lipidici non rappresentano le uniche forme di aggregati lipoproteici (lipoproteine) presenti nel plasma. Infatti sono presenti altri aggregati lipoproteici, le **lipoproteine plasmatiche**.

L'organizzazione strutturale delle lipoproteine è analoga a quella dei chilomicroni ma presentano una composizione chimica differente.

È possibile suddividere le lipoproteine plasmatiche in quattro distinte categorie, in base alla loro densità relativa al mezzo di sospensione:

- Le **Very Low Density Lipoproteins (VLDL)**, lipoproteine a bassissima densità;
- Le **Intermediate Density Lipoproteins (IDL)**, lipoproteine a densità intermedia;
- Le **Low Density Lipoproteins (LDL)**, lipoproteine a bassa densità
- Le **High Density Lipoproteins (HDL)**, lipoproteine ad elevata densità

I chilomicroni sono presenti nel plasma solo dopo l'assunzione di un pasto lipidico.

Nella tabella seguente è possibile osservare la diversa costituzione delle lipoproteine plasmatiche:

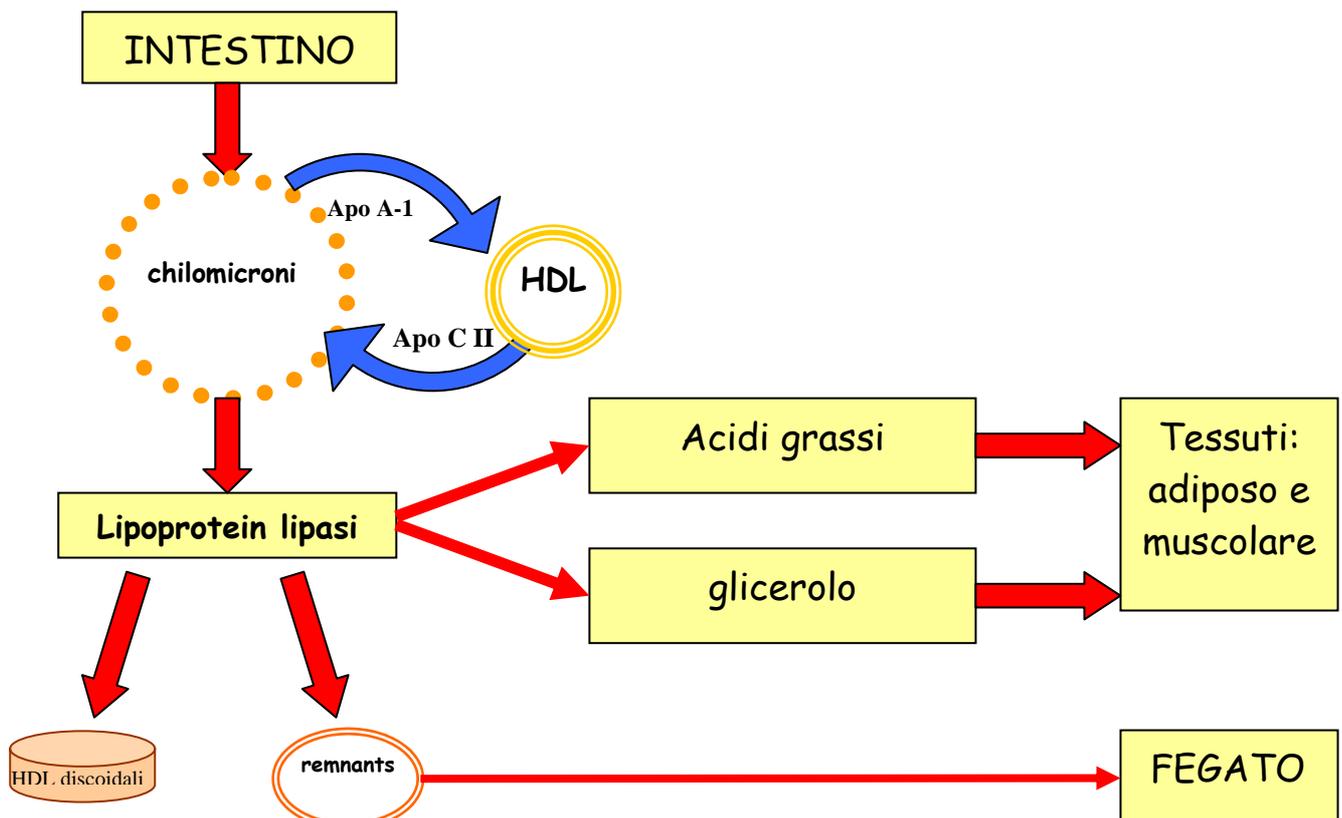
lipoproteine	Densità G/ml	Diametro Å	Trigliceridi %	Fosfolipidi %	Colesterolo %	proteine %
Chilomicroni	0,90/ 0,95		89	4	6	1
VLDL	0,95/1,006		60	15	15	10
IDL	1,006/1,019		20	20	40	20
LDL	1,019/1,063	95/130	10	20	50	20
HDL	1,063/1,210	230/280	5	25	20	50

Le proteine idrofile che rientrano nella costituzione delle lipoproteine plasmatiche sono chiamate *apoproteine, apolipoproteine* o semplicemente *apo*.

Esse non sono soltanto costituenti fondamentali delle lipoproteine plasmatiche, ma sono anche cofattori di enzimi responsabili del loro metabolismo e interagiscono con appositi recettori per le lipoproteine presenti nelle membrane di alcune cellule, rendendone possibile il riconoscimento.

I lipidi sono legati alla apoproteine mediante legami non covalenti: ciò consente lo scambio dei costituenti lipidici e proteici sia tra le stesse lipoproteine sia tra lipoproteine e membrane cellulari.

In particolare i chilomicroni scambiano con le HDL l'apo A-1 (attivatore dell'enzima LCAT- *lecitina colesterol-acil trasferasi*) ricevendo in cambio la Apo C-II (attivatore dell'enzima *lipoprotein lipasi*). L'acquisizione da parte dei chilomicroni della Apo CII consente di poter interagire con la lipoprotein lipasi presente nell'endotelio dei piccoli vasi. La *lipoprotein lipasi* è l'enzima responsabile dell'idrolisi dei trigliceridi trasportati dai chilomicroni, è presente in particolare abbondanza nel tessuto adiposo, muscolare scheletrico e cardiaco e nella ghiandola mammaria. Essa è una glicoproteina sintetizzata dalle cellule parenchimali dei tessuti dai quali migra per ancorarsi alle ramificazioni glucidiche delle glicoproteine della superficie luminale dell'endotelio dei capillari, una posizione ideale per poter interagire con le lipoproteine plasmatiche. Le lipoprotein lipasi del tessuto adiposo e del tessuto muscolare scheletrico sono responsabili dell'idrolisi della maggior parte dei trigliceridi circolanti. La loro attività è regolata in modo tale che in condizione di ridotto apporto energetico sia più funzionale l'enzima presente nei muscoli mentre in condizioni di elevato apporto energetico è più attivo l'enzima del tessuto adiposo.

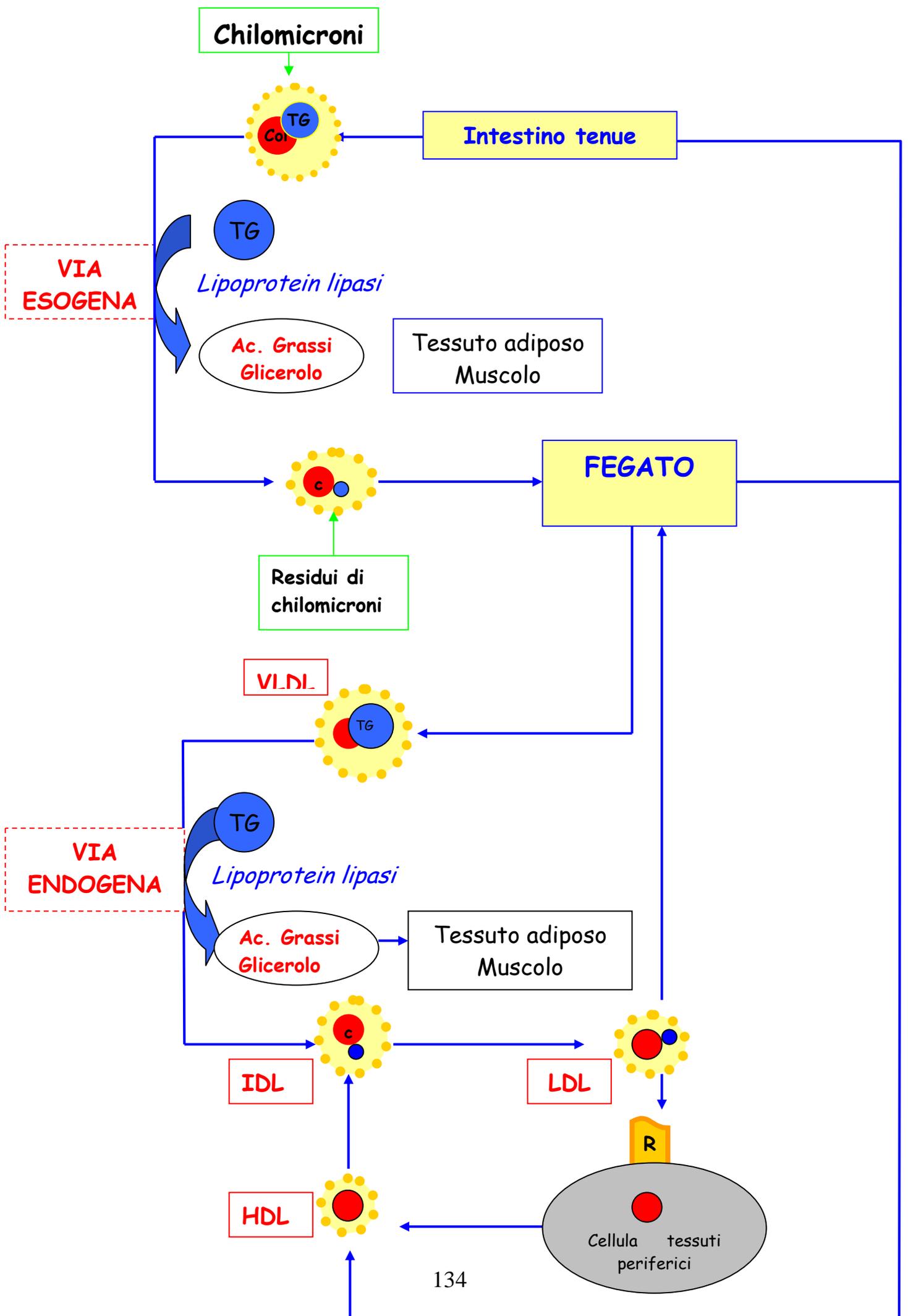


I trigliceridi presenti nei chilomicroni venendo quindi idrolizzati dalle lipoprotein lipasi, rilasciano acidi grassi e glicerolo nei tessuti. I chilomicroni, in seguito alla perdita dei trigliceridi si raggrinzano. I residui dei chilomicroni (*remnants*) vengono trasportati al fegato dove le esterasi lisosomiali degli epatociti idrolizzano gli esteri del colesterolo in colesterolo libero e acidi grassi mentre i componenti di superficie vengono utilizzati per la formazione delle HDL

Nel fegato avviene la sintesi delle lipoproteine a bassissima densità VLDL a partire soprattutto dagli acidi grassi provenienti dalla lipogenesi.

Raggiunto il circolo sanguigno le VLDL acquisiscono l'Apo C-II dalle HDL e così come avviene per i chilomicroni, anche le VLDL hanno in tal modo la possibilità di attivare le lipoprotein lipasi. Le VLDL interagiscono in prevalenza con le lipoprotein lipasi del tessuto adiposo che quindi assume gli acidi grassi provenienti dall'idrolisi dei trigliceridi in esse contenuti.

In condizioni di elevato apporto energetico i lipidi provenienti dalla lipogenesi (conversione zuccheri-grassi) vengono trasferiti dal fegato prevalentemente al tessuto adiposo dove vengono immagazzinati negli adipociti.



Le VLDL private dei trigliceridi cedono alle HDL i componenti di superficie (fosfolipidi, colesterolo libero e Apo C ed E) prendendo in cambio colesterolo esterificato. In seguito a tali trasformazioni metaboliche le VLDL diventano prima IDL e quindi LDL, le lipoproteine plasmatiche adibite al trasporto del colesterolo esterificato ai tessuti. Le cellule che maggiormente richiedono l'approvvigionamento di colesterolo esterificato sono quelle della corteccia surrenale e del fegato che l'utilizzano rispettivamente per sintetizzare ormoni steroidei e sali biliari. Tuttavia, tutte le cellule del nostro organismo necessitano di colesterolo come componente strutturale delle membrane plasmatiche. Bisogna ricordare che le cellule possono anche sintetizzare colesterolo ex novo a partire da acetil-CoA.

Le LDL vengono internalizzate dalle cellule alle quali trasportano il colesterolo per **endocitosi mediata dal recettore**. Il recettore per le LDL è una glicoproteina di membrana che non si presenta uniformemente distribuito ma è concentrato in corrispondenza di invaginazioni della membrana cellulare, le 'fossette rivestite', dette così in quanto rivestite sul versante intracellulare da una proteina fibrosa polimerizzata a forma di canestro, la *clatrina*. I recettori inseriti nelle fossette rivestite riconoscono le LDL formando il complesso recettore-LDL che viene internalizzato per endocitosi all'interno di una vescicola rivestita. Dentro la cellula le vescicole perdono il loro rivestimento di clatrina (vescicole nude) e le LDL si dissociano dai recettori. I recettori liberi (contenuti in speciali strutture vescicolari) ritornano quindi nuovamente alla membrana, disponibili per interagire con altre LDL. Le vescicole contenenti i componenti dell'LDL si fondono con i lisosomi dove le *colesterol esterasi* lisosomiali idrolizzano il colesterolo esterificato in colesterolo libero e acidi grassi, le *lipasi* idrolizzano i trigliceridi in acidi grassi e glicerolo e le *proteasi* attaccano le lipoproteine rendendo disponibili gli aminoacidi che le costituiscono. L'aumentata disponibilità di colesterolo esogeno inibisce la produzione endogena dello stesso e blocca l'espressione dei recettori per le LDL. Il colesterolo in eccesso viene rimosso dai tessuti per mezzo delle HDL e viene trasportato al fegato.

Le HDL sono sintetizzate nel fegato e nell'intestino in forma nascente.

Queste hanno una forma discoidale e i fosfolipidi sono disposti in doppio strato. Le componenti molecolari prevalenti nelle HDL sono il colesterolo libero e i fosfolipidi mentre le apoproteine variano a seconda dal tessuto da cui si originano.

Il colesterolo libero viene esterificato dall'enzima *LCAT (lecitina colesterolo acil trasferasi)* e assumono una forma sferoidale. Il colesterolo esterificato viene quindi trasferito alle VLDL e così le HDL sferoidali possono ancora assumere colesterolo libero dai tessuti e dalle stesse VLDL.

L'enzima LCAT trasferisce l'acido grasso dalla posizione 2 delle lecitine (fosfolipidi formati da glicerolo esterificato in 1 e 2 con due molecole di acidi grassi e in 3 con acido fosforico e colina) al colesterolo secondo la seguente reazione:



La LCAT è sintetizzata dagli epatociti e viene rilasciata in circolo dove si associa alle HDL. Le HDL contengono anche gli attivatori delle LCAT, le Apo A-1. La funzione della LCAT si compie proprio a livello delle HDL dove trasforma il colesterolo libero in colesterolo esterificato che viene così trasferito alle VLDL e alle LDL e può essere quindi ceduto al fegato e alla corteccia surrenale.

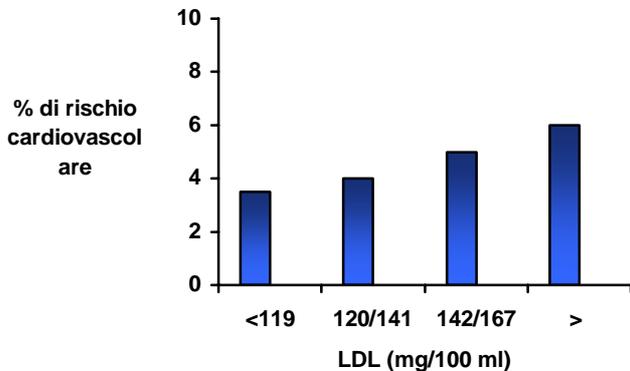
Le HDL svolgono quindi un ruolo decisivo nella rimozione del colesterolo libero dai tessuti, si ritiene infatti che un'elevata concentrazione ematica di HDL sia preventiva nei confronti dell'arteriosclerosi, ipotesi avvalorata dal fatto che le donne che presentano maggiori livelli ematici di HDL, associati ad una minore quantità relativa di VLDL e ad una più elevata attività della lipoprotein lipasi, mostrano un minor rischio statistico di contrarre patologie ostruttive a carico dei vasi rispetto agli uomini.

Mentre le LDL sono coinvolte nella formazione dei depositi di grasso a livello dell'intima delle arterie, le lipoproteine HDL facilitano il processo inverso e favoriscono la rimozione del colesterolo dai tessuti periferici e quindi anche dalle arterie.

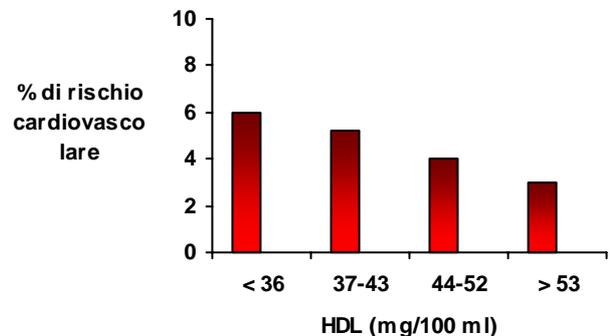
La formazione di placche aterosclerotiche avviene in seguito ad un danno alle cellule endoteliali che tappezzano le arterie. Attraverso l'endotelio danneggiato passano le LDL e le piastrine che giungono così al sottostante strato di cellule muscolari lisce. In risposta al fattore di crescita rilasciato dalle piastrine (**Platelet Derived Growth Factor -PDGF**) le cellule della muscolatura liscia dei vasi si moltiplicano e migrano nell'endotelio sovrastante. Nella zona accorrono i monociti che vengono attivati in macrofagi; questi ingeriscono e degradano le LDL diventando cellule schiumose. Anche le cellule della muscolatura liscia, ingerendo e degradando le LDL, diventano cellule schiumose. Se il livello di LDL nel sangue è elevato, il colesterolo che deriva dalla lipoproteina si accumula sia all'interno di queste cellule sia tra di esse. Il colesterolo accumulato, le cellule schiumose e i loro frammenti formano una placca, un ateroma, che con il tempo può ingrandirsi e restringere il lume dei vasi, provocando una trombosi.

Elevati livelli di HDL si correlano ad un basso rischio mentre elevati livelli di LDL sono correlati ad un elevato rischio cardiovascolare. È utile a scopo preventivo analizzare il rapporto tra colesterolo totale e colesterolo contenuto nella frazione HDL: un rapporto superiore a 4,5 indica un elevato rischio, mentre è da considerarsi ottimale un rapporto inferiore a 3,5.

Rischio cardiovascolare correlato all'aumento della concentrazione ematica di LDL (mg/100ml di plasma)



Rischio cardiovascolare correlato alla diminuzione della concentrazione ematica di HDL (mg/100ml di plasma)



4) Apporto alimentare, attività fisica e lipoproteine plasmatiche

Per meccanismi ancora non del tutto chiariti, sembra che l'attività aerobica di endurance faccia aumentare le concentrazioni plasmatiche di HDL e diminuire quelle di LDL. Il livello di HDL di solito è relativamente elevato negli atleti di resistenza ed aumenta anche in soggetti sedentari di entrambe i sessi e di tutte le età che si sottopongono ad un programma di allenamento di tipo aerobico di intensità medio-elevata. La correzione può derivare da una maggiore rimozione dei trigliceridi plasmatici ossidati nel corso dell'attività fisica. Tuttavia è possibile riscontrare all'interno di un gruppo di riferimento di atleti di resistenza differenze dei livelli plasmatici delle HDL, in quanto è possibile trovare soggetti allenati con livelli di HDL paragonabili a quelli dei soggetti sedentari e tali valori non sembrano attribuibili ad altri fattori quali il regime alimentare, la composizione corporea o il livello di allenamento. Ciò fa supporre che alla base della regolazione della concentrazione dei lipidi plasmatici ci sia una ancora non identificata componente genetica.

Un programma di allenamento mirato al potenziamento muscolare non modifica la concentrazione serica del colesterolo, dei trigliceridi e delle lipoproteine plasmatiche.

Capitolo IX

Catabolismo Lipidico: β -Ossidazione degli acidi grassi e lipolisi

- 1) *Gli acidi grassi*
- 2) *Attivazione degli acidi grassi*
- 3) *Il sistema della carnitina ed il trasporto mitocondriale degli acil-CoA*
- 4) *Le reazioni della β -ossidazione degli acidi grassi*
- 5) *Bilancio energetico della beta-ossidazione dell'acido palmitico*
- 6) *Catabolismo dei trigliceridi nel tessuto adiposo: la lipolisi*

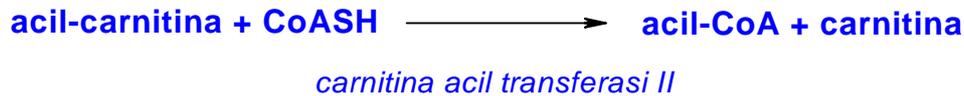
1) **Gli acidi grassi**

Gli acidi grassi vengono rappresentati con la formula R-COOH, dove R è un gruppo alchilico. Gli acidi grassi possono essere suddivisi in classi a seconda della lunghezza della catena di atomi di carbonio che può essere: corta (da 2 a 4 atomi di carbonio), media (da 6 a 10 atomi di carbonio) e lunga (da 12 a 26 e oltre atomi di carbonio). La gran parte degli acidi grassi presenti nelle cellule umane è del tipo a lunga catena. Quasi tutti gli acidi grassi presenti in natura contengono un numero pari di atomi di carbonio. Gli acidi grassi che non contengono doppi legami vengono detti saturi. Quelli che posseggono un solo doppio legame si dicono *acidi grassi monoinsaturi* e quelli con due o più doppi legami si dicono *acidi grassi poliinsaturi*. La degradazione ossidativa degli acidi grassi ha sede mitocondriale e prende il nome di beta-ossidazione

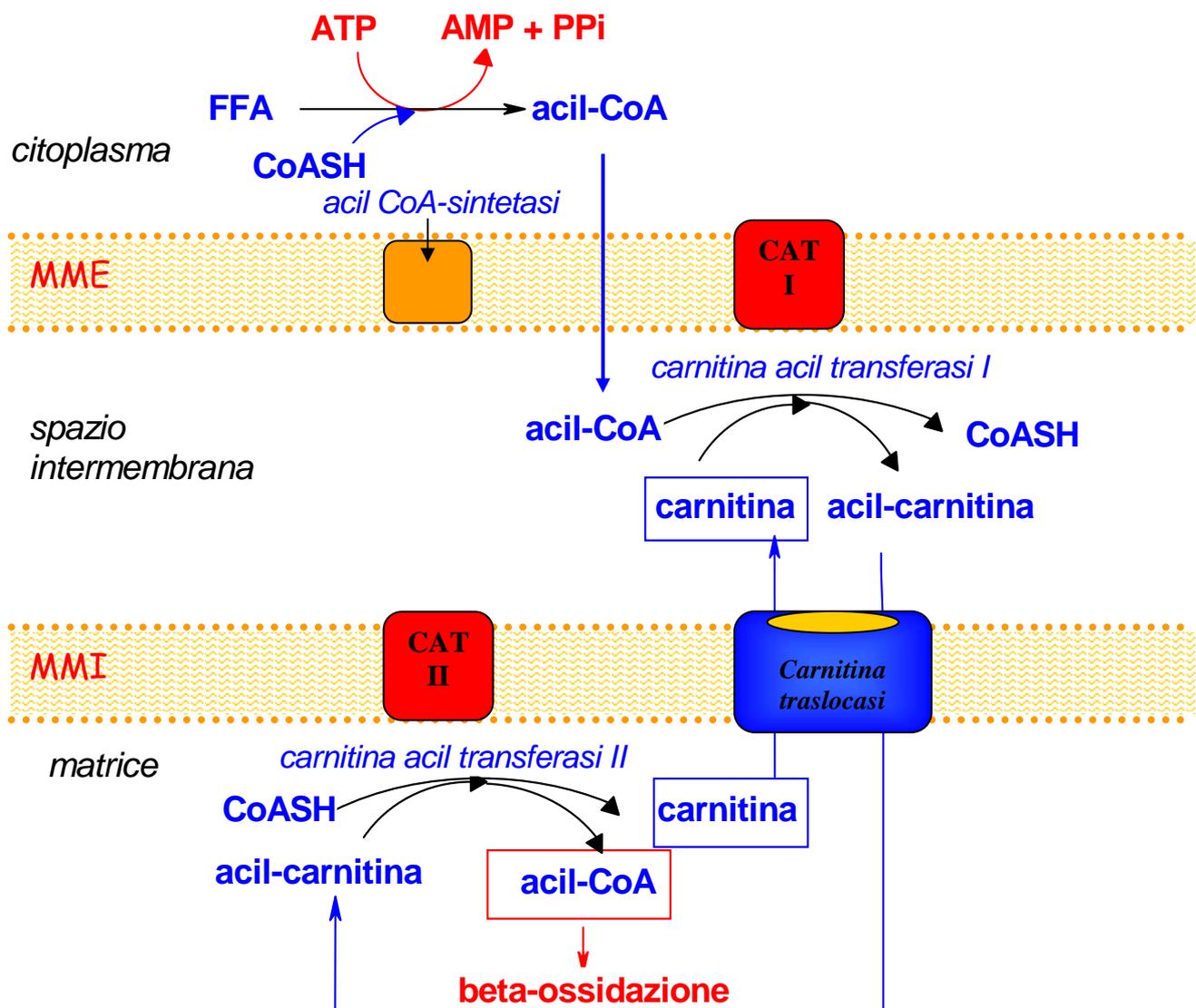
2) **Attivazione degli acidi grassi**

I substrati per la beta-ossidazione sono gli acidi grassi attivati, cioè condensati mediante legame tioestereo con il Coenzima A (CoA). Gli acidi grassi a catena lunga (>10C) vengono attivati nel citosol.

L'acil-carnitina può dunque attraversare la membrana interna mitocondriale grazie ad una proteina di membrana, la *traslocasi dell'acil-carnitina*. All'interno della matrice mitocondriale l'acil-carnitina reagisce con una seconda molecola di coenzima-A proveniente dal pool mitocondriale e si forma, con l'intervento dell'enzima *carnitina acil transferasi II*, l'acil-CoA che procede nella beta-ossidazione.



La carnitina libera può quindi uscire dalla matrice mitocondriale grazie alla stessa proteina di membrana. La traslocasi dell'acil-carnitina infatti scambia una molecola di acil carnitina che entra nei mitocondri con una molecola di carnitina che ne esce. Questo tipo di trasporto è definito cotrasporto ed antiporto; antiporto in quanto la sostanza cotrasportata viene veicolata in direzione opposta dallo stesso carrier.



Gli acidi grassi a catena corta e media penetrano nel mitocondrio per libera diffusione e vengono attivati direttamente in sede mitocondriale.

Una deficienza di carnitina o di uno degli enzimi adibiti al suo trasporto nei mitocondri causa un'inibizione del trasporto degli acidi a lunga catena che rimangono nel citoplasma dove vengono esterificati a trigliceridi. In soggetti con rare malattie metaboliche la carnitina viene dispersa nelle urine e non arriva mai nei muscoli: essendo gli acidi grassi i substrati energetici preferenziali del muscolo scheletrico e cardiaco questa carenza causa una miopatia.

4) Le reazioni della β -ossidazione degli acidi grassi

Le molecole di acil-CoA giunte nella matrice mitocondriale vanno incontro al processo catabolico della beta-ossidazione: attraverso tale via le molecole dell'acido grasso vengono accorciate di due molecole di carbonio per volta dando come prodotti delle unità di acetil-CoA. Se l'acido grasso è saturo e contiene un numero pari di atomi di carbonio la serie di reazioni sarà la seguente: una **deidrogenazione**, un'**idratazione**, un'altra **deidrogenazione** ed infine una **tiolisi** (vedi figura).

Nel corso della prima reazione, catalizzata dall'enzima *acil-CoA-deidrogenasi*, vengono rimossi dall'acil-CoA due atomi di idrogeno e il FAD funge da accettore.

Si forma l'**enoi-CoA** (doppio legame tra il carbonio beta ed alfa).

Nel corso della seconda reazione, catalizzata dall'enzima *enoi-CoA idratasi*, viene aggiunta una molecola di acqua e si ha l'eliminazione del doppio legame tra i due atomi di carbonio. Il composto ottenuto è il **β idrossi acil-CoA**.

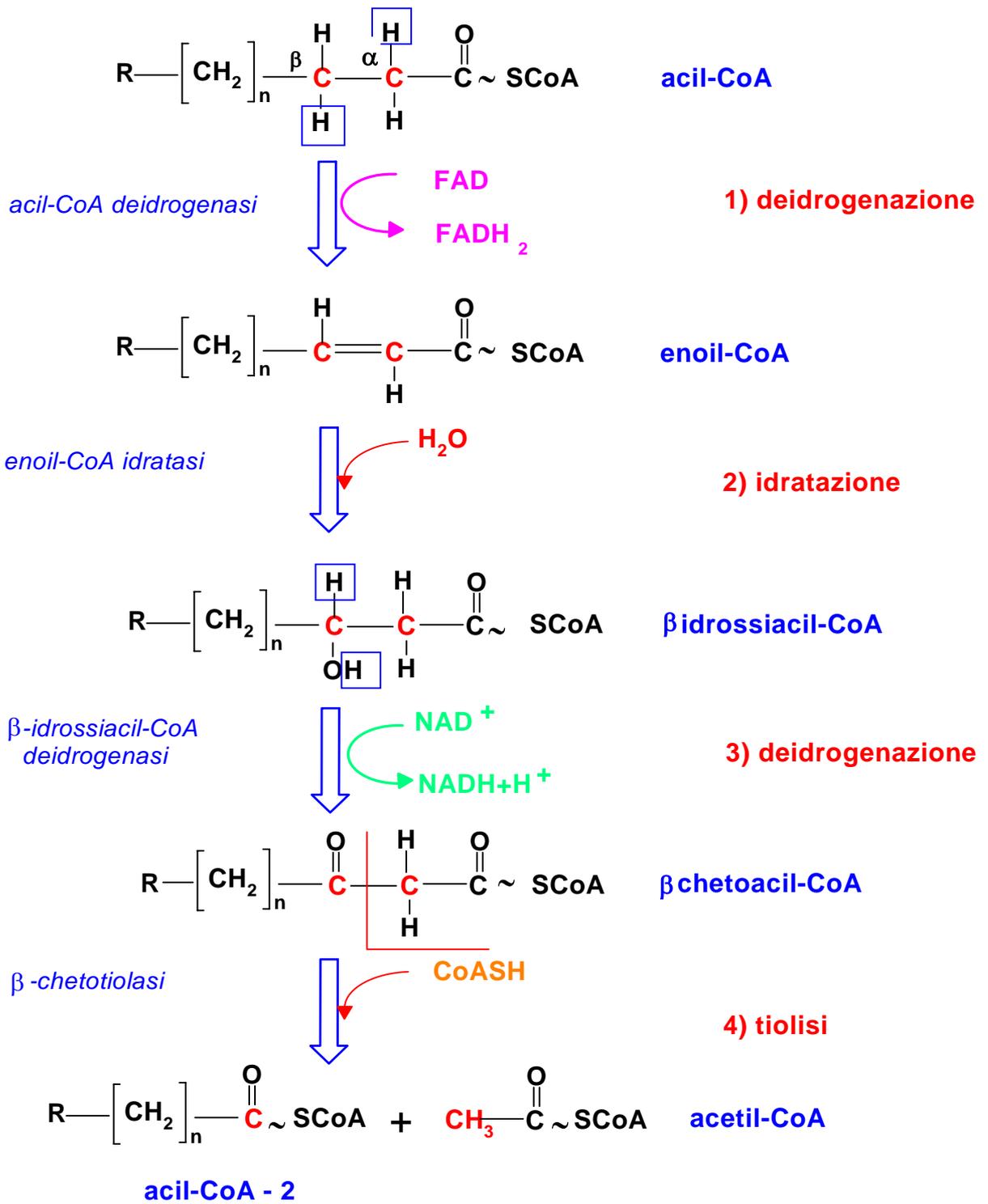
Nella terza reazione avviene una seconda deidrogenazione, catalizzata dall'enzima *β -idrossi acil-CoA deidrogenasi*, in cui l'accettore è il NAD^+ .

Il composto derivato da questa reazione è il **β -chetoacil-CoA** che, per azione dell'enzima *β -chetotiasi* e per introduzione di una nuova molecola di CoA, nel corso della quarta reazione verrà scisso in due molecole: una di acil-CoA (con due atomi di carbonio in meno) e una di acetil-CoA. La reazione è una tiolisi e l'enzima catalizzatore è una *tiolasi*.

I prodotti della reazione tiolitica sono, quindi,

- una molecola di acetil-CoA ;
- una di acil-CoA che però possiede 2 atomi di carbonio in meno rispetto all'acido grasso di partenza.

L'acil-CoA, accorciato di 2 atomi di carbonio, può rappresentare il substrato per un nuovo ciclo di 4 reazioni che accorciano ulteriormente la catena dell'acido grasso. La ripetizione ciclica delle 4 reazioni riesce, quindi, a convertire un acido grasso a catena lunga in una serie di frammenti bicarboniosi di acetil-CoA. Poiché ogni ripetizione delle 4 reazioni fornisce un prodotto con 2 atomi di carbonio in meno il processo è stato chiamato "*spirale della beta-ossidazione*".



Le 4 reazioni (deidrogenazione, idratazione, deidrogenazione, tiolisi) vengono ripetute in sequenza fino a quando la catena di atomi di carbonio non diventa troppo corta (2 o 3 atomi di carbonio) per un'ulteriore beta-ossidazione. Nel caso più comune di un acido grasso a numero pari di atomi di carbonio l'ultima reazione di tiolisi produce due molecole di acetil-CoA.

Con un numero dispari di atomi di carbonio vengono prodotti acetil-CoA (2 atomi di carbonio) e propionil-CoA (3 atomi di carbonio). Il propionil-CoA può essere convertito in succinil-CoA, un intermedio del ciclo di Krebs. Come abbiamo già visto nel capitolo sulla gluconeogenesi, il propionil-CoA è l'unica porzione della catena di un acido grasso a numero dispari di atomi di carbonio che può rappresentare un substrato della gluconeogenesi. Tuttavia gli acidi grassi dispari sono insignificanti dal punto di vista quantitativo.

Le due deidrogenazioni (una FAD dipendente ed una NAD dipendente) producono una molecola di FAD ridotto ed una di NAD ridotto per ogni giro della spirale.

5) Bilancio energetico della beta-ossidazione dell'acido palmitico

Come esempio esaminiamo il caso della beta-ossidazione *dell'acido palmitico (acido grasso saturo a 16 atomi di carbonio)*. Saranno necessarie *7 ripetizioni* della spirale della beta-ossidazione per trasformare il palmitil-CoA in *8 molecole di acetil-CoA*.

In ogni ripetizione della spirale si formano una molecola di NAD ridotto (che fornirà 3 ATP nella fosforilazione ossidativa) ed una di FAD ridotto (2 ATP nella fosforilazione ossidativa). Quindi si ottengono 5 ATP per giro della spirale. Inoltre ricordiamo che da una molecola di acetil-CoA si ottengono 12 ATP grazie al Ciclo di Krebs e alla fosforilazione ossidativa. Dobbiamo anche tenere presente che nella fase di attivazione dell'acido palmitico a palmitil-CoA (vedi sezione 2: attivazione degli acidi grassi) si utilizzano 2 legami ad alta energia dell'ATP (equivalenti all'idrolisi di due molecole di ATP ad ADP)

Bilancio energetico della beta-ossidazione dell'acido palmitico		
7 ripetizioni di beta ossidazione	7 FADH ₂ (x 2 ATP) 7 NADH+H ⁺ (x 3 ATP)	+35 ATP
8 Acetil-CoA	8 x 12 ATP (Krebs)	+96 ATP
attivazione acido palmitico		-2 ATP
TOTALE		129 ATP

Quindi l'ossidazione completa di una mole di acido palmitico a CO₂ ed acqua (ricordiamo che l'acetil-CoA che si forma nella beta-ossidazione viene trasformato in CO₂ ed acqua nel ciclo di Krebs e nella catena respiratoria) fornisce 129 moli di ATP.

6) Catabolismo dei trigliceridi nel tessuto adiposo: la lipolisi

I trigliceridi accumulati all'interno degli adipociti vengono costantemente mobilizzati e ridepositati grazie al processo di idrolisi (*lipolisi*) e di sintesi (*lipogenesi*). L'adipocita, la cellula costituente il tessuto adiposo, contiene tutti gli organelli presenti nelle cellule eucariotiche ma il 95-99% del volume citoplasmatico è occupato dai trigliceridi.

Il numero degli adipociti costituenti il tessuto adiposo è determinato dall'alimentazione assunta durante lo sviluppo: una ipernutrizione durante l'infanzia causa un aumento del numero degli adipociti; dopo la pubertà il numero degli adipociti si stabilizza ma non diminuisce. Ciò significa che un maggior numero di adipociti consente un maggior accumulo totale di trigliceridi e questo è un fattore predisponente all'obesità nonché a disturbi cardiovascolari. Si distingue un'obesità iperplastica, caratterizzata da un elevato numero di adipociti ed un'obesità ipertrofica caratterizzata da un elevato contenuto di trigliceridi negli adipociti (è possibile avere un'obesità sia iperplastica che ipertrofica).

I trigliceridi vengono mobilizzati dal tessuto adiposo grazie all'idrolisi in acidi grassi e glicerolo. Tale reazione è catalizzata dall'enzima *lipasi adipolitica o lipasi ormone sensibile (hormone-sensitive lipase: HSL)* la cui attività è stimolata da adrenalina, noradrenalina, glucagone, ormoni tiroidei.

Adrenalina, noradrenalina, glucagone interagiscono con appositi recettori di membrana attivando la via di trasduzione del segnale cAMP-dipendente. L'interazione del ligando con l'apposito recettore di membrana attiva l'adenilato ciclasi che a sua volta converte l'ATP in AMP ciclico. Il cAMP attiva la protein chinasi A (PKA) che a sua volta catalizza la fosforilazione ATP-dipendente dell'HSL (vedi schema).

L'insulina ha un effetto inibitorio sulla lipolisi: riduce l'attività della HSL attraverso l'attivazione di fosfatasi che defosforilano l'enzima.

La lipasi adipolitica è attiva su numerosi substrati lipidici; quando agisce sui trigliceridi mostra una marcata preferenza per i legami esterei 1 e 3, mentre una distinta monogliceride lipasi agisce sul legame in posizione 2, provvedendo così alla completa idrolisi dei trigliceridi.

Gli acidi grassi ottenuti lasciano l'adipocita e vengono trasportati ai tessuti che li utilizzano dal circolo sanguigno legati all'albumina; il glicerolo viene trasportato al fegato dove viene fosforilato in glicerolo-3-fosfato dall'enzima glicerolo chinasi.

Recentemente è stata identificata una nuova proteina associata alle goccioline lipidiche, la **perilipina**, che sembra svolgere un ruolo chiave nel mediare l'associazione dell'enzima HSL con il suo substrato nell'adipocita, *in vivo*. Questa proteina idrofobica è stata identificata tra le più abbondanti fosfoproteine degli adipociti, il cui stato di fosforilazione aumenta drasticamente a seguito della stimolazione da parte di ormoni lipolitici, effetto antagonizzato dall'insulina. La perilipina è stata trovata associata alle goccioline lipidiche negli adipociti. Attualmente si ritiene che la perilipina, quando non è fosforilata, formi una sorta di barriera che impedisce l'accesso dell'HSL al substrato; in risposta allo stimolo lipolitico, viene

fosforilata e in questo stato consente l'accesso delle HSL ai trigliceridi. In condizioni basali il ruolo della perilipina sembra essere quindi quello di inibire la lipolisi e di favorire quindi l'accumulo di lipidi nell'adipocita.

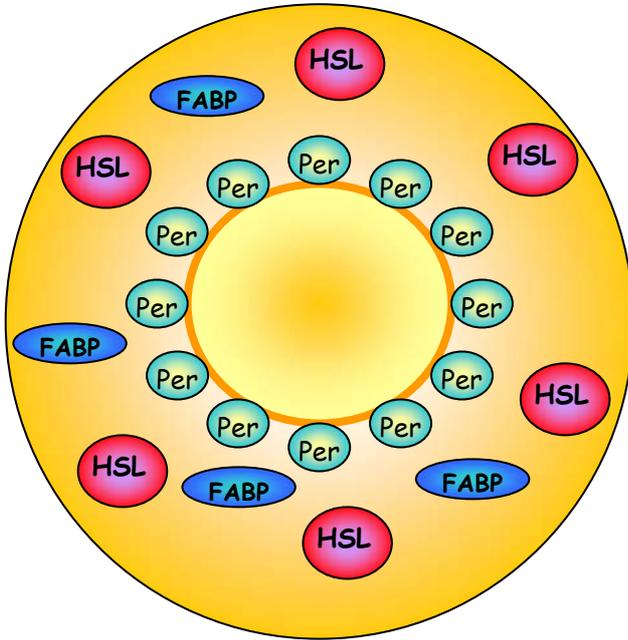
Un' interessante dimostrazione dell'importanza della perilipina nella regolazione della lipolisi ha origine da due studi condotti sui topi knock-out per la perilipina. Lo studio dimostra chiaramente che i topi che non esprimevano la perilipina erano in buone condizioni di salute, più magri e con una maggiore massa muscolare rispetto ai topi wild-type. L'HSL era costitutivamente attiva a giudicare dagli elevati livelli di lipolisi in condizioni basali e il topo era in grado di tollerare diete ad alto contenuto lipidico.

In condizioni basali, la HSL è una proteina citosolica: in seguito a stimolazione lipolitica degli adipociti si assiste ad una rapida redistribuzione delle HSL che si dispongono sulla superficie delle goccioline lipidiche. La perilipina, in condizioni basali, è invece associata alle goccioline lipidiche e in seguito a stimolazione lipolitica viene rapidamente fosforilata e dissocia dalla superficie delle goccioline consentendo l'accesso delle HSL ai trigliceridi. Non è ancora esattamente nota la modalità attraverso la quale si verifica tale spostamento. Nell'illustrazione seguente è stato schematizzato l'ipotetico meccanismo di interazione tra HSL e perilipina in seguito ad attivazione della PKA. È inoltre evidenziato il ruolo della proteina FABP (*Fatty Acid Binding Protein*) la quale lega gli acidi grassi (FA) provenienti dall'idrolisi dei trigliceridi, prevenendone l'accumulo e la conseguente inibizione da prodotto finale dell'enzima HSL.

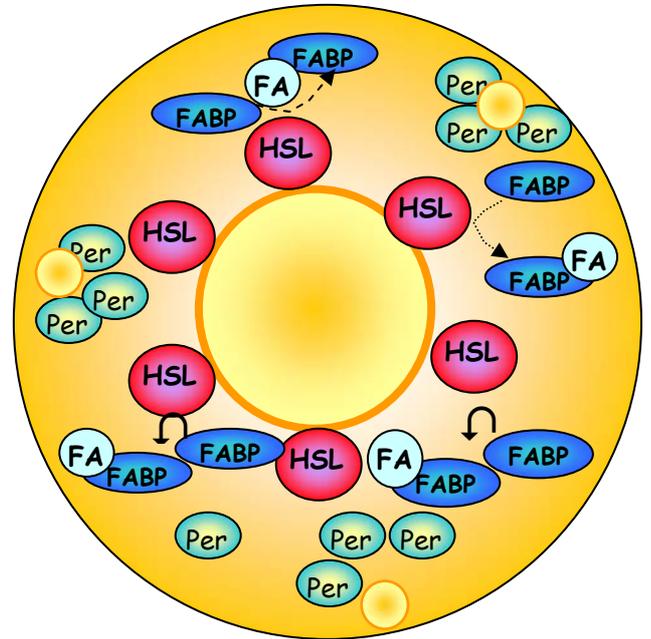
Sono stati identificati recentemente degli specifici domini nella perilipina che sono responsabili dell'inibizione basale della lipolisi e della sua attivazione in seguito a stimolazione.

Riassumendo, l'attivazione della HSL via fosforilazione, si traduce *in vivo* con un aumento dell'attività catalitica dell'enzima e con un migliore accesso al suo substrato lipidico per mezzo della sua traslocazione dal citosol alla superficie delle goccioline lipidiche. Altre proteine sembrano coinvolte in tale fenomeno a loro volta regolate da fattori ormonali e nervosi, come ad esempio, la perilipina. Questi effetti possono essere esercitati sia cronicamente, attraverso l'alterazione dei livelli di espressione della proteina, sia acutamente, attraverso la sua fosforilazione, possibilmente attraverso il coinvolgimento di altre protein chinasi o fosfatasi che non agiscono direttamente sulle HSL. Un esempio è l'attività lipolitica esercitata dal Tumor Necrosis Factor α (TNF- α) che esercita i suoi effetti attraverso un decremento dei livelli intracellulari di perilipina, azione che può essere corretta *in vitro* attraverso un *over expression* della proteina utilizzando tecniche di trasfezione con adenovirus ricombinanti.

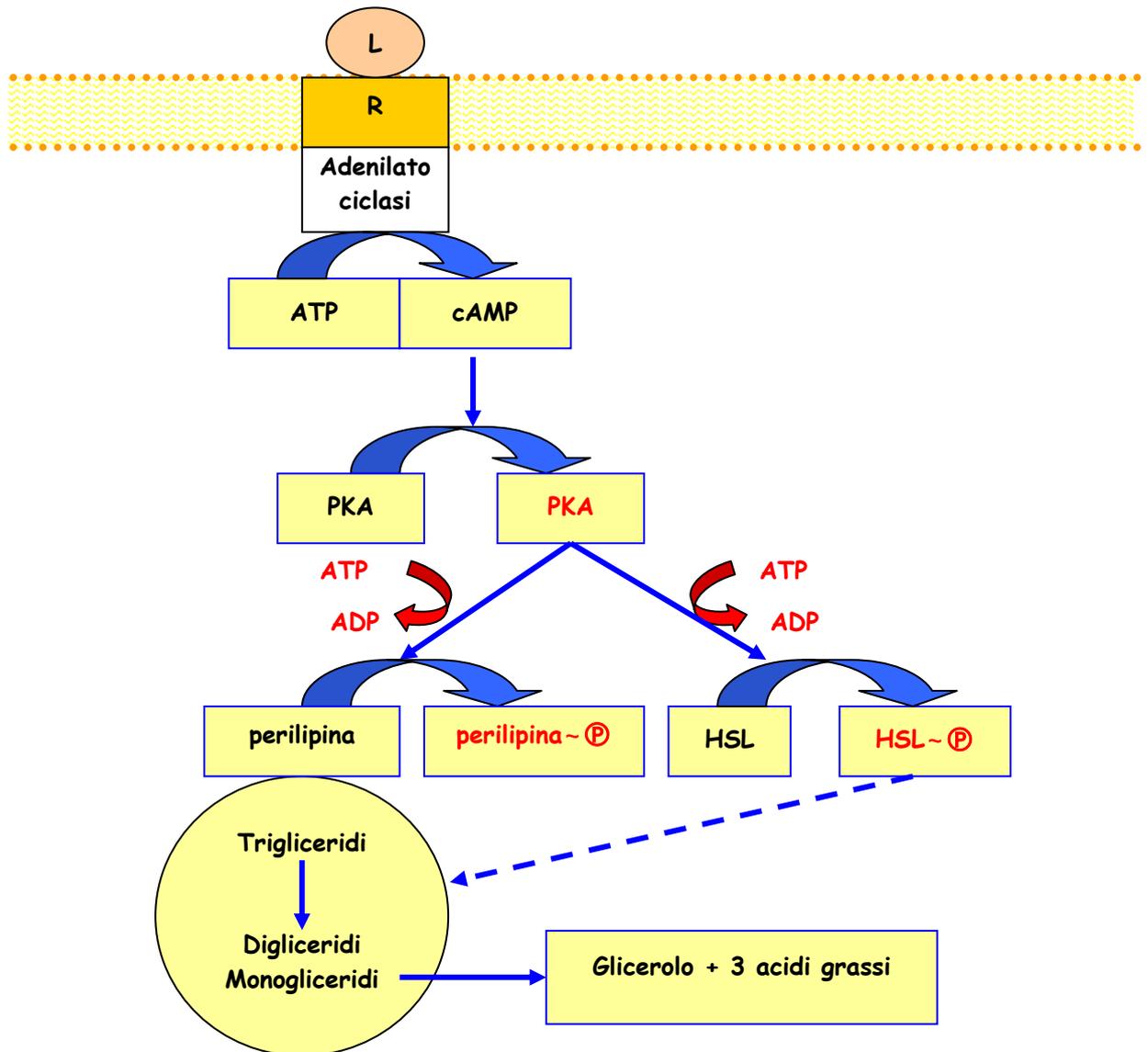
Condizioni basali



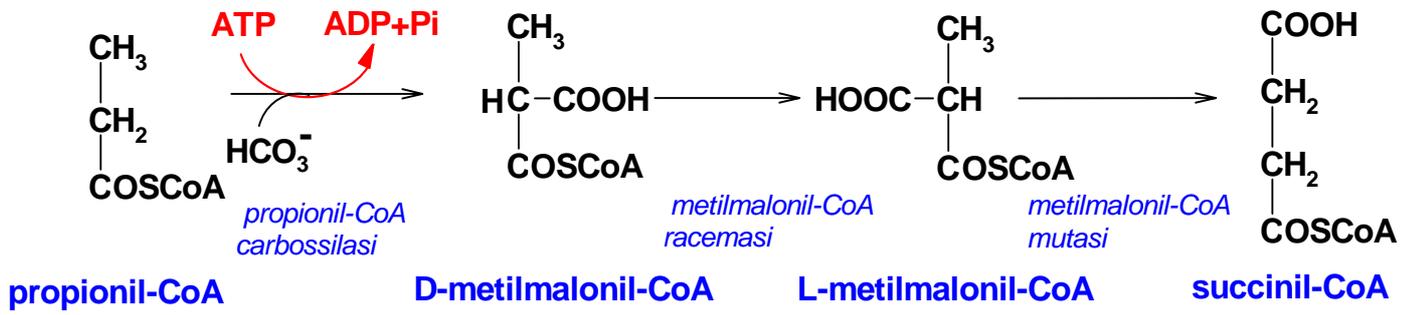
Stimolazione lipolitica



Regolazione della lipolisi nel tessuto adiposo



Beta-ossidazione degli acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio.



Capitolo X

Sintesi dei Grassi (lipogenesi)

- 1) *Sintesi degli acidi grassi*
 - 2) *Allungamento della catena dell'acido grasso*
 - 3) *Desaturazione degli acidi grassi*
 - 4) *Acidi grassi essenziali*
 - 5) *Biosintesi dei trigliceridi*
 - 6) *Funzione di riserva energetica dei trigliceridi*
 - 7) *Distribuzione del grasso corporeo: grasso essenziale e grasso di deposito*
- Scheda di approfondimento: Biosintesi degli acidi grassi*

1) Sintesi degli acidi grassi.

Tutti i tessuti dell'organismo animale sono in grado di sintetizzare acidi grassi a partire da Acetil-CoA ma nessun tessuto è capace di trasformare acetil-CoA in glucosio (la gluconeogenesi da acidi grassi non avviene negli animali ma nei vegetali). In particolare negli animali i tessuti che sono maggiormente specializzati in tale via metabolica sono il tessuto adiposo, il fegato, l'intestino e la ghiandola mammaria funzionante.

Qualsiasi molecola capace di trasformarsi quindi in acetil-CoA è un potenziale precursore degli acidi grassi. Nell'uomo tuttavia il maggiore substrato a partire dal quale avviene la lipogenesi sono i glucidi. Tale trasformazione è particolarmente abbondante nel momento in cui i glucidi, introdotti con l'alimentazione, non possono essere depositati nelle riserve di glicogeno, in quanto queste hanno già raggiunto le loro massime dimensioni (si ricorda che tra muscoli e fegato l'organismo umano non può accumulare più di 400-500 gr di glicogeno)

La lipogenesi non percorre a ritroso le tappe della beta-ossidazione ma avviene grazie ad una serie di reazioni differenti.

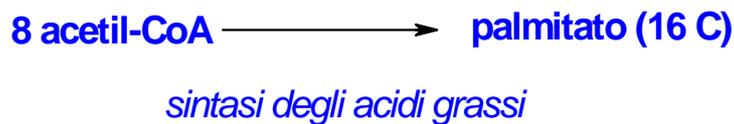
Analizzeremo per grandi linee la biosintesi del palmitato.

Si rimanda alla scheda di approfondimento e ai testi di biochimica per ulteriori dettagli.

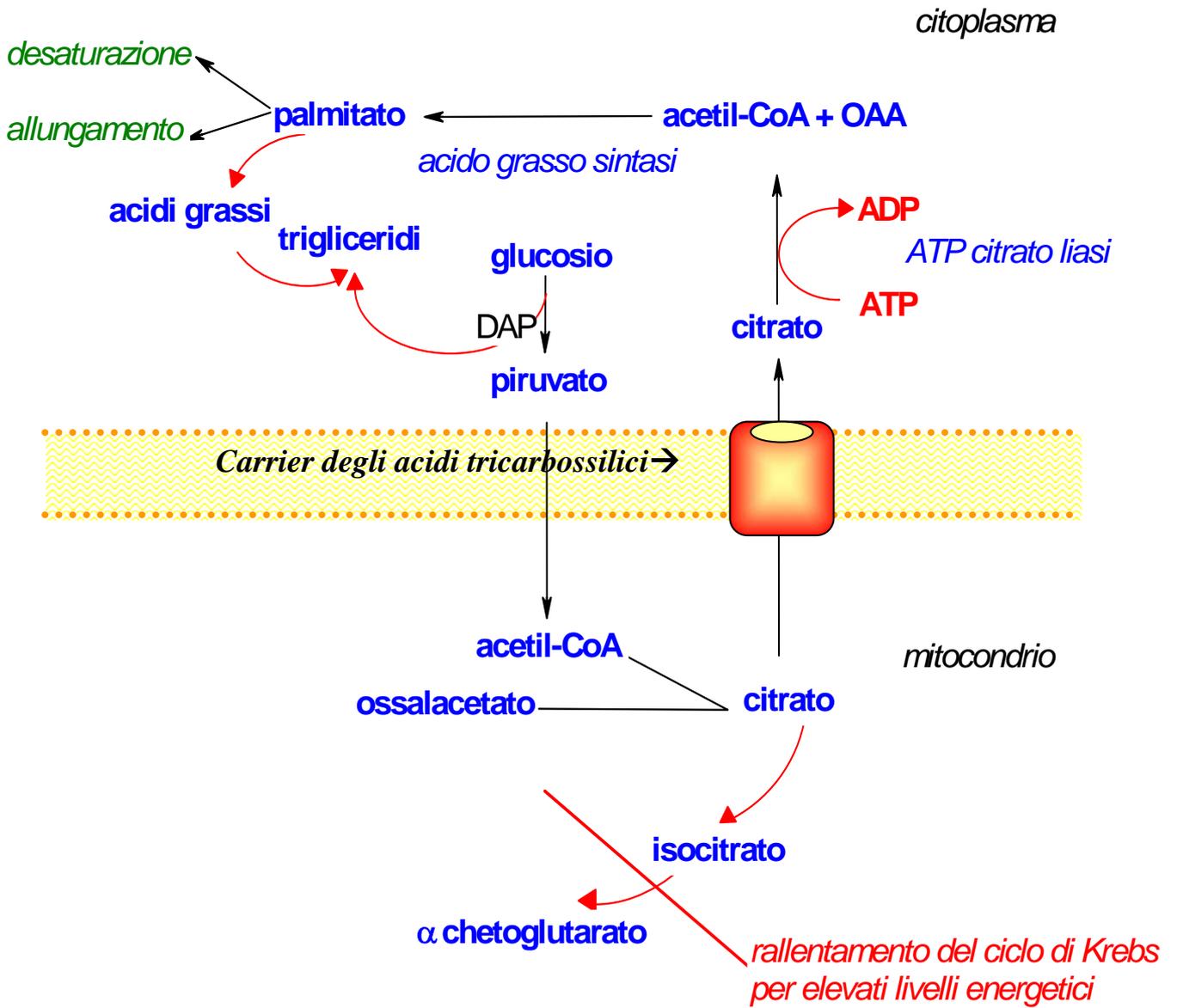
Sintesi ex novo del Palmitato

Come già detto, la sintesi degli acidi grassi si ottiene a partire da catene bicarboniose di acetilCoA.

Tale via metabolica sintetizza l'acido grasso saturo a 16 atomi di carbonio: l'acido palmitico. Per tale motivo la via metabolica viene anche detta sintesi ex novo del palmitato. Gli enzimi di questa via metabolica sono localizzati nel citoplasma.



L'acetil-CoA citosolico che funge da precursore per la sintesi degli acidi grassi si sintetizza a partire dal piruvato nel mitocondrio mediante una reazione di decarbossilazione ossidativa. L'acetil-CoA deve, quindi, essere trasportato dal mitocondrio nel citosol per poter partecipare alla sintesi degli acidi grassi. In realtà è il *citrato che fuoriesce dal mitocondrio*, grazie alla presenza nella membrana mitocondriale interna di un trasportatore per gli acidi tricarbossilici. Il citrato si forma nel mitocondrio nella prima reazione del ciclo di Krebs: la condensazione dell'acetil-CoA con l'ossalacetato. Nel citosol può essere riconvertito in acetil-CoA (che può fungere da precursore per la sintesi degli ac. grassi) ed ossalacetato grazie all'enzima *ATP citrato liasi*. Bisogna ricordare che il citrato aumenta all'interno del mitocondrio quando i livelli di ATP e NAD ridotto intramitocondriale sono elevati. Infatti l'ATP ed il NADH inibiscono la tappa del ciclo di Krebs che prevede la conversione dell'isocitrato in alfa-chetoglutarato (*1° decarbossilazione ossidativa, enzima isocitrato-deidrogenasi*), con conseguente accumulo dell'isocitrato e del citrato. È importante che in presenza di alte concentrazioni di ATP nel mitocondrio si abbia una esportazione di citrato (e quindi di acetil-CoA) nel citosol. Infatti in queste condizioni è utile immagazzinare l'energia chimica dell'acetil-CoA in una forma di riserva, quale quella rappresentata dagli acidi grassi e dai trigliceridi. Il vantaggio dunque di questa via anabolica consiste nella possibilità di **depositare energia chimica** ogni qualvolta i livelli energetici intracellulari sono elevati.

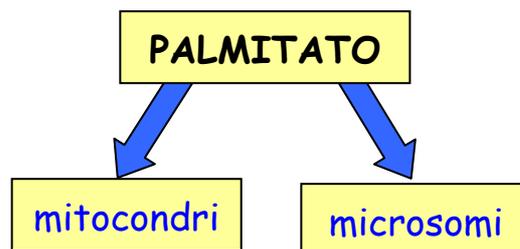


2) Allungamento della catena dell' acido grasso.

Per sintetizzare acidi grassi con catena >16 C bisogna allungare la catena del palmitato (o di acidi grassi assunti con gli alimenti come vedremo più avanti).

La catena di palmitato (C16) può essere allungata per mezzo di due sistemi enzimatici:

- **il sistema di allungamento mitocondriale;**
- **il sistema di allungamento microsomiale.**



3) Desaturazione degli acidi grassi.

Per sintetizzare gli acidi grassi insaturi, bisogna deidrogenare gli acidi grassi saturi con formazione di doppi legami.

Gli acidi grassi possono essere desaturati grazie a degli enzimi detti *desaturasi* che trasformano gli acidi grassi saturi in acidi grassi insaturi.

Tuttavia delle classi particolari di acidi grassi insaturi non possono essere sintetizzate nel nostro organismo e devono essere introdotte con la dieta: questi acidi grassi vengono detti *acidi grassi essenziali*.

In particolare il limite delle desaturasi consiste nel non essere in grado di deidrogenare acidi grassi in prossimità dell'estremità metilica (negli ultimi 6 atomi di carbonio).

Si ricorda che in un acido grasso esistono 2 estremità, la prima *carbossilica* (COOH) e la seconda *metilica* (CH₃) detta anche estremità ω (*omega*). La posizione dei doppi legami può essere indicata in due modi:

- numerando gli atomi di carbonio dal gruppo carbossile (carbonio 1) ed indicando il doppio legame con il numero dell'atomo di carbonio coinvolto nel doppio legame e più vicino al carbossile.
- numerando gli atomi di carbonio a partire dall'estremità omega (classe omega o n). Con questo sistema si indica solo la posizione del primo doppio legame che si incontra procedendo dall'estremità omega, gli altri doppi legami non si considerano.

4) Acidi grassi essenziali.

I principali acidi grassi essenziali sono: l'acido linoleico, l'acido linolenico e l'acido arachidonico.

- **Acido linoleico (oli e grassi vegetali)**

C18:2 doppi legami in pos. 9 e 12 (fra 9 e 10 e fra 12 e 13)

L'acido linoleico appartiene alla classe degli **omega 6**.($18-12=6$)

- **Acido Arachidonico**

C20:4 doppi legami

Anch'esso appartiene alla classe degli **omega 6** in quanto l'ultimo doppio legame è in posizione 14 ($20-14=6$)

- **Acido linolenico (pesce)**

C18:3 doppi legami

Appartiene alla classe **omega 3** in quanto l'ultimo legame è in posizione 15.

Questi acidi grassi polinsaturi non possono essere sintetizzati nel nostro organismo poiché l'enzima desaturasi non riesce ad inserire un doppio legame in posizioni vicine all'estremità omega (posizione 3 e 6); da ciò deriva la necessità di ingerire gli omega 3 e 6 con l'alimentazione.

Utilizzando l'acido linoleico presente nella dieta il nostro organismo è in grado di sintetizzare altri acidi grassi poliinsaturi omega 3 a catena più lunga: ad esempio l'acido eicosapentenoico (EPA) e l'acido docosaesaenoico (DHA).

Gli Omega 3

I pesci contengono una grande proporzione di derivati dell'acido linolenico (omega3), quali EPA e DHA. Studi su popolazioni che consumano molto pesce hanno dimostrato una bassa incidenza di infarto del miocardio presso questi soggetti.

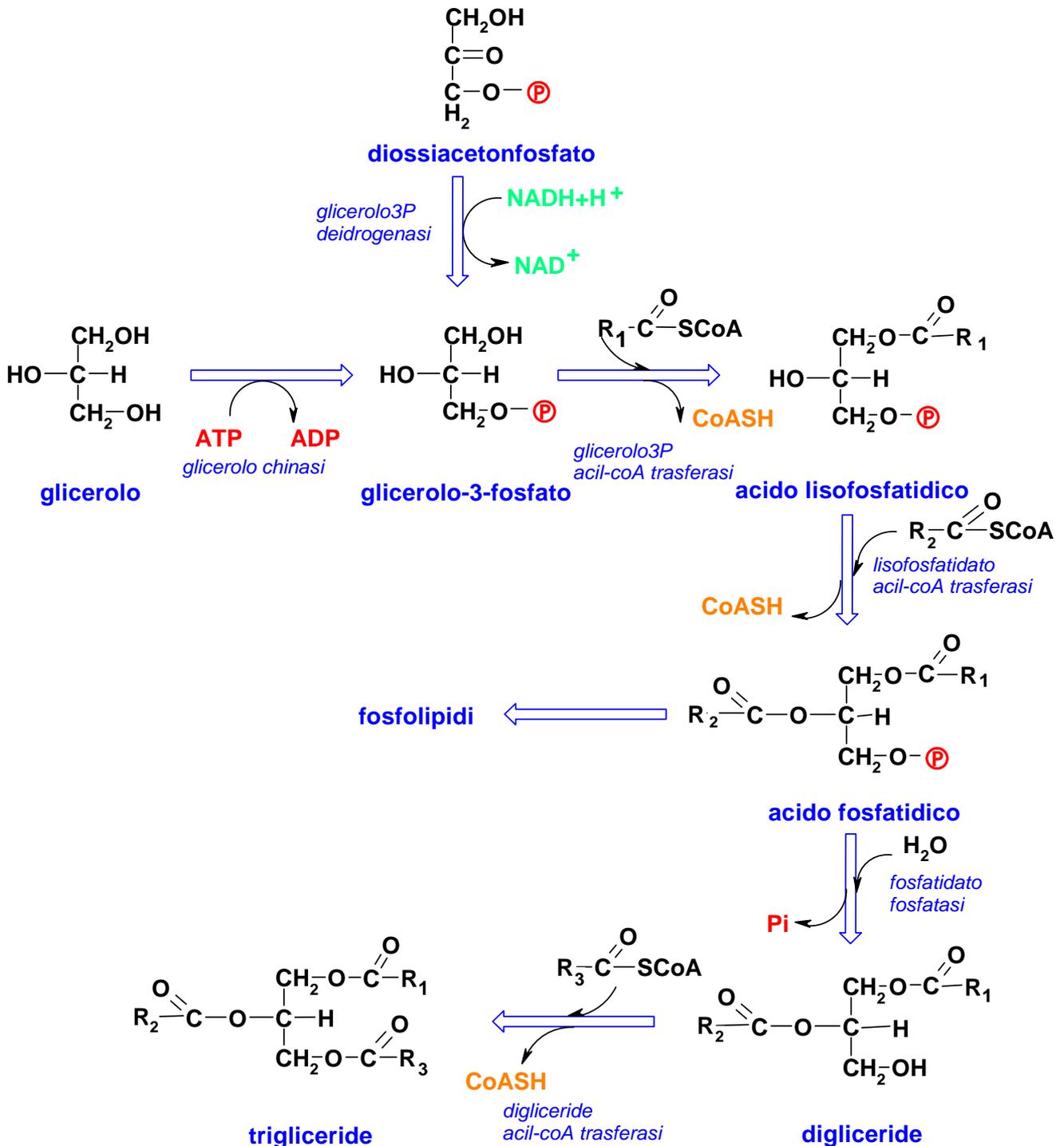
Gli Omega 6

L'acido arachidonico è il precursore di una importante classe di molecole che fungono da messaggeri intercellulari: le prostaglandine.

Le Prostaglandine intervengono quali mediatori chimici nei processi di flogosi. L'aspirina (acido acetil salicilico) ha un'attività anti-infiammatoria perché inibisce l'enzima responsabile della sintesi di prostaglandine a partire da acido arachidonico.

5) Biosintesi dei trigliceridi.

I trigliceridi derivano dal glicerolo e dagli acidi grassi. Il *glicerolo* è un *alcol trivalente* e i *trigliceridi* sono *esteri del glicerolo con acidi grassi a catena lunga*.



Come si può osservare dalla serie di reazioni illustrate nella pagina precedente, in realtà viene utilizzato per la sintesi dei trigliceridi il glicerolo-3-fosfato. Esso proviene da un intermedio della glicolisi, il diossalacetonefosfato (DAP proveniente dalla degradazione del fruttosio1,6 bifosfato) grazie all'azione dell'enzima glicerolo-

3-fosfato deidrogenasi NAD dipendente. Nel fegato è presente l'enzima glicerolo chinasi che catalizza la fosforilazione del glicerolo proveniente dall'idrolisi dei trigliceridi nel tessuto adiposo e muscolare.

Gli acidi grassi utilizzati sono in forma attivata, cioè coniugati con il coenzima A.

Tutti i componenti dei trigliceridi possono derivare quindi dal glucosio:

- gli acidi grassi derivano dall'acetil-CoA. L'acetil-CoA deriva dal piruvato, che a sua volta si forma nella glicolisi;
- il glicerolo può essere sintetizzato a partire da uno degli intermedi della glicolisi: il diidrossiacetonfosfato (DAP).

La via metabolica che collega la glicolisi alla biosintesi dei trigliceridi rappresenta la **via di conversione degli zuccheri in grassi**, via metabolica particolarmente attiva nel fegato e nel tessuto adiposo. La lipogenesi e la conversione degli zuccheri in grassi è stimolata dall'insulina. L'insulina infatti, nel tessuto adiposo, **facilita il trasporto del glucosio** attraverso l'induzione dell'aumento del numero di trasportatori (GLUT4) nella membrana cellulare; **determina una maggiore captazione degli acidi grassi esogeni** attraverso l'induzione della sintesi della lipoprotein lipasi (cap. VIII) che catalizza l'idrolisi dei trigliceridi contenuti nelle lipoproteine plasmatiche; **stimola la sintesi ex novo degli acidi grassi; inibisce la lipolisi**, in quanto riduce l'attività della lipasi ormono-sensibile o adipolitica (cap. IX).

6) La funzione di riserva energetica dei trigliceridi.

La elevata resa energetica dei lipidi deriva dal basso contenuto in ossigeno della molecola degli acidi grassi, per cui il loro potere calorico (9 Kcal/g) è circa il doppio di quello dei glicidi e delle proteine (4 kCal/g). Quindi a parità di peso otteniamo più del doppio di energia dai lipidi ed è dunque più conveniente per il nostro organismo depositare energia sotto questa forma;

Inoltre i lipidi, essendo idrofobici, non si legano all'acqua e quindi si compattano occupando così meno spazio. Quindi, il rapporto energia depositata/ volume del deposito è per i lipidi 6 volte più elevato che per i glicidi.

I lipidi costituiscono più del 10% del peso corporeo (la capacità di accumulo di trigliceridi in un uomo di 70 Kg è di circa 8 kg).

7) Distribuzione del grasso corporeo: grasso essenziale e grasso di deposito

Il grasso corporeo è presente in due forme: il **grasso essenziale** (o primario) e il **grasso di deposito** (o secondario). La prima quota è costituita dal grasso contenuto nel midollo osseo, nel cuore, nella milza, nei polmoni, nel fegato, nei reni nell'intestino, nei muscoli e in alcune parti del sistema nervoso centrale. Questa quota di grasso è continuamente utilizzata metabolicamente dai tessuti per le normali funzioni fisiologiche. Vi sono differenze legate al sesso per quanto riguarda il grasso essenziale, infatti nella donna esso comprende anche il **grasso essenziale specifico del sesso femminile**, che costituisce circa il 70% del grasso essenziale. Non è chiaro se questa quota di grasso possa essere utilizzata come riserva per il metabolismo energetico, ma è quasi certo che riveste una certa importanza in gravidanza e nelle funzioni ormono-dipendenti. Nelle donne il grasso essenziale specifico del sesso femminile si trova distribuito nelle mammelle e probabilmente anche a livello della zona pelvica, nelle cosce, nei fianchi e anche a livello intramuscolare.

La seconda quota di grasso è costituita dal grasso di deposito, costituito dall'accumulo di grasso nel tessuto adiposo. Il grasso di deposito comprende il **grasso viscerale** che ricopre gli organi interni proteggendoli da eventuali traumi, e il **grasso sottocutaneo** che si trova sotto la superficie della cute.

La percentuale di grasso di deposito è sostanzialmente simile nei due sessi (12% nell'uomo e 15% nella donna), mentre la percentuale di grasso essenziale è quattro volte superiore nella donna rispetto all'uomo.

Nei grafici riportati nella pagina seguente sono illustrate le differenze nella composizione corporea tra maschi e femmine secondo il modello teorico degli standard di riferimento sviluppato dal dr. Behnke. I valori di riferimento standard sono stati ricavati dalle medie ottenute dopo migliaia di misurazioni effettuate su civili e militari (*Behnke: "Evaluation and Regulation of Body Build and Composition" - Englewood Cliff, N.J., Prentice Hall - 1974*).

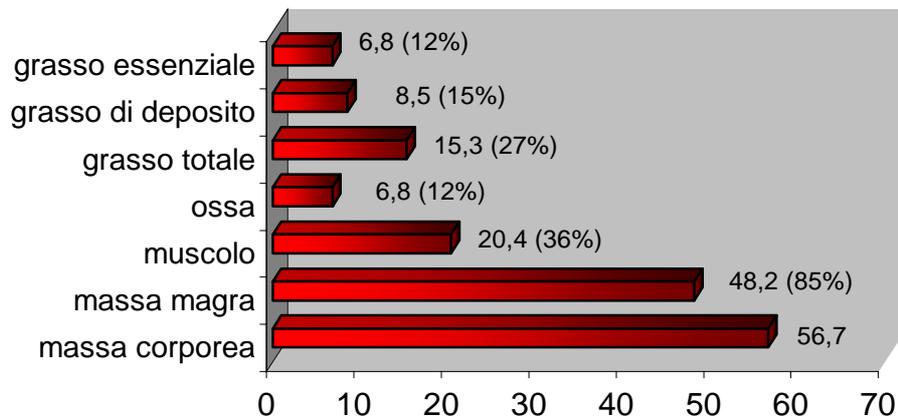
Lo schema proposto suddivide la massa totale nella componente muscolare, ossea e grassa (a sua volta suddivisa nelle sue componenti- essenziale e di deposito-). Rispetto alla donna standard, il maschio di riferimento è più alto, ha una maggiore massa corporea, ossea e muscolare e una minore massa grassa, soprattutto quella relativa al grasso essenziale. Il modello costituisce un valido riferimento su base statistica per la costituzione fisica per confrontare e valutare statistiche di dati provenienti da studi su popolazioni diverse, ad esempio atleti di discipline diverse tra loro o rispetto a soggetti normopeso, sottopeso o obesi.

La massa magra comprende la massa muscolare, ossea, la massa di acqua contenuta nei tessuti e il grasso essenziale. Tale valore è spesso confuso con quello della massa "fat-free" (FFM), ovvero della massa corporea a cui è stata sottratta tutta

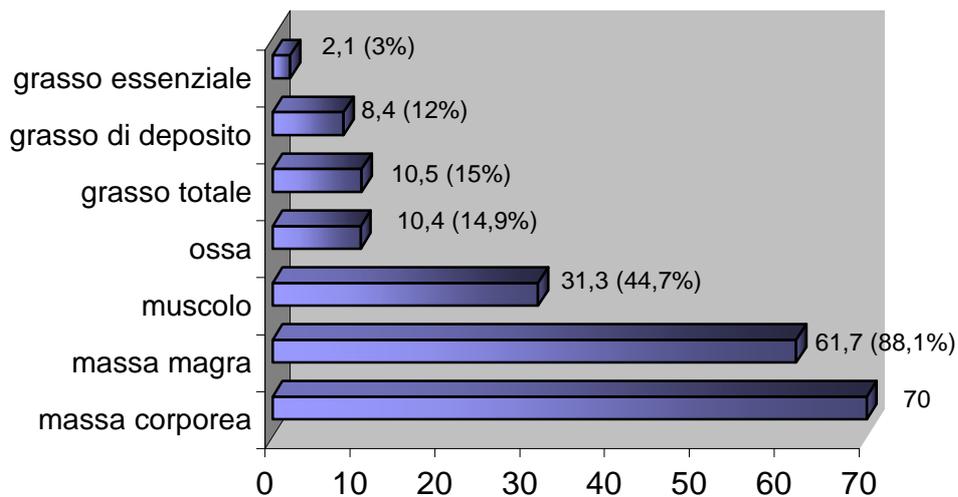
la componente grassa (tale valore secondo Behnke è determinabile solo *post-mortem*).

In adulti sani, idratati normalmente la massa *fat free* e la massa magra differiscono sostanzialmente per i depositi dei lipidi essenziali contenuti nel midollo osseo, nel cervello, nel midollo spinale e negli organi interni.

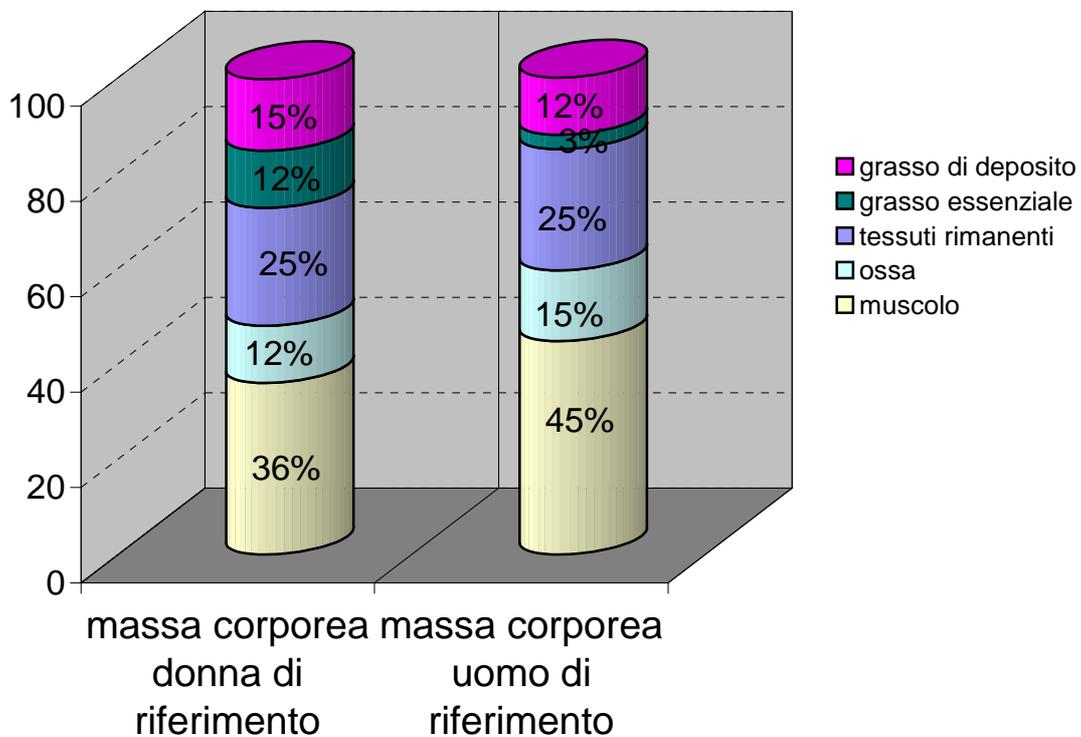
Donna standard di riferimento



Uomo standard di riferimento



Nel grafico sottostante sono stati messi a confronto la diversa composizione corporea tra uomo e donna standard di riferimento. Le varie componenti corporee sono state riferite in percentuale rispetto alla massa corporea (donna 56,7 kg /uomo 70 kg). Come è possibile osservare la massa grassa nella donna di riferimento costituisce circa il 27% della massa corporea contro il 15% di quella dell'uomo. Non esistono apprezzabili differenze tra la massa magra (ricordiamo che comprende anche la quota di grasso essenziale), mentre le differenze risultano evidenti considerando la massa *fat-free* (73% donna contro 85% uomo).



Un parametro spesso utilizzato per la valutazione della costituzione corporea è l'indice di massa corporea (Body Mass Index –BMI-) che mette in relazione la statura e il peso secondo la formula:

$$\text{BMI} = \text{peso corporeo (Kg)} / \text{statura (m}^2\text{)}$$

Per le donne, i valori ideali di BMI variano da 21,3 a 22,1 mentre per gli uomini i valori ideali oscillano da 21,9 a 22,4. Si ha una maggiore frequenza di ipertensione, diabete e malattie coronariche quando i valori del BMI eccedono 27,3 per le donne e 27,8 per gli uomini. Si definisce sovrappeso un soggetto il cui BMI è compreso tra 25 e 30 mentre un valore che supera un BMI di 30 definisce un soggetto obeso. Questi i valori elaborati da un gruppo di esperti riunito presso il National Institute of Health per la valutazione e il trattamento dell'obesità e del sovrappeso:

	BMI
Sottopeso	< 18,5
Normopeso	≥ 18,5 < 24,9
Sovrappeso	≥ 25,0 < 29,9
Obesità di I grado	≥ 30,0 < 34,9
Obesità di II grado	≥ 35,0 < 39,9
Obesità estrema	≥ 40,0

L'indice di massa corporea , anche se ampiamente diffuso da operatori in campo sanitario e sportivo, presenta dei limiti in quanto non tiene conto della composizione corporea del soggetto in esame. Infatti tale parametro di valutazione è spesso associato ad altri sistemi di valutazione corporea, quali la determinazione della taglia ossea, esami impedenziometrici etc. In particolare negli atleti, la sola valutazione del BMI può spesso trarre in inganno in quanto molti altri fattori (oltre la massa grassa) possono fare innalzare i valori del BMI. Infatti l'allenamento induce un aumento della massa muscolare, ossea, ligamentosa e del volume plasmatico in circolo,. Individui magri con eccesso di massa muscolare potrebbero presentare valori di BMI elevati che li potrebbe fare rientrare tra le categorie di soggetti a rischio di mortalità.

Scheda di approfondimento:

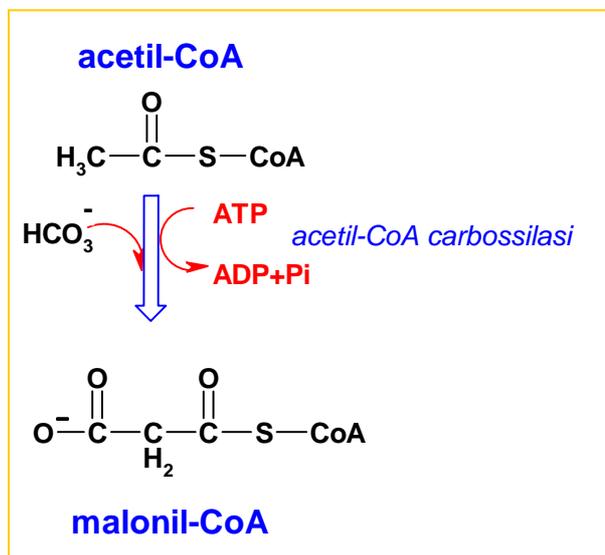
Biosintesi degli acidi grassi

Le reazioni della biosintesi degli acidi grassi possono essere distinte in 4 fasi:

- 1) Carbossilazione dell'acetil-CoA
- 2) Sintesi dell'acido palmitico
- 3) Fase di allungamento
- 4) Fase di desaturazione

● Carbossilazione dell'acetil-CoA

Nel citosol l'acetil-CoA viene carbossilato a malonil-CoA per azione dell'enzima biotina-dipendente *acetil-CoA carbossilasi*.

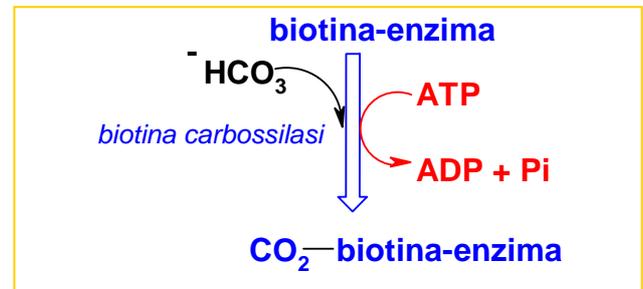


L'attività di tale enzima è regolata allostericamente in senso positivo dal citrato e in senso negativo dagli acilCoA. L'enzima è formato da tre subunità:

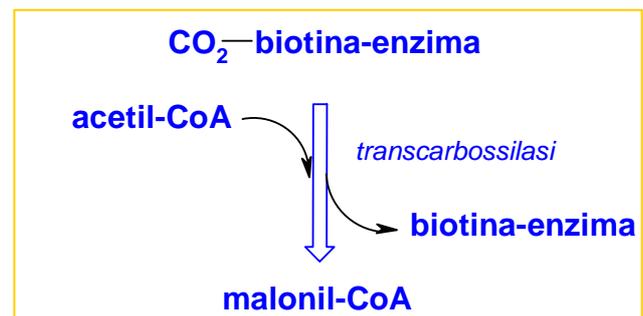
- *Biotina carbossilasi*
- *transcarbossilasi*
- *la proteina trasportatrice della carbossil biotina*

In realtà possiamo suddividere la reazione catalizzata dall'acetil-CoA carbossilasi in due semi-reazioni:

- 1) **formazione dell'intermedio carbossibiotinil-enzima**, catalizzata dalla subunità biotina carbossilasi

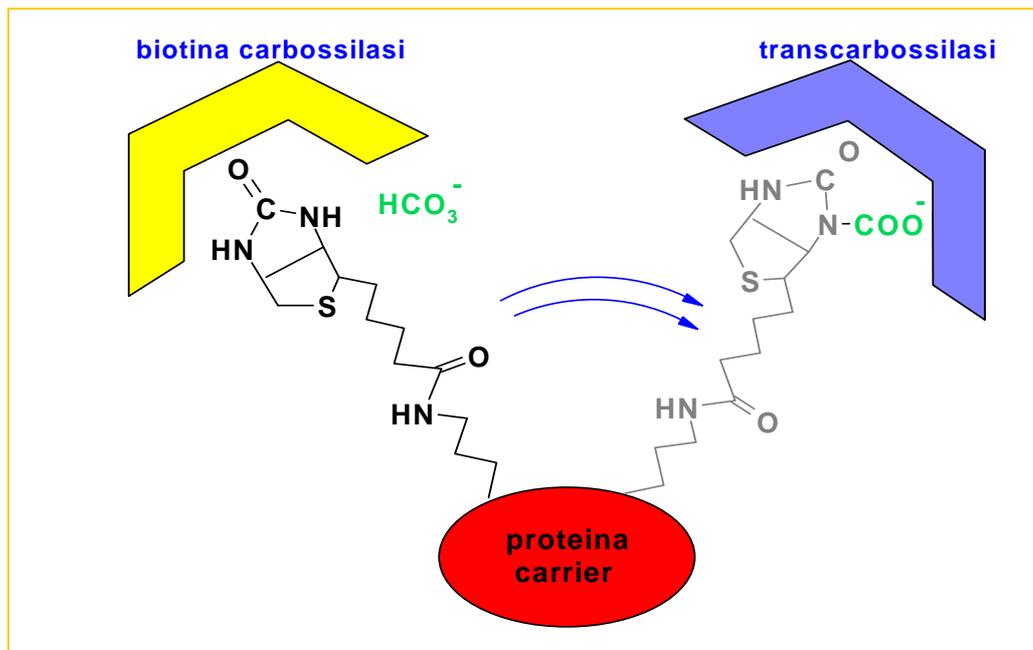


- 2) **trasferimento del gruppo CO₂ attivato dalla carbossibiotina all'acetil CoA per formare malonil-CoA**, catalizzato dalla subunità transcarbossilasi:



Il trasferimento del gruppo CO₂ dalla carbossibiotina all'acetil-CoA è reso possibile dalla 3 subunità dell'enzima acetilCoA carbossilasi, la proteina carrier della carbossil biotina. Infatti la lunghezza del legame tra la biotina e la sua proteina trasportatrice consente al gruppo carbossilico di muoversi da un sito attivo all'altro nel complesso enzimatico, ovvero dalla biotina carbossilasi alla transcarbossilasi.

Il gruppo carbossilico della biotina è legato covalentemente al gruppo amminico di un residuo di lisina della proteina carrier.



● Biosintesi ex novo del palmitato

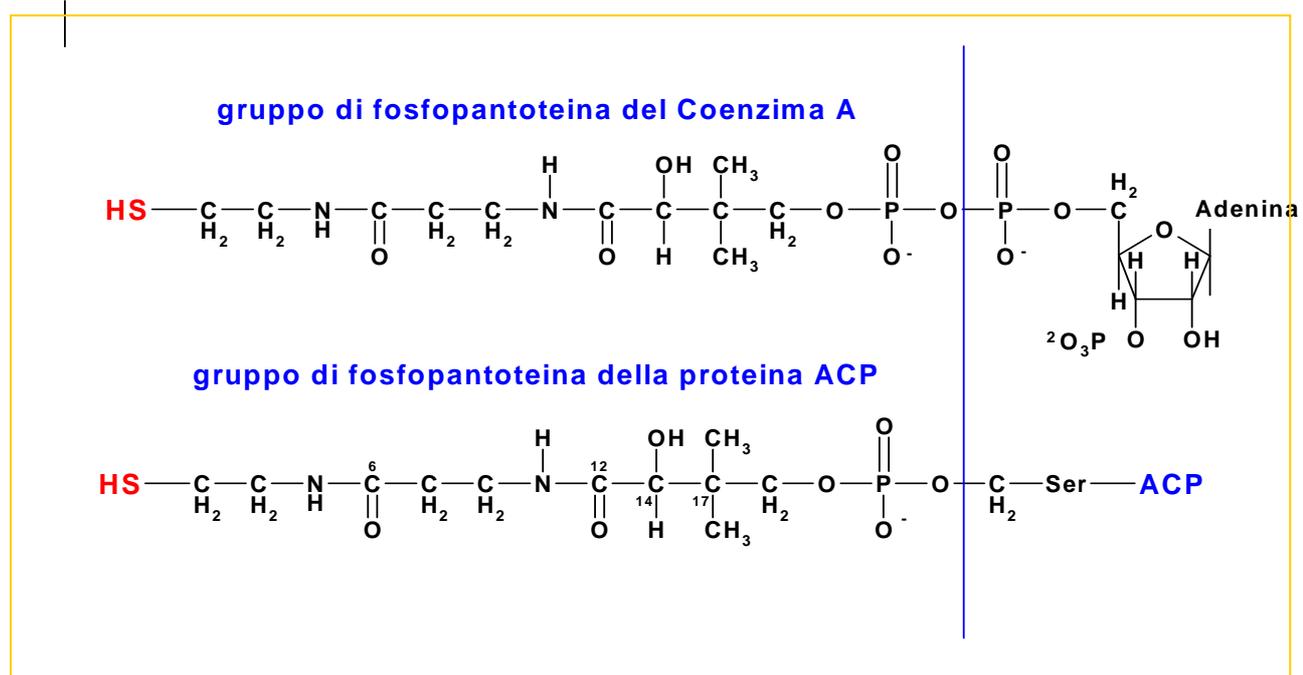
La biosintesi ex novo del palmitato (C16) degli acidi grassi è catalizzata da un complesso multienzimatico (7 attività catalitiche + ACP) chiamato **acido grasso sintasi**.

Tale complesso multienzimatico è formato dall'unione di 7 enzimi che catalizzano le varie reazioni della biosintesi del palmitato e da una proteina trasportatrice degli acili (*Acyl Carrier Protein: ACP*).

I prodotti intermedi della sintesi degli acidi grassi sono legati covalentemente ai gruppi sulfidrilici di una proteina trasportatrice di acili.

L'ACP contiene una porzione non-proteica (gruppo prostetico) chiamata fosfopanteteina. Abbiamo già incontrato questa molecola organica, con il suo caratteristico gruppo reattivo sulfidrilico, nella struttura del coenzima A (CoA). La fosfopanteteina dell'ACP, così come per il coenzima A, è capace di trasferire gli acili, ancorati al gruppo SH, da un enzima all'altro del complesso multienzimatico.

Nella figura sottostante è possibile confrontare la struttura del CoA e del gruppo prostetico dell'ACP.

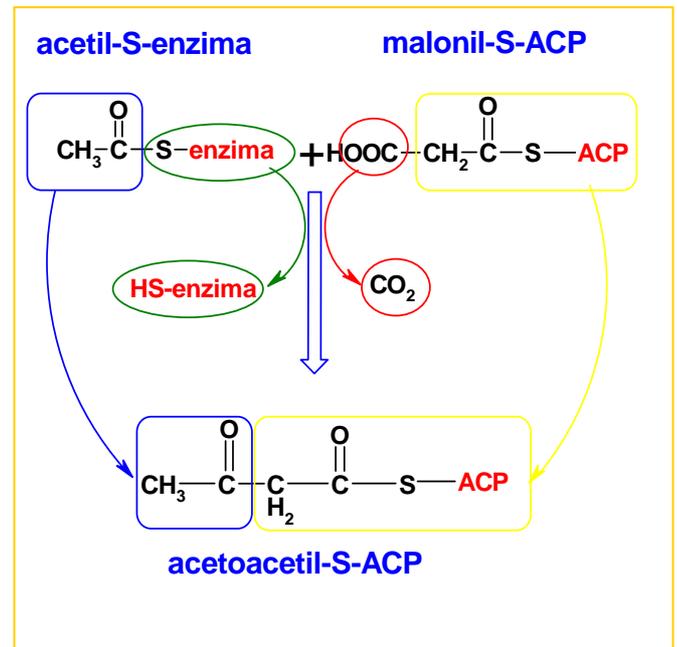


Nel complesso multienzimatico è presente anche un altro enzima che contiene un gruppo SH appartenente ad un residuo di cisteina, l'enzima condensante. La funzione di questi due gruppi tiolici all'interno del complesso multienzimatico è quella di legare e attivare gli acili.

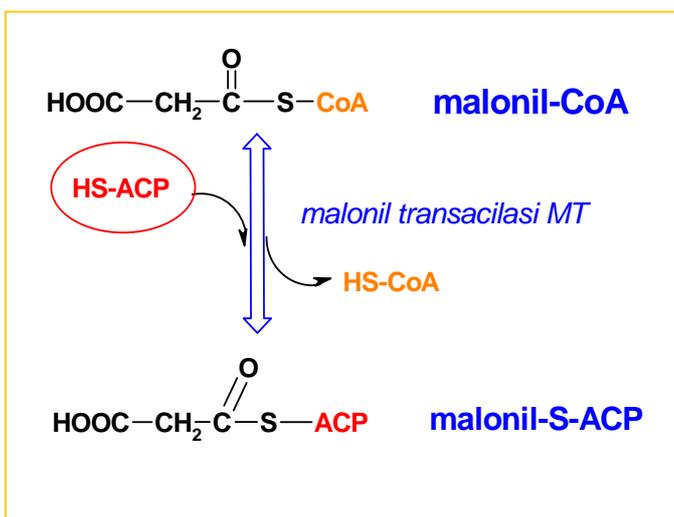
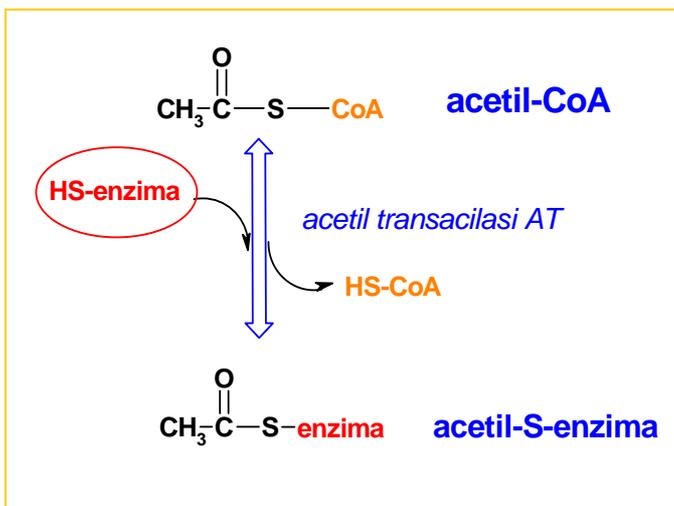
1° FASE: reazioni di inizio o fase della condensazione iniziale.

La sintesi degli acidi grassi ha inizio con la condensazione dell'Acetil-CoA e del malonil-CoA rispettivamente con il gruppo tiolico dell'enzima condensante e con quello dell'ACP. La formazione degli intermedi *acetil-S-enzima* e *malonil ACP* è catalizzata dagli enzimi *acetil transacilasi (AT)* e dalla *malonil transacilasi (MT)*

Infine il gruppo acetile dell'acetil-S-enzima e il malonil ACP si condensano per formare l'acetoacetil-ACP (un beta-chetoacil-ACP a 4 atomi di carbonio).



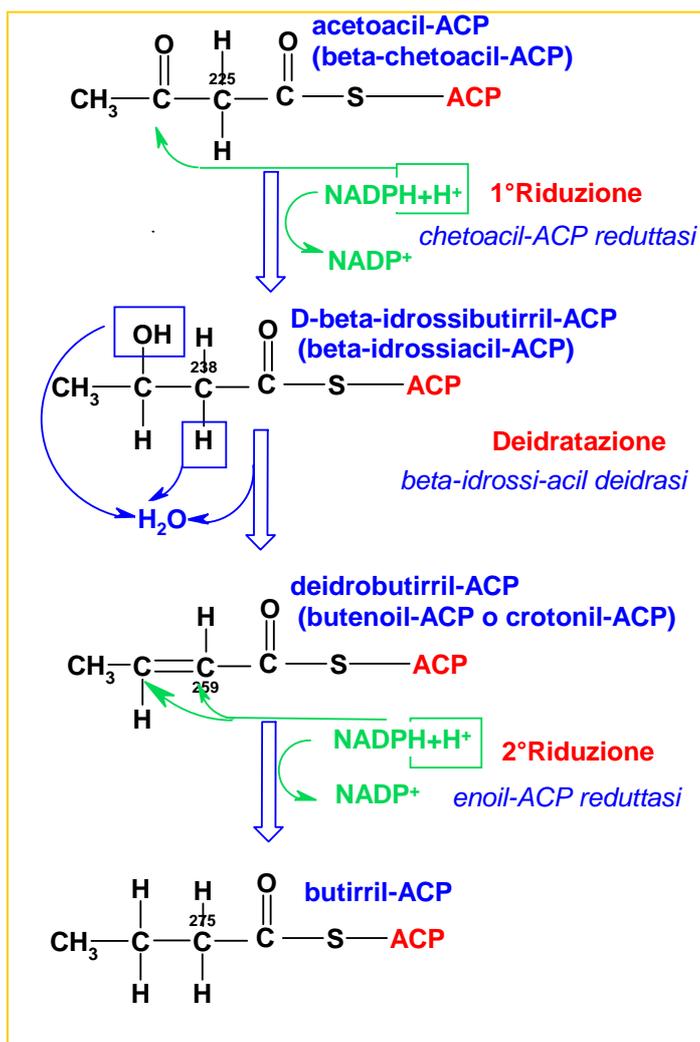
Bisogna notare che la condensazione del gruppo acetile (2C) con il gruppo malonile (3C) dà origine a un gruppo acetoacetile a 4C. In questa reazione viene liberato il gruppo carbossile del malonile sotto forma di CO_2 . Come mostrato dalle frecce tratteggiate l'acetile viene trasferito sul malonile con formazione di acetoacetil-ACP e liberazione di CO_2 . La nuova molecola a 4C si trova dunque legata all'ACP. In realtà, dal punto di vista chimico, il malonil-ACP viene prima decarbossilato ed è il carbanione risultante che attacca l'acetil-tioestere (attacco nucleofilo del carbanione sul carbonio carbonilico con parziale carica positiva del gruppo acetilico). La reazione di decarbossilazione promuove, quindi, la reazione di condensazione. In questa reazione si trova anche una delle spiegazioni del perché un composto a 4 atomi di carbonio (acetoacetile) si formi da un acetile e un malonile anziché da due acetili. Infatti la condensazione di due acetili è una reazione endoergonica, mentre la reazione tra malonile ed acetile è esoergonica poiché la decarbossilazione del malonile provoca una sostanziale diminuzione di energia libera. La reazione di condensazione in realtà avviene a spese dell'ATP, che non partecipa direttamente alla reazione di condensazione, ma è stato usato per la carbossilazione dell'acetil-CoA a malonil-CoA. L'energia libera conservata nel malonil-



CoA viene successivamente rilasciata nella decarbossilazione che accompagna la formazione di acetoacetyl-ACP. Quindi l'atomo di carbonio che è entrato sotto forma di HCO_3^- nella carbossilazione dell'acetyl-CoA viene rilasciato sotto forma di CO_2 in questa fase e non farà parte della catena finale dell'acido grasso.

2° FASE: reazioni cicliche di modificazione della catena o fase riduttiva.

Nel corso di questa fase il gruppo chetonico dell'acetoacetyl in posizione beta viene completamente ridotto a gruppo metilenico mediante tre reazioni: *due riduzioni separate da una deidratazione*. Vengono utilizzati come equivalenti riducenti due molecole di $\text{NADPH}+\text{H}^+$



3° FASE: traslocazione ed allungamento ciclico della catena o fase di allungamento

Completata la fase di condensazione, avviene la *traslocazione* della catena satura a 4 atomi di carbonio (butirril) dal gruppo SH dell'ACP a un gruppo SH dell'enzima condensante (CE) grazie all'attività della malonil-transacilasi (MT) che abbiamo già incontrato nella fase di inizio.

In tal modo l'ACP dell'acido grasso sintasi può legare un nuovo gruppo malonile al suo gruppo sulfidrilico

Infine avviene la *condensazione* della catena in fase di crescita con il malonil-ACP: la catena a 4 C si condensa con il malonil-ACP in una reazione catalizzata dall'enzima condensante con le stesse modalità già esaminate nella fase di inizio. Il prodotto sarà un beta-chetoacile a 6 atomi di carbonio legato all'ACP.

Il 6C-beta-chetoacetyl-ACP potrà quindi subire le reazioni della 2° fase (fase riduttiva) e trasformarsi in un acetyl-ACP a 6C saturo.

Le reazioni della 3° fase (fase di allungamento) e della 2° fase (fase riduttiva) possono quindi ripetersi ciclicamente per altre 5 volte in modo che la catena dell'acile raggiunga le dimensioni di 16 atomi di carbonio (palmitoil-ACP). In totale abbiamo 7 cicli nel processo di sintesi di una catena a 16 atomi di carbonio: il primo ciclo iniziato da una molecola di acetyl-CoA e una di malonil-CoA e formato dalle reazioni sequenziali della 1° e della 2° fase ed altri 6 cicli sostenuti dall'ingresso di un malonil-CoA per ciclo e formati dalle reazioni sequenziali della 3° (allungamento) e della 2° (riduzione) fase.

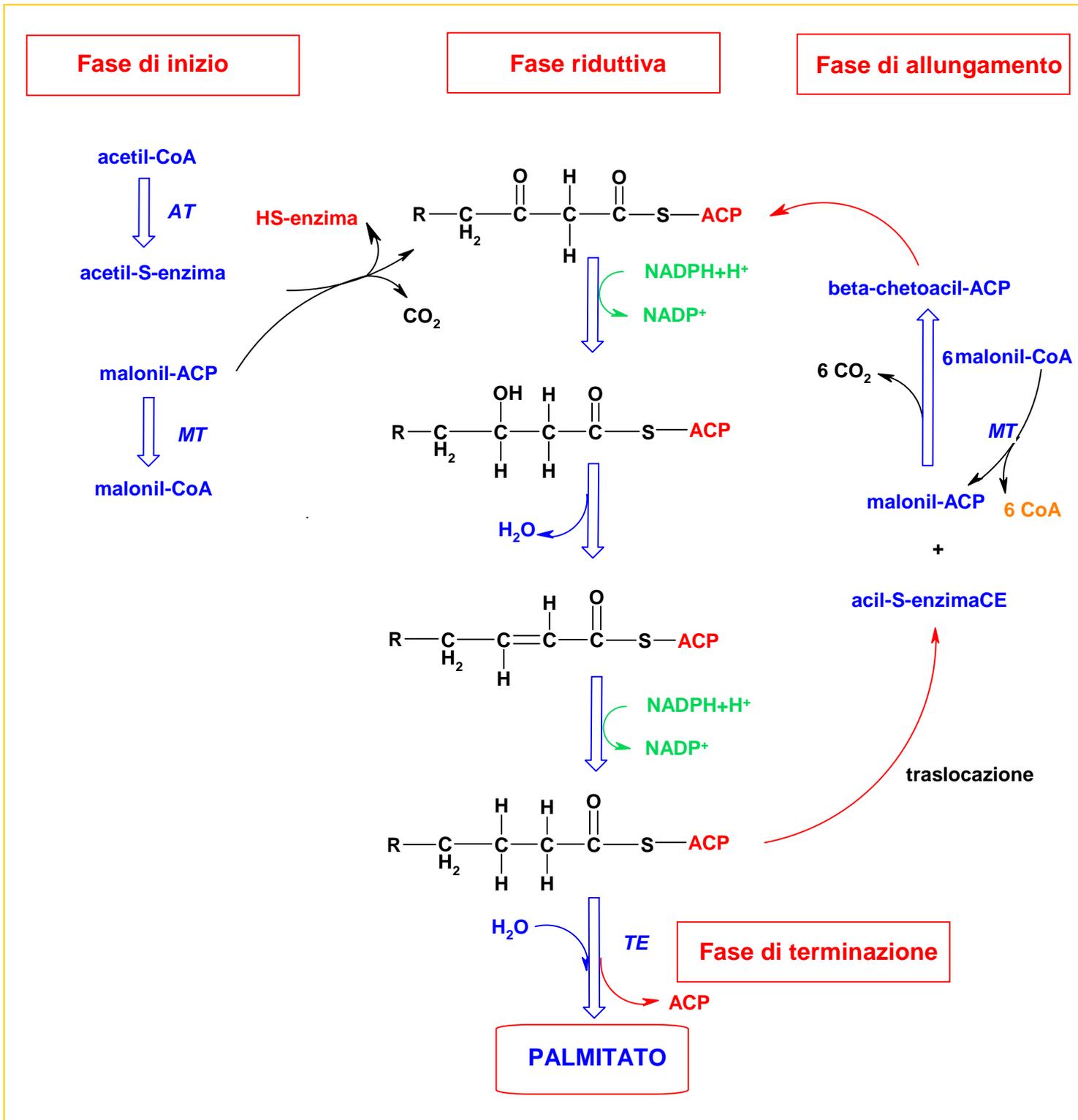
In totale 1 acetyl-CoA e 7 malonil-CoA sono necessari per sintetizzare il palmitoil-ACP (16C acetyl-ACP).

4° FASE: fase della terminazione

Come abbiamo detto i cicli di allungamento e riduzione si susseguono fino alla formazione di palmitoil-ACP (16 atomi di carbonio), che non è più substrato dell'enzima condensante, ma diventa substrato della settima attività catalitica dell'acido grasso sintasi: *l'enzima tioesterasi (TE)*. Questo enzima catalizza la scissione idrolitica del palmitoil-ACP a palmitato libero e ACP.

L'acido palmitico libero viene rilasciato dal complesso multienzimatico.

Schema complessivo della sintesi ex novo del palmitato

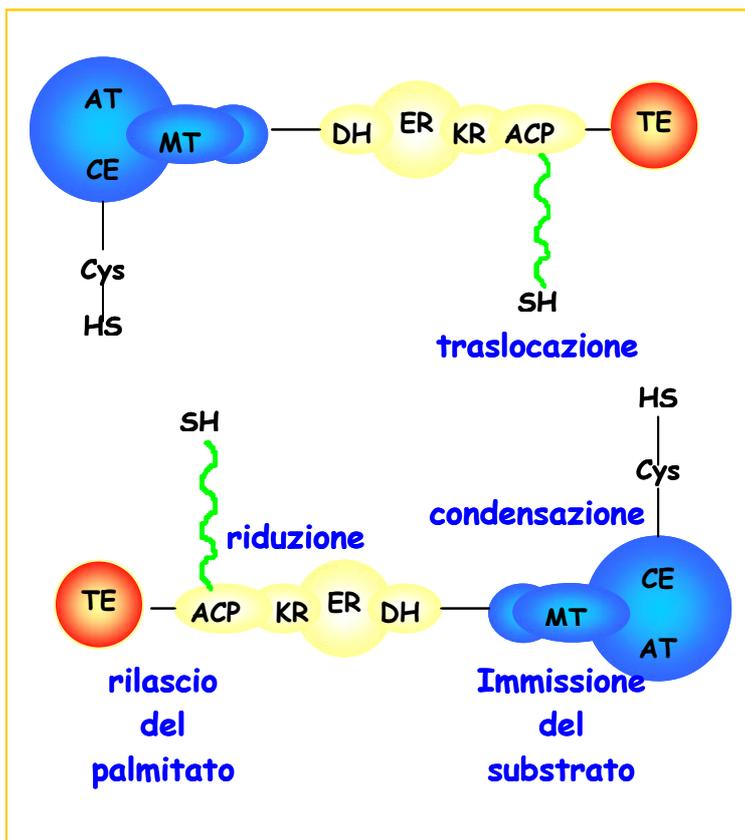


L'acido grasso sintasi degli eucarioti, a differenza di quella di *E. Coli*, può essere definita come un complesso multienzimatico.

L'acido grasso sintasi dei mammiferi è un dimero costituito da 2 subunità uguali. Ogni catena contiene 3 domini.

1) l'unità strutturale di legame per il substrato e di condensazione (*in blu*), contiene l'acetil transferasi (AT), la malonil transferasi (MT), e l'enzima di condensazione (CE).

2) l'unità per la riduzione (*in giallo*), contiene la proteina trasportatrice di acili (ACP), la beta-chetoacil reduttasi (KR), la deidratasi (DH) e l'enoil reduttasi (ER) l'unità per il rilascio del palmitato (*in rosso*), contiene la tioesterasi (TE). Il gruppo flessibile di fosfopanteteina (*in verde*) trasporta l'acile da un sito catalitico di una catena all'altro.

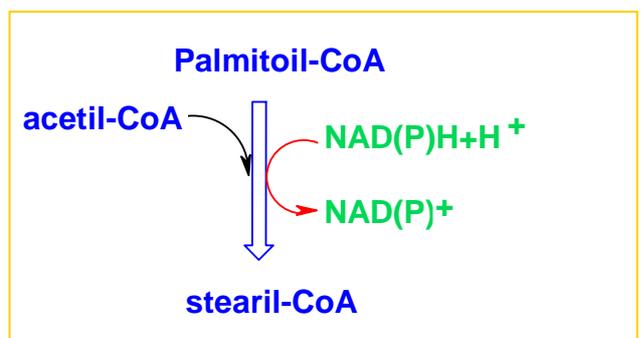


● Allungamento del palmitato

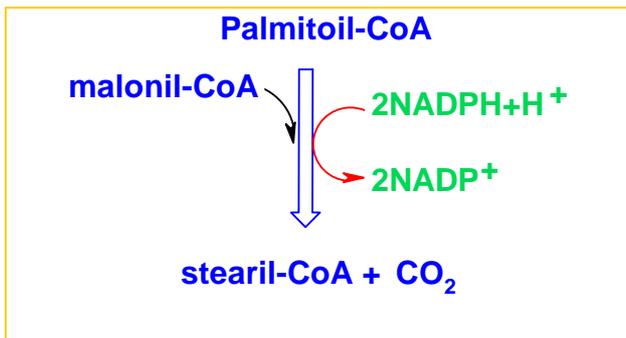
Abbiamo esaminato come avviene la sintesi citosolica del palmitato ex novo. Per poter sintetizzare catene di acidi grassi con un numero di atomi di C maggiore di 16, la neo sintetizzata catena di palmitato deve abbandonare la sede citosolica per recarsi presso i sistemi enzimatici che catalizzano le reazioni di allungamento. Tali sistemi sono situati presso i mitocondri e i microsomi e identificano il sistema di allungamento mitocondriale e il sistema di allungamento microsomiale.

In entrambi i casi gli acili non sono legati alla proteina ACP, ma al CoA

- **Nei mitocondri:** Il palmitato entra nei mitocondri in forma attivata, coniugato al Coenzima A (palmitoil-CoA), grazie al sistema di trasporto carnitina dipendente. All'interno dei mitocondri subisce le reazioni di allungamento con una sequenza inversa rispetto quelle delle beta-ossidazione (condensazione con l'acetil-CoA, riduzione del chetoacil-CoA NADH+H⁺ dipendente, deidratazione dell'idrossiacil-CoA, riduzione del deidroacil-CoA NADPH+H⁺ dipendente).



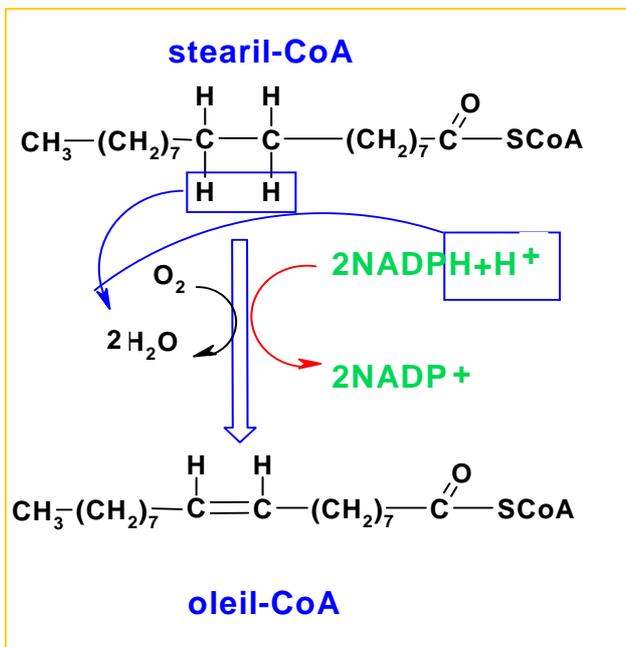
- **Nei microsomi:** il palmitato arriva nei microsomi sempre in forma attivata, ovvero coniugato al Coenzima-A. Il sistema enzimatico microsomiale utilizza per la sintesi degli acidi grassi con numero di C>16, il malonil-CoA e come riducenti 2 molecole di NADPH+H⁺



● Desaturazione

Gli acidi grassi possono essere desaturati grazie a degli enzimi detti *desaturasi* che trasformano gli acidi grassi saturi in acidi grassi insaturi. Tuttavia delle classi particolari di acidi grassi insaturi non possono essere sintetizzate nel nostro organismo e devono essere introdotte con la dieta: questi acidi grassi vengono detti *acidi grassi essenziali*.

In particolare il limite delle desaturasi consiste nel non essere in grado di deidrogenare acidi grassi in prossimità dell'estremità metilica. La desaturazione degli acidi grassi può avvenire negli atomi 9 e 10 dell'acido grasso attivato (stearilCoA). L'enzima desaturasi utilizza O₂ e una molecola di NADPH+H⁺:



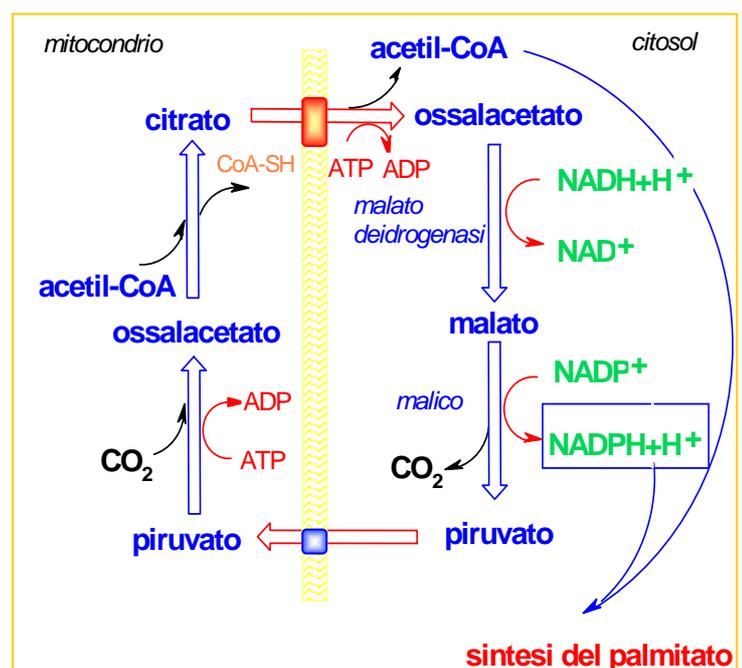
Ciclo citrato piruvato

Il trasferimento dell'acetil CoA dal mitocondrio al citoplasma necessario per la sintesi del palmitato avviene grazie al citrato il quale trasporta i gruppi acetili che servono per la sintesi degli acidi grassi attraverso la membrana mitocondriale interna.

Il citrato citoplasmatico diventa precursore dell'acetil-CoA e segnale allosterico per l'attivazione dell'acetil-CoA carbossilasi. Il citrato si forma nella matrice mitocondriale dalla condensazione dell'acetil-CoA con l'ossalacetato e quando è presente ad alte concentrazioni viene trasportato al citosol.

Il citrato citosolico viene scisso in ossalacetato e acetil-CoA dall'enzima *ATP-citrato liasi*.

L'ossalacetato formato nel citosol deve tornare al mitocondrio. Per far questo, subisce una serie di reazioni durante le quali si produrrà NADPH+H⁺ necessario per la sintesi degli acidi grassi.



Il piruvato rientra nel mitocondrio mediante un sistema di trasporto specifico e può essere trasformato in ossalacetato mediante l'enzima piruvato carbossilasi.

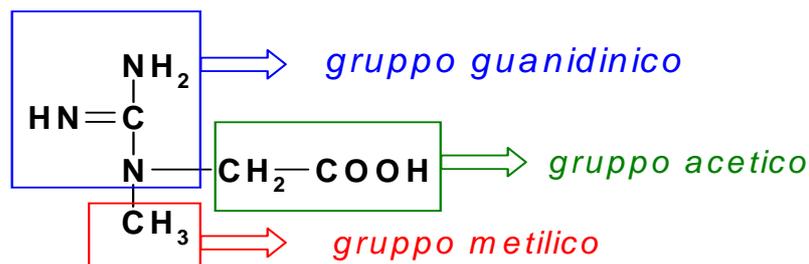
Per ogni molecola di acetil-CoA trasferito dai mitocondri al citosol viene prodotta una molecola di NADPH ridotto: l'*enzima malico* catalizza la reazione che concorre a fornire gli equivalenti riducenti per la sintesi degli acidi grassi.

Capitolo XI

Metabolismo e funzioni della creatina

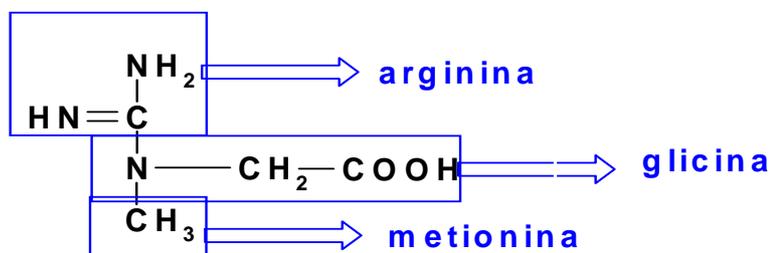
- 1) *Struttura della creatina*
- 2) *Sintesi della creatina*
- 3) *Fosfocreatina*
- 4) *Tamponamento energetico temporale della fosfocreatina*
- 5) *Tamponamento energetico spaziale della fosfocreatina*
- 6) *Gli isoenzimi della creatina chinasi citosolica*
- 7) *Conversione della creatina in creatinina*
- 8) *Schema del metabolismo della creatina*
- 9) *Integrazione alimentare di creatina*

1) Struttura della creatina



creatina
acido metil-guanidin-acetico

2) Sintesi della creatina



La Creatina (acido metil-guanidin-acetico) viene sintetizzata nell'organismo a livello epatico e renale utilizzando 3 aminoacidi (in blu nello schema in alto): la **metionina** fornisce il gruppo **metilico** (reazione di transmetilazione); la **glicina** fornisce il gruppo **acetico** (e l'azoto) e l'**arginina** il gruppo **amidinico**.

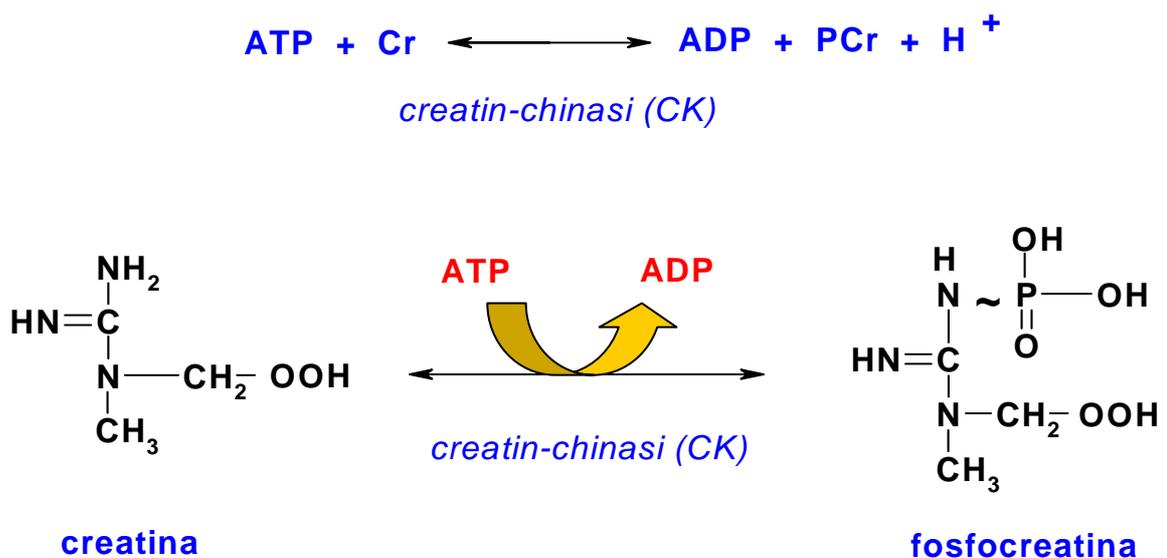
Dagli organi in cui avviene la sintesi la creatina viene rilasciata in circolo e da questo catturata dai muscoli (cardiaco e scheletrico) e dal cervello, che la fosforilano per gran parte in fosfocreatina.

Un uomo di 70 kg ha circa 120 g di creatina (il 95% nei muscoli) ed il turn-over giornaliero (cioè la quantità giornaliera che viene eliminata e che deve essere rimpiazzata mediante sintesi endogena ed assunzione alimentare) è di circa 2g (1,6% del contenuto totale di creatina). Circa il 50% di questa quota viene sostituita mediante assunzione alimentare (250 g di carne rossa contengono circa 1 g di creatina) e l'altro 50% mediante sintesi endogena da metionina, glicina e arginina. Inoltre l'assunzione alimentare di creatina esercita effetti inibitori sulla sintesi endogena: si tratta di un processo di regolazione in *feed back* di ovvio significato funzionale

3) Fosfocreatina

Per svolgere il suo ruolo fisiologico, nel muscolo così come nel cervello, nel fegato e nel rene, la creatina (**Cr**) viene convertita in fosfocreatina (**PCr**). Il donatore del gruppo fosfato è l'ATP che si converte in ADP. L'enzima che catalizza la reazione è dunque una chinasi (si definiscono chinasi gli enzimi che trasferiscono il fosfato gamma terminale dell'ATP ad uno specifico substrato fosforilandolo). Il nome dell'enzima che catalizza la fosforilazione della creatina è "*creatina chinasi*" (**CK**). E' ancora in uso il vecchio termine errato di CPK.

Fosforilazione della creatina



Mentre nella reazione di sintesi della fosfocreatina si ha la liberazione di un idrogenione, nella reazione inversa, cioè la sintesi di ATP da fosfocreatina, la creatina tende a protonarsi. Quindi la sintesi di ATP e la liberazione di creatina comporta una alcalinizzazione. Ciò può essere importante durante uno sforzo rapido e di alta intensità (sforzo sovramassimale) poiché l'attivazione della glicolisi anaerobica e la produzione di lattato tendono ad acidificare l'ambiente intracellulare. Questo possibile ruolo del sistema della creatina chinasi nel tamponamento del pH durante uno sforzo muscolare è ancora oggetto di discussione.

Qual' è dunque il ruolo funzionale della fosfocreatina?

Notate nella formula della fosfocreatina che il legame che unisce l'azoto del gruppo guanidinico al fosforo del fosfato è indicato con il tipico segno circonflesso dei legami ad alta energia: infatti la fosfocreatina è un composto ad alta energia ($\Delta G^\circ -10 \text{ kCal/mol}$). la fosfocreatina rappresenta quindi una *forma di riserva di energia chimica* disponibile ad essere *rapidamente convertita in ATP*.

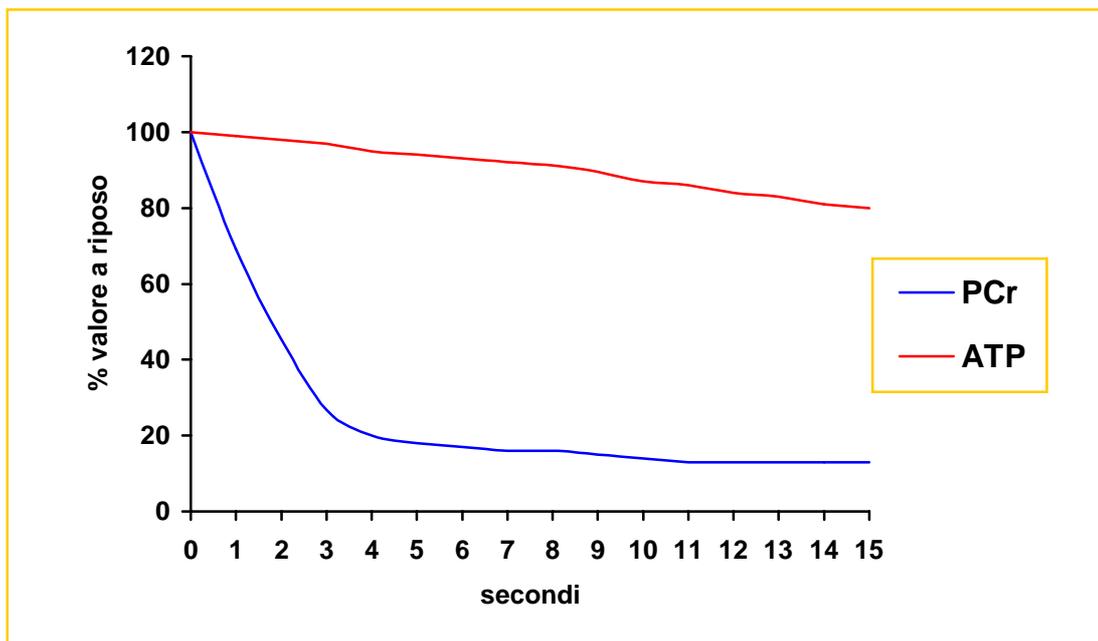
Fosfocreatina: deposito di energia immediatamente utilizzabile.

I livelli di ATP devono essere mantenuti relativamente costanti anche durante periodi di intensa richiesta energetica. La rapida sintesi di ATP da fosfocreatina fornisce un contributo fondamentale al mantenimento dei livelli di ATP nei primi 4-6 secondi di uno sforzo massimale (*tamponamento energetico temporale*).

I livelli di fosfocreatina nel muscolo sono 3-5 volte superiori a quelli dell'ATP. La fosfocreatina è rapidamente convertita (4-5 sec) in creatina durante uno sforzo sovramassimale. Nella fase di recupero dallo sforzo le scorte di creatina vengono ripristinate, con un tempo di emivita di 30 sec (occorrono 30 sec per riformare il 50% delle scorte di creatina; 2-3 min per il ripristino totale delle scorte di fosfocreatina). Nella fase di recupero sarà l'ATP sintetizzato con meccanismo aerobico che permette la sintesi della fosfocreatina.

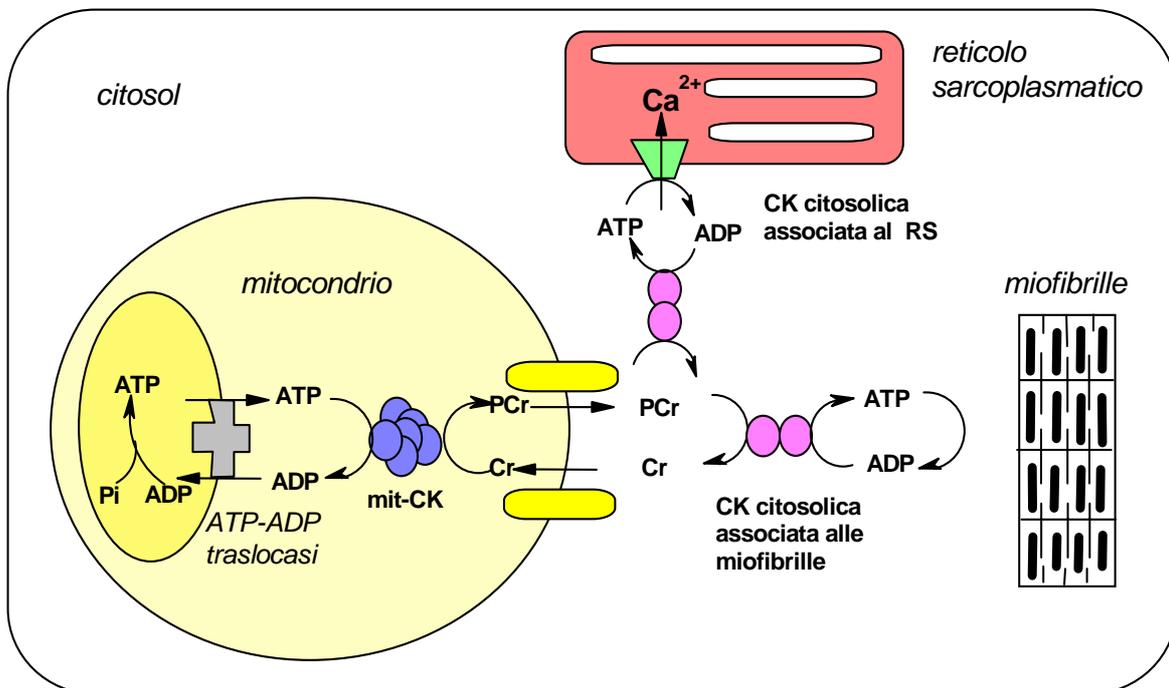
4) Tamponamento energetico temporale della fosfocreatina

Il grafico successivo illustra il fenomeno del tamponamento energetico temporale da parte della fosfocreatina. In ascissa è indicato il tempo in secondi dall'inizio dell'esercizio sovramassimale, in ordinata le concentrazioni di ATP (in rosso) e di fosfocreatina (in blu) espresse in percentuale delle concentrazioni a riposo. Si noti che le concentrazioni di fosfocreatina scendono rapidamente e drasticamente durante i primi 4-6 sec, mentre le concentrazioni di ATP si mantengono relativamente stabili.



Il meccanismo del tamponamento energetico rapido da parte del sistema creatina/fosfocreatina è un meccanismo esclusivamente anaerobico che spiega l'importante ruolo funzionale energetico della fosfocreatina negli esercizi rapidi ed ad alta intensità.

5) Tamponamento energetico spaziale della fosfocreatina



Nel muscolo scheletrico e cardiaco la fosfocreatina agisce anche come effettore dell'accoppiamento tra produzione di energia nei mitocondri ed utilizzazione di energia a livello delle miofibrille.

Sono stati identificati

- **isoenzimi mitocondriali (*mit-CK*) ed**
- **isoenzimi citosolici (*cit-CK*) della creatina chinasi.**

Gli isoenzimi mitocondriali sono localizzati nello spazio intermembrana e sono associati funzionalmente all'attività dell'ATP/ADP traslocasi (o traslocasi degli adenin-nucleotidi), il trasportatore che permette l'uscita di ADP dal mitocondrio ed il simultaneo ingresso di ATP. La mit-CK potrebbe contribuire al controllo della sintesi dell'ATP mitocondriale. Infatti nel momento stesso in cui l'ATP perviene all'esterno della membrana mitocondriale interna diventa substrato della creatina chinasi e si formano fosfocreatina ed ADP. L'ADP può rientrare immediatamente nel mitocondrio (tramite la ATP/ADP traslocasi), favorendo così la sintesi di ATP con il meccanismo della fosforilazione ossidativa (vedi capitolo sul controllo respiratorio da parte dell'ADP). La fosfocreatina attraversa la membrana mitocondriale esterna, grazie al canale formato dalla proteina porina, diffonde nel

citosol e perviene alle miofibrille. Qui diventa substrato della CK citosolica e forma ATP e creatina. La creatina ritorna nello spazio intermembrana mitocondriale a disposizione della mit-CK.

Sulla base di quanto sopra descritto sembra possibile ipotizzare un ruolo per il sistema creatina/fosfocreatina (ed in particolare per la mit-CK e per alcune forme dell'cit-CK) nei meccanismi aerobici di sintesi dell'ATP (fosforilazione ossidativa). Tale ipotesi è rafforzata dall'osservazione che i livelli di mit-CK e di una isoforma della cit-CK (CK-MB, vedi sotto) sono più elevati nelle fibre di tipo I (fibre rosse di tipo slow-oxidative) e rispondono con un incremento ad allenamenti di resistenza aerobica (endurance). Tuttavia, come vedremo più avanti, l'assunzione di dosi supplementari di creatina per via orale non migliora le prestazioni di tipo aerobico.

6) Gli isoenzimi della creatina chinasi citosolica.

L'enzima CK citosolico è un dimero che può essere formato da due diverse catene polipeptidiche, chiamate **subunità B** (da Brain: cervello) e **subunità M** (da Muscle: muscolo). Le catene B e M sono codificate da geni diversi localizzati sul cromosoma 14 (CK-B) e sul cromosoma 19 (CK-M).

La proteina completa può essere

- **un omodimero (cioè essere formata da due subunità identiche) → MM o BB,**
- **un eterodimero (formata da due catena diverse) → MB**

Possiamo, quindi, distinguere tre **isoenzimi** (enzimi con struttura diversa che catalizzano la stessa reazione)

CK-BB / CK-MB / CK-MM

Esaminiamo la seguente tabella che fornisce i dati sull'attività enzimatica CK totale e sulla distribuzione percentuale dei diversi isoenzimi citosolici in vari organi e tessuti:

	attività CK totale U/g	CK-BB %	CK-MB %	CK-MM %
muscolo scheletrico	1093	-	4	96
cervello	200	100	-	-
cuore	187		45	55
polmone	15	33	-	66
rene	10	90	-	10
fegato	3	100	-	-

Osservazioni sulla tabella:

1. Il tessuto con la più elevata attività creatin-chinasica è il muscolo scheletrico, seguito a distanza dal muscolo cardiaco e dal cervello; gli altri organi hanno attività molto basse.
2. La CK del cervello è quasi esclusivamente di tipo CK-BB; nel muscolo scheletrico predomina l'attività CK-MM (96%) (con una piccola percentuale di CK-MB: 4%), mentre nel muscolo cardiaco troviamo quasi ugualmente rappresentate l'isoenzima CK-MB (45%) e CK-MM (55%).
3. L'isoenzima CK-MB è espresso principalmente nel cuore.

La concentrazione elevata nel muscolo cardiaco e nelle fibre di tipo I del muscolo scheletrico ed il suo aumento nel muscolo scheletrico in seguito ad allenamenti di “*endurance*” hanno suggerito una relazione funzionale tra isoenzima MB e produzione aerobica di ATP.

L'isoenzima MM del muscolo scheletrico è probabilmente coinvolto nei meccanismi anaerobici alattacidi.

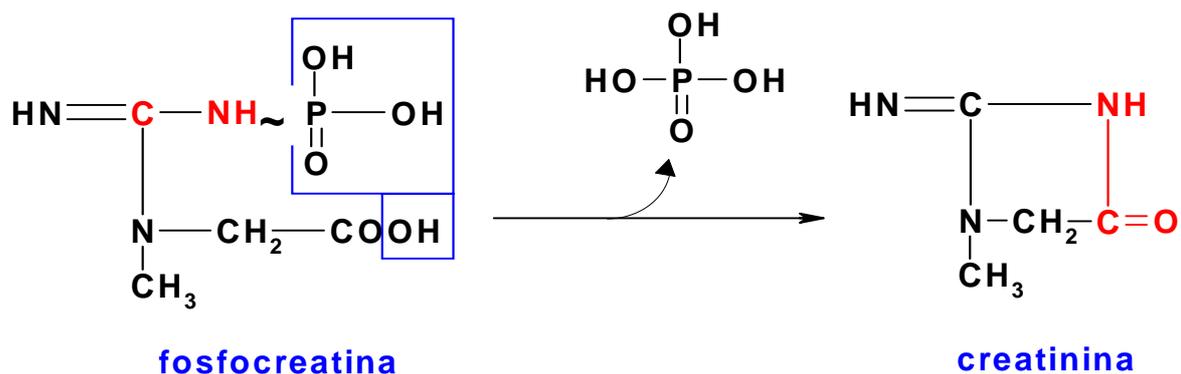
Questa distribuzione tissutale degli isoenzimi della CK è stata sfruttata nella diagnostica di laboratorio. La CK appartiene, infatti, al gruppo dei cosiddetti “*enzimi della citolisi*”, cioè enzimi intracellulari che vengono rilasciati nel circolo sanguigno in condizioni patologiche in cui è presente un danno alla membrana cellulare.

Tra le condizioni patologiche che determinano un aumento dell'attività CK nel sangue ricordiamo: l'infarto del miocardio (per necrosi delle cellule miocardiche da ischemia), le distrofie muscolari ereditarie, le lesioni traumatiche o infiammatorie muscolari. Inoltre un aumento ematico della creatina chinasi si verifica spesso dopo un esercizio muscolare intenso e prolungato (in questi casi l'aumento della CK-MM si manifesta 12-24 ore dopo l'esercizio e può protrarsi per 2-3 giorni).

Una diagnosi più specifica di infarto miocardico è consentita dalla determinazione dell'isoenzima MB nel siero (espresso come percentuale della CK totale). Un aumento della CK-MB al di sopra del 6% della CK totale permette una diagnosi già a 6 ore dall'inizio dei sintomi clinici. Altri enzimi della citolisi che aumentano più tardivamente sono la lattato deidrogenasi (per la quale esistono anche degli isoenzimi miocardici) e la GOT.

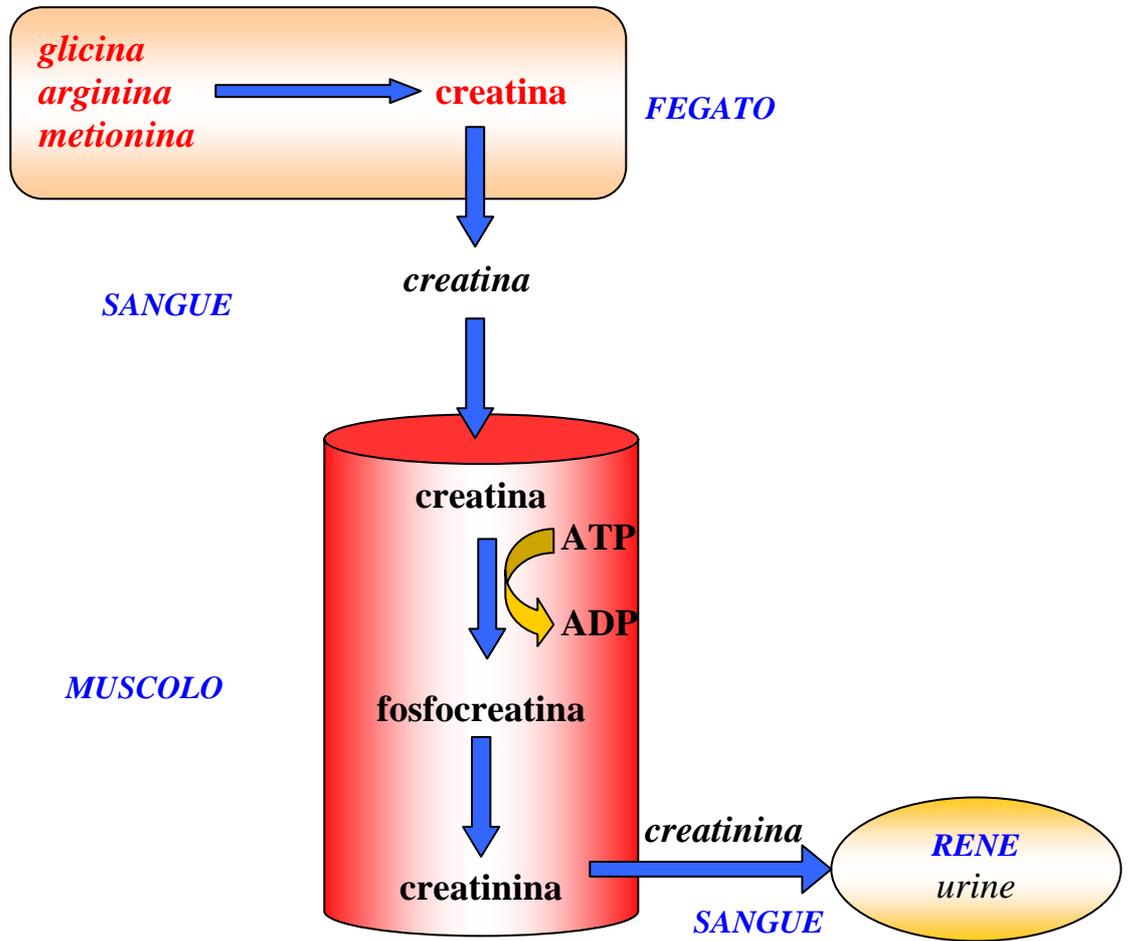
7) Conversione della creatina in creatinina

La conversione di creatina in creatinina produce un'inattivazione funzionale della molecola. Si tratta di una reazione chimica spontanea tra il carbossile del gruppo acetico ed il gruppo amminico della stessa molecola con formazione di un legame intramolecolare (Nota: in realtà è la fosfocreatina che si converte in creatinina e fosfato inorganico).



La creatinina è una forma inattiva di creatina che deve essere eliminata dall'organismo (catabolita terminale): viene filtrata a livello renale ed eliminata con le urine. La quantità di creatinina eliminata giornalmente con le urine è proporzionale alla massa muscolare ed è molto costante in ogni individuo. Tutta la creatinina filtrata dai glomeruli renali viene eliminata con le urine (non ci sono fenomeni di riassorbimento tubulare per la creatinina) e la sua eliminazione costituisce un buon indice della filtrazione glomerulare. E' noto che un incremento della concentrazione ematica di creatinina (**creatininemia**) rappresenta un indice sensibile di danno renale.

8) Schema del metabolismo della creatina



9) Integrazione alimentare di creatina.

L'assunzione di alte dosi orali di creatina per un breve periodo è in grado di aumentare la concentrazione muscolare di creatina (circa il 10-20%) e quella di fosfocreatina (circa il 6-10%).

I dati presenti in letteratura mostrano una notevole variabilità (soprattutto nei valori di fosfocreatina) che potrebbe essere dovuta a problemi metodologici o a variabilità individuale nell'assorbimento ed il trasporto della creatina orale. I risultati più recenti con la tecnica della spettroscopia ^{31}P -NMR confermano incrementi di solo il 6% con dosi orali di 20g/die per 4 giorni.

Una monografia riassume così numerosi risultati: *“short term creatine supplementation (15 to 30 g/d for 5 to 7-d) has been reported to increase TCr by 15 to 30% and PCr stores by 10 to 40%.”*

Questo aumento sembra si traduca in un miglioramento delle prestazioni nel caso di esercizi massimali di breve durata ripetuti, di tipo intermittente (serie ripetute di esercizi ad alta intensità separate da alcuni minuti di riposo), ma non influenza esercizi prolungati di tipo aerobico (endurance).

Inoltre alcuni autori hanno riportato che la somministrazione orale di creatina provoca un aumento della velocità di risintesi della fosfocreatina durante il recupero, anche se tale dato non è stato confermato recentemente. Tuttavia i meccanismi che collegano la somministrazione orale di creatina al miglioramento delle prestazioni non sono affatto chiari.

E' stato anche suggerito che la creatina possa stimolare la sintesi di miosina muscolare. Inoltre, per spiegare l'effetto ergogeno di un carico orale di creatina è stata recentemente dimostrata una riduzione dei tempi di rilassamento muscolare.

E' bene esaminare alcuni dettagli della problematica.

● *Dosi*

Incominciamo dalle dosi: cosa si intende per dosi alte o basse?

Il parametro di riferimento è il valore del turn-over giornaliero della creatina, che come abbiamo già visto è di circa 2 g al giorno. Tenendo presente che una parte della creatina assunta per via orale non viene assorbita a livello intestinale, si può dire che una dose di 2,5 g al giorno rappresenta una dose equivalente al turn-over giornaliero. Dosi 2 volte superiori al turn-over giornaliero (5 g/die) costituiscono, quindi, un carico di creatina e sono già in grado di provocare aumenti massimali delle concentrazioni muscolari di creatina. Dosi più elevate di 2 volte il turn-over giornaliero sono da considerarsi dosi alte: sono stati utilizzati dosaggi di 20-30 g al giorno.

● **Effetti sulle prestazioni fisiche.**

Una monografia (Journal of Exercise Physiology vol.1 1998) riassume così i dati in letteratura:

“short-term creatine supplementation (20 to 25 g/d for 5 to 7-d) has been reported to improve maximal power/strength (5-15%), work performed during sets of maximal effort muscle contractions (5-15%), single-effort sprint performance (1-5%), and work performed during repetitive sprint performance (5-15%). Moreover, long-term supplementation of creatine or creatine containing supplements (15 to 25 g/d for 5 to 7-d and 2 to 25 g/d thereafter for 7 to 84-d) has been reported to promote significantly greater gains in strength, sprint performance, and fat free mass during training in comparison to matched-paired controls”.

Tuttavia diversi studi non hanno confermato gli effetti della somministrazione orale di creatina, soprattutto nel caso di singoli sprints di 6-30 sec.

● **Effetti collaterali**

Non sono stati riportati segni di danno epatico o renale dopo somministrazione orale di creatina. L'unico effetto riportato in numerosi studi è un aumento del peso corporeo.

Un esempio di valutazione degli effetti della assunzione orale di creatina.

(dati da: Vandenberghe et al. Journal of Applied Physiology 83:2055-2063,1997.)

La seguente tabella mostra le concentrazioni muscolari di ATP e PCr e il rapporto PCr/ATP a riposo prima e dopo un supplemento orale di creatina ad alta dose (20 g/die per 4 giorni) e dopo 5 e 10 settimane di una dose bassa di creatina (5 g/die) o di un placebo in associazione con l'allenamento (3 volte a settimana). I valori sono le medie \pm l'errore standard (SE) di 9 soggetti nel gruppo placebo e 10 soggetti nel gruppo creatina. L'asterisco indica una differenza statisticamente significativa in confronto con il placebo: $p < 0,05$.

	pre	High dose 4 days	Training + low dose 5 wk	10 wk
ATP mmol/Kg wet wt				
Placebo group	5,5 \pm 0.2	5,6 \pm 0.2	5,7 \pm 0.3	5,4 \pm 0.3
Creatina group	5,6 \pm 0.2	5,4 \pm 0.2	5,4 \pm 0.2	5,4 \pm 0.2
Pcr mmol/Kg wet wt				
Placebo group	22,5 \pm 0.7	22,2 \pm 1.1	22,4 \pm 1.1	22,5 \pm 1.3
Creatina group	23,0 \pm 0.5	24,2 \pm 0.8	24,5 \pm 1.2	24,2 \pm 1.1
Pcr/ATP				
Placebo group	4,1 \pm 0.1	4,0 \pm 0.1	3,9 \pm 0.1	4,2 \pm 0.1
Creatina group	4,1 \pm 0.1	4,5 \pm 0.2	4,5 \pm 0.2	4,5 \pm 0.1

Notare l'incremento (in rosso) di appena il 5-6% nei valori di fosfocreatina, che si raggiunge già dopo 4 giorni e si mantiene fino a 2 mesi di trattamento. Come atteso i valori di ATP muscolare a riposo non sono influenzati dal trattamento con creatina. Notare che le concentrazioni di fosfocreatina sono 4 volte quelle dell' ATP.

In questa tabella sono riportati i valori di escrezione urinaria nelle 24 ore di creatina, creatinina, urea, e urati prima, durante il primo e il terzo giorno di assunzione orale di creatina ad alte dosi (20 g/die) e dopo 10 settimane di assunzione di creatina a basse dosi (5g/die) o di placebo in associazione con allenamento (3 ore a settimana).

	pre	Highdose		Training + low dose
		Day 1	Day 3	10 wk
Creatina, g/24 h				
Placebo group	0.024 ±0.008	0.028±0.011	0.035±0.011	0.038±0.011
Creatina group	0.035±0.018	8.90±1.47*	10.36±1.13	3.59±0.59
Creatinina, g/24 h				
Placebo group	1.17±0.08	1.12±0.09	1.14±0.08	1.13±0.10
Creatina group	1.19±0.08	1.44 0.06*	1.53 0.05*	1.56 0.23
Creatina totale, g/24 h				
Placebo group	1.19 ±0.08	1.15±0.08*	1.18±0.09	1.17±0.11
Creatina group	1.22±0.09	8.35±1.46*	12.39±1.12	5.16±0.88*
Urea, g/24 h				
Placebo group	18.43±1.61	18.11±2.78	18.02±1.97	19.36±2.43
Creatina group	18.82±2.27	22.03±2.42	22.17±1.06	19.94±2.01
Urati, g/24 h				
Placebo group	666±28	326±48	338±36	327±31
Creatina group	314±40	494±84	428±39	382±94

“Total creatine“ indica la somma di creatina e creatinina. L'asterisco indica una differenza statisticamente significativa in confronto con il placebo: $p < 0,05$.

Notare gli incrementi marcati della escrezione urinaria di creatina in seguito all'assunzione orale di questa molecola: i valori (incorniciati in rosso) passano da 36 mg a 10 gr nei primi 3 giorni di trattamento ad alte dosi o si stabilizzano a valori di 3,5 gr dopo 10 settimane a basse dosi. Come abbiamo già detto, in condizioni normali l'escrezione urinaria avviene in forma di creatinina (escrezione di 1,2 g, riquadro in blu nella tabella) e solo in minima parte direttamente sotto forma di creatina (24-35 mg sono i valori prima del trattamento con creatina; riquadro rosso).

La somministrazione orale di creatina sconvolge questo andamento fisiologico e, in queste condizioni, quantità elevate di creatina sono escrete direttamente senza conversione in creatinina (riquadro rosso). L'escrezione di urea non subisce un incremento significativo, dimostrando che la maggior parte dell'azoto non viene metabolizzato, ma viene escreto legato alla creatina.

Si noti, infine, che l'escrezione totale di creatina (creatina + creatinina; riquadro verde) dopo 10 settimane di trattamento è esattamente uguale alla dose somministrata (circa 5 gr/die). Si stabilisce un nuovo equilibrio dove il supplemento di creatina (circa 4 gr se teniamo presente l'assorbimento intestinale) e l'apporto con gli alimenti (circa 1 g) viene praticamente eliminato (3,5 gr vengono eliminati come creatina e circa 1,5 g vanno a rimpiazzare la quota eliminata come creatinina). E' probabile che in queste condizioni la sintesi endogena di creatina sia fortemente inibita.

La prossima tabella riporta i dati sulla forza muscolare massimale in 6 diversi esercizi prima e dopo 5 e 10 settimane di integrazione orale con creatina a basse dosi o con placebo ed in associazione all'allenamento. I risultati sono medie \pm SE e sono espressi in pounds. L'asterisco indica una differenza statisticamente significativa in confronto con il placebo: $p < 0,05$.

	pre	training	
		5 wk	10 wk
Leg press			
Placebo group	231 \pm 18	272 \pm 25	288 \pm 24
Creatina group	244 \pm 20	292 \pm 20	348 \pm 30*
Bench press			
Placebo group	48 \pm 3	54 \pm 4	68 \pm 4
Creatina group	47 \pm 2	59 \pm 3	68 \pm 4
Leg curl			
Placebo group	28 \pm 2	32 \pm 2	39 \pm 4
Creatina group	27 \pm 2	36 \pm 3	44 \pm 2
Leg extension			
Placebo group	51 \pm 4	71 \pm 4	80 \pm 8
Creatina group	54 \pm 4	85 \pm 7	100 \pm 8*
Squat			
Placebo group	57 \pm 4	58 \pm 4	71 \pm 5
Creatina group	57 \pm 3	80 \pm 6	83 \pm 5
Shoulder press			
Placebo group	50 \pm 2	56 \pm 3	62 \pm 2
Creatina group	52 \pm 3	60 \pm 3	68 \pm 3

Si nota che dopo 10 settimane ci sono delle differenze statisticamente significative tra gruppo placebo e gruppo creatina di circa il 20% in alcuni tipi di esercizi. Leggendo il testo del lavoro originale viene però specificato che il carico di lavoro di ciascun soggetto era stato modificato dopo le prime 5 settimane e che l'intensità dell'allenamento era stato maggiore nel gruppo creatina dalla 6 alla 10 settimana. Ciò perché l'intensità di ciascuna ripetizione dell'allenamento doveva essere pari al 70% della forza massimale espressa dall'individuo ed il valore del carico allenante era stato valutato all'inizio dell'allenamento e dopo 5 settimane. Queste considerazioni fanno capire le difficoltà di valutazione che si incontrano in questi esperimenti, specialmente quando il numero dei soggetti valutati è basso (10 nel gruppo creatina e 9 nel gruppo placebo) e le variazioni di piccola entità. E' difficile escludere che nel gruppo trattato con creatina non siano stati inclusi soggetti con una migliore risposta genetica all'allenamento di potenza. Comunque, limitandoci ai dati delle prime 5 settimane, non si osservano variazioni statisticamente significative tra il gruppo placebo ed il gruppo creatina. Le differenze più chiare sono quelle indotte dall'allenamento (confrontare i valori pre con quelli post-training). Inoltre la sospensione dell'allenamento ha portato ad una regressione delle prestazioni anche continuando la somministrazione orale di creatina. Ciò dimostra che l'eventuale miglioramento della prestazione non è la semplice conseguenza diretta dell'incremento dei livelli di fosfocreatina muscolare, ma un potenziamento della risposta all'allenamento.

Un corretto schema di allenamento, accompagnato dalla normale assunzione di creatina con gli alimenti, è il vero fattore determinante per il miglioramento della prestazione. Comunque, sulla base di dati come quelli sopra riportati, la creatina è diventata la sostanza ergogena con il più alto fatturato in ambito sportivo.

CAPITOLO XII

Biochimica dell'esercizio fisico

- 1) *Le fonti energetiche della contrazione muscolare: meccanismi anaerobici alattacidi, meccanismi anaerobici lattacidi, meccanismi aerobici*
- 2) *Potenza, capacità e resa energetica delle vie metaboliche coinvolte nella sintesi di ATP*
- 3) *Equilibrio acido-base ed acido lattico*
- 4) *La famiglia dei trasportatori per i monocarbossilati (MonoCarboxylate Transporter: MCT)*
- 5) *La produzione di lattato durante lo sforzo muscolare e la soglia anaerobica*
- 6) *La produzione di acido lattico nel singolo muscolo*
- 7) *Potenza e capacità lattacida*
- 8) *Debito di Ossigeno*
- 9) *Utilizzazione del lattato*
- 10) *Equivalentente calorico degli alimenti*
- 11) *Il quoziente respiratorio*
Richiami di Chimica generale: acidi e basi

1) Le fonti energetiche della contrazione muscolare

In condizioni di aumentata richiesta energetica, anche durante uno sforzo muscolare massimale, la concentrazione di ATP subisce una riduzione molto limitata, nonostante la concentrazione di ATP a riposo (circa 5 mmoli per kg di peso umido) sarebbe sufficiente a fornire energia per soli 1-1,5 secondi. Ciò è possibile grazie all'esistenza di meccanismi di sintesi dell'ATP che vengono rapidamente attivati in queste condizioni.

Possiamo distinguere i meccanismi di sintesi di ATP per la contrazione muscolare in tre classi principali:

- **meccanismi anaerobici alattacidi**
- **meccanismi anaerobici lattacidi**
- **meccanismi aerobici**

● Meccanismi anaerobici alattacidi:

A) Sintesi di ATP da fosfocreatina nella reazione catalizzata dalla creatina chinasi (CK).

La rapida sintesi di ATP da fosfocreatina fornisce un contributo fondamentale al mantenimento dei livelli di ATP nei primi 4-6 secondi di uno sforzo massimale. Abbiamo già discusso su questo meccanismo nel capitolo sul metabolismo e le funzioni della creatina.

B) Sintesi di ATP nella reazione catalizzata dall'enzima miochinasi.

L'enzima **adenilato chinasi** (detto anche **miochinasi** per la sua elevata attività a livello muscolare) catalizza la seguente reazione che permette di sfruttare l'energia chimica dell'ADP per la sintesi di ATP (vedi capitolo 1):



Questa reazione contribuisce a mantenere relativamente costanti le concentrazioni di ATP durante uno sforzo muscolare. Poiché nella cellula la concentrazione di ATP è maggiore di quella dell'ADP e quest'ultima è maggiore di quella dell'AMP, una piccola diminuzione della concentrazione dell'ATP causa un aumento percentuale maggiore della concentrazione dell'ADP. Poiché l'ADP viene convertito in AMP, grazie alla reazione miochinasica, l'aumento percentuale della concentrazione di AMP sarà ancora maggiore. A causa di questa relazione una piccola diminuzione della concentrazione dell'ATP durante lo sforzo muscolare causa una grande variazione della concentrazione dell'AMP. Ciò rende **l'AMP un eccellente segnale dello stato energetico della cellula**. Alti livelli di AMP indicano una aumentata richiesta energetica. *L'AMP è in grado di legarsi a diversi enzimi e di modulare l'attività enzimatica.* Le molecole che sono in grado di legarsi agli enzimi in un sito diverso da quello catalitico, regolandone l'attività, sono dette effettori allosterici. Gli effettori allosterici possono essere di tipo positivo (**attivatori dell'enzima**) o di tipo negativo (**inibitori dell'enzima**). Ricordiamo due importanti enzimi attivati dall'AMP:



La *fosfofruttochinasi* (PFK) è l'enzima della **glicolisi** che catalizza la conversione del fruttosio-6-fosfato in fruttosio-1,6-bisfosfato. Questa reazione è considerata la tappa limitante la velocità dell'intera via glicolitica e l'attivazione della PFK da parte dell'AMP determina un aumento della velocità del flusso glicolitico (un effetto utile in condizioni di aumentata richiesta energetica).

La *glicogeno fosforilasi* è l'enzima della **glicogenolisi** ed un aumento della degradazione dei depositi di glicogeno fornisce il substrato per sostenere l'aumento del flusso glicolitico. L'attivazione della glicogeno fosforilasi muscolare da parte dell'AMP permette quindi di coordinare la liberazione del glucosio dai depositi di glicogeno con le effettive richieste energetiche della fibra muscolare. Bisogna ricordare anche gli altri meccanismi di attivazione della glicogenolisi muscolare (vedi capitolo VI sul glicogeno): 1) l'attivazione dovuta all'aumento delle concentrazioni di calcio citosolico durante la contrazione muscolare (il calcio si lega alla calmodulina che attiva l'enzima fosforilasi kinasi); 2) l'attivazione ormonale: l'ormone adrenalina, prodotto nella midollare del surrene, è in grado di interagire con specifici recettori posti sulla membrana delle cellule muscolari attivando, tramite il secondo messaggero cAMP ed una cascata di fosforilazione, la glicogenolisi.

Con un meccanismo più complesso (che non discuteremo) l'incremento della concentrazione di AMP è in grado di provocare un'aumento dell'ingresso di Acil-CoA all'interno del mitocondrio mediante il sistema della carnitina e, quindi, un *aumento del flusso di substrati nella beta-ossidazione degli acidi grassi*.

La **carica energetica** è definita dalla seguente formula:

$$\frac{[ATP] + 0.5 [ADP]}{[ATP] + [ADP] + [AMP]}$$

Il numeratore è la somma dell'ATP già disponibile più quello acquisibile convertendo 2 ADP in ATP con la reazione miochinasi (poiché sono necessarie 2 molecole di ADP per sintetizzare una molecola di ATP la potenziale concentrazione di ATP è pari alla metà di quella dell'ADP).

Il denominatore indica la concentrazione totale di nucleotidi adenilici (ATP+ADP+AMP). In definitiva la *carica energetica esprime il contenuto di ATP (attuale + potenziale) come frazione molare del contenuto totale di nucleotidi adenilici*. In condizioni fisiologiche, in tutti gli organismi e in tutte le cellule la **carica energetica è di circa 0,85** (la maggior parte dei nucleotidi adenilici si trovano sotto forma di ATP). Le condizioni di bassa carica energetica attivano le reazioni del catabolismo ossidativo, ossia la degradazione dei substrati, per fornire energia chimica e rigenerare ATP.

● Meccanismi anaerobici lattacidi.

Come abbiamo già discusso la produzione di lattato ha luogo nella 11^o reazione della *glicolisi anaerobica* allo scopo di riossidare il $\text{NADH}+\text{H}^+$ e rifornire di NAD^+ la reazione catalizzata dalla gliceraldeide 3 fosfato deidrogenasi. La resa energetica per mole di glucosio libero è di 2 ATP e per mole di glucosio contenuto nel glicogeno è di 3 ATP. Discuteremo più avanti le condizioni di attività muscolare nelle quali il piruvato è convertito in lattato (vedi soglia anaerobica).

● Meccanismi aerobici

Tutti i meccanismi del catabolismo degli zuccheri (glicolisi aerobica), dei grassi (beta-ossidazione) e degli aminoacidi (transdesaminazione ed altre reazioni particolari) che consentono l'ingresso di scheletri carboniosi nella decarbossilazione ossidativa del piruvato e nelle reazioni del ciclo di Krebs, con conseguente rifornimento di coenzimi ridotti per la catena respiratoria e sintesi di ATP nella fosforilazione ossidativa.

2) Potenza, capacità e resa energetica delle vie metaboliche coinvolte nella sintesi di ATP.

Potenza: quantità di energia nell'unità di tempo. Nel caso di un meccanismo di sintesi di ATP: quantità di ATP sintetizzato nell'unità di tempo.

Capacità: La quantità totale di ATP che si potrebbe sintetizzare se tutti i substrati a disposizione per quella via metabolica fossero consumati.

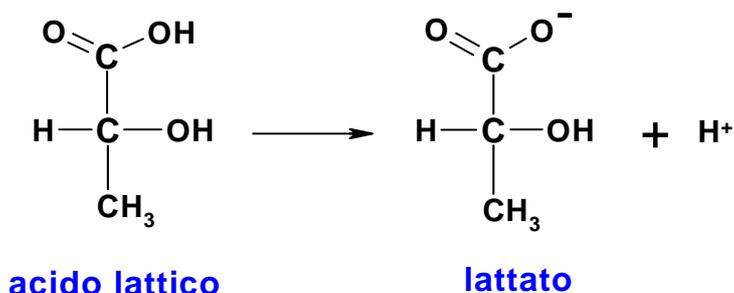
Resa energetica: moli di ATP sintetizzato per mole di substrato iniziale consumato.

meccanismi di sintesi di ATP	Potenza in moli ATP/min	Capacità in moli ATP totali	Resa in ATP per mole di substrato
anaerobici alattacidi	3,8	0,4	1 ATP per mole di fosfocreatina (reazione catalizzata da creatina chinasi)
anaerobico lattacido	1,9	1,2	2 ATP per mole di glucosio (glicolisi anaerobica) 3 ATP per mole di glucosio da glicogeno (glicogenolisi + glicolisi anaerobica)
aerobici	1	∞	36-38 ATP per mole di glucosio (glicolisi+ decarb. oss. piruvato+ ciclo di Krebs); 129 ATP per mole di palmitato (beta-ossidazione + ciclo di Krebs)

I meccanismi anaerobici alattacidi e quelli lattacidi sono quindi i meccanismi più veloci nella produzione di ATP (maggior potenza) ma hanno un' autonomia molto limitata (capacità). I meccanismi aerobici sono più lenti (bassa potenza) ma hanno una riserva energetica praticamente infinita (ricordiamo che il nostro organismo ha circa 12 Kg di riserve lipidiche).

3) Equilibrio acido-base ed acido lattico

Prima di esaminare gli aspetti funzionali del metabolismo dell'acido lattico, esaminiamo brevemente alcune caratteristiche chimiche di questa molecola. Si tratta di un ossiacido il cui gruppo carbossilico può dissociarsi in soluzione e liberare un idrogenione (protone):



Il valore di pK dell'acido lattico, che dà una indicazione sulla forza dell'acido, è 3,87 (vedi richiami di chimica generale su acidi e basi alla fine del capitolo).

Conoscendo il valore di pH intracellulare (pH 7) e il pK dell'acido lattico (pK 3,87), possiamo calcolare il rapporto tra la forma dissociata (R-COO⁻ lattato) e quella indissociata (R-COOH ac. lattico) mediante l'equazione di **Henderson Hasselbach**:

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{lattato}]}{[\text{lattico}]}$$

$$7 = 3,87 + \log \frac{[\text{lattato}]}{[\text{lattico}]}$$

$$\log \frac{[\text{lattato}]}{[\text{lattico}]} = 3,13$$

$$\frac{[\text{lattato}]}{[\text{lattico}]} = 1349$$

Ciò significa che nell'ambiente intracellulare l'acido lattico è quasi completamente dissociato in due ioni: lo ione lattato con carica negativa (anione lattato) e l'idrogenione (H⁺) con carica positiva. Infatti ogni 1350 molecole, ben 1349 sono dissociate in ione lattato e idrogenione, mentre una sola non è dissociata. Se eseguiamo lo stesso calcolo per l'acido lattico presente nel sangue (pH ematico 7,4), troveremo che sono presenti 3388 molecole di lattato per ogni molecola di ac. lattico. La stessa situazione (predominanza quantitativa della forma dissociata) vale anche per i numerosi acidi organici che abbiamo incontrato nello

studio delle vie metaboliche, anche se in questi appunti abbiamo spesso indicato la forma indissociata.

Una produzione eccessiva di acido lattico durante il metabolismo tende ad abbassare il pH intracellulare. Infatti, come abbiamo visto l'acido lattico tende a dissociarsi in lattato e H^+ . Tale meccanismo contribuisce (insieme a numerosi altri) a determinare il fenomeno della fatica. L'incremento della concentrazione di idrogenioni (cioè la diminuzione del pH) inibisce l'enzima fosfofruttochinasi, l'enzima che determina la velocità dell'intera via glicolitica. Quindi un abbassamento eccessivo del pH inibisce la glicolisi e la produzione di lattato. La riduzione della velocità della glicolisi comporta la riduzione di potenza che si osserva in uno sforzo lattacido prolungato. In un certo senso si può parlare di un sistema di controllo che protegge da diminuzioni eccessive del pH intracellulare, che potrebbero determinare deterioramenti irreversibili alle strutture cellulari.

Bisogna, però, ricordare che la concentrazione di idrogenioni non aumenta in parallelo a quella del lattato, ma intervengono dei meccanismi di controllo o tamponamento del pH:

- a) All'interno delle fibre muscolari (come in tutte le cellule) sono attivi dei sistemi tampone chimici (sali di acidi deboli con basi forti). Alcuni sono di natura inorganica (fosfati, bicarbonato), altri di natura organica (piccole molecole, peptidi e proteine; ad es. proteinati di potassio). E' attribuita capacità tampone anche a un dipeptide, la carnosina (alanil-istidina), presente in alta concentrazione nel muscolo scheletrico. Questi sistemi si oppongono alle variazioni di pH dovute alla produzione di acido lattico. Si ipotizza che la capacità di tamponamento intracellulare possa migliorare in seguito all'allenamento con lavoro lattacido o a certe strategie dietetiche.
- b) Le membrane plasmatiche cellulari contengono un sistema di simporto per lattato ed idrogenioni grazie al quale l'acido lattico viene rilasciato nello spazio extracellulare (vedi più avanti sezione su MCT). La capacità di trasportare lattato ed idrogenioni fuori dalla cellula è un meccanismo di difesa che previene un abbassamento eccessivo del pH intracellulare. Come vedremo il lattato può essere captato da altre fibre muscolari o diffondere nella circolazione sanguigna e subire diversi destini (ciclo di Cori, utilizzazione ossidativa nel cuore, etc.). Gli idrogenioni possono essere tamponati da sistemi tampone dei liquidi extracellulari e del sangue o essere captati da altre cellule.

Il sistema tampone bicarbonato/acido carbonico (HCO_3^- / H_2CO_3) è uno dei principali sistema tampone del sangue (ricordiamo, anche se non saranno discussi in questo capitolo, il ruolo dell'emoglobina e delle proteine come sistema tampone).

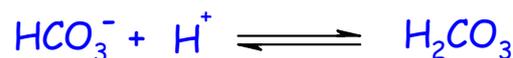
Scriviamo l'equazione di **Henderson Hasselbach** per il sistema tampone bicarbonato/acido carbonico:

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

In condizioni fisiologiche il rapporto bicarbonato/acido carbonico è di circa 20 (concentrazione del bicarbonato ematico: circa 25 mmoli/litro; acido carbonico: circa 1,25 mmoli/litro) e il pK 6,1:

$$7,4 \text{ (pH del sangue)} = 6,1 + 1,3 \text{ (cioè il log di 20)}$$

Ipotizziamo che un lavoro lattacido aumenti la concentrazione di H^+ nel sangue di 1 mmole per litro di sangue (10^{-3} M). Se non ci fossero sistemi tampone una concentrazione di H^+ pari a 10^{-3} M sarebbe equivalente a pH 3, incompatibile con la vita. In presenza del sistema bicarbonato/acido carbonico gli idrogenioni tendono a combinarsi con il bicarbonato per formare acido carbonico, spostando verso destra il seguente equilibrio:



La concentrazione di bicarbonato si ridurrebbe e la concentrazione di acido carbonico aumenterebbe di conseguenza. Immaginiamo di aver prodotto una quantità di acido lattico e, quindi, di idrogenioni, sufficiente a ridurre la concentrazione del bicarbonato a 24 mM e ad aumentare la concentrazione di acido carbonico a 2,25 mM (cioè una variazione di 1 mM). Il rapporto bicarbonato/acido carbonico (24/2,25) passerebbe da 20 a 10,66. Possiamo calcolare la variazione di pH con l'equazione di **Henderson Hasselbach**:

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

$$\text{pH} = 6,1 + 1,02 \text{ (cioè il log di 10,66)}$$

$$\text{pH} = 7,12$$

Si tratta ancora di una variazione consistente del pH fisiologico (da 7,4 a 7,12), ma non paragonabile a quella osservata in assenza di tamponi.

Inoltre il sistema bicarbonato / acido carbonico ha una proprietà unica che potenzia ulteriormente il suo potere tampone. L'acido carbonico è infatti in equilibrio con l'anidride carbonica in una reazione catalizzata dall'enzima *anidrasi carbonica*:



L'aumento della concentrazione di H_2CO_3 si traduce quindi in un aumento della quantità di CO_2 disciolta nel sangue. Ma l'anidride carbonica disciolta nel sangue è in equilibrio con l'anidride carbonica gassosa negli alveoli polmonari e può essere eliminata attraverso i polmoni. In definitiva se la pressione parziale della CO_2 negli alveoli polmonari non si modifica, la quantità di acido carbonico e CO_2 disciolta nel sangue tende a rimanere costante, mentre aumenta l'eliminazione di CO_2 con la respirazione. Nell'esempio precedente il bicarbonato si ridurrebbe a 24 mmoli/litro, mentre la concentrazione di H_2CO_3 (che non rappresenta la concentrazione di H_2CO_3 soltanto, ma quella di H_2CO_3 più la CO_2 disciolta ed è dipendente dalla pressione parziale della CO_2 alveolare) resterebbe pari a 1,25 mmoli/litro.

Il rapporto bicarbonato/acido carbonico passerebbe da 20 a 19,2. Possiamo calcolare la variazione di pH con l'equazione di **Henderson Hasselbach**:

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

$$\text{pH} = 6,1 + 1,28 \text{ (cioè il log di 19,2)}$$

$$\text{pH} = 7,38$$

Come si vede l'aumento dell'acidità ematica è ora trascurabile. E' importante, quindi, che una delle componenti del sistema tampone, la CO_2 , sia volatile e quindi eliminabile tramite la respirazione.

Durante un lavoro muscolare interviene un altro meccanismo che potenzia ulteriormente il funzionamento del sistema tampone bicarbonato/acido carbonico: nel lavoro intenso la stimolazione dell'attività respiratoria (in termini sia di frequenza che di profondità degli atti respiratori) provoca una riduzione della pressione parziale di CO_2 negli alveoli polmonari e una riduzione della concentrazione di CO_2 disciolta e di H_2CO_3 nel sangue. L'insieme di questi meccanismi (1) tamponamento chimico da parte del bicarbonato, 2) eliminazione polmonare della CO_2 in equilibrio con H_2CO_3 e 3) riduzione della pressione parziale di CO_2 negli alveoli polmonari causato dall'aumento dell'attività respiratoria) può tamponare anche immissioni consistenti di acidi organici, come l'acido lattico, nel sangue. Vediamo, per esempio, come varia il rapporto bicarbonato/acido carbonico, grazie ai tre meccanismi descritti, durante un lavoro intenso che aumenta la concentrazione idrogenionica di 10 mmoli per litro di sangue:

meccanismo 1: bicarbonato 15 mmoli/litro; acido carbonico 11,25; rapporto 1,33

meccanismo 2: bicarbonato 15 mmoli/litro; acido carbonico 1,25; rapporto 12

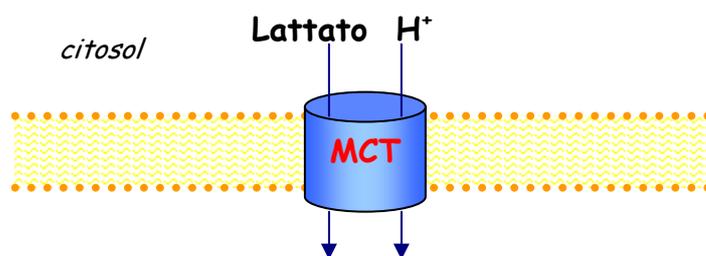
meccanismo 3: bicarbonato 15 mmoli/litro; acido carbonico 0,9; rapporto 16,66

Come si vede, la cosiddetta “**compensazione respiratoria**” (meccanismi 2 e 3), ha avuto un ruolo determinante nel riportare il rapporto a valori vicini a 20 e quindi nel tamponare il pH. Un rapporto di 16,66 determina infatti un pH ematico di circa 7,3. Questo esempio illustra il ruolo speciale dell’attività polmonare nella regolazione dell’equilibrio acido-base.

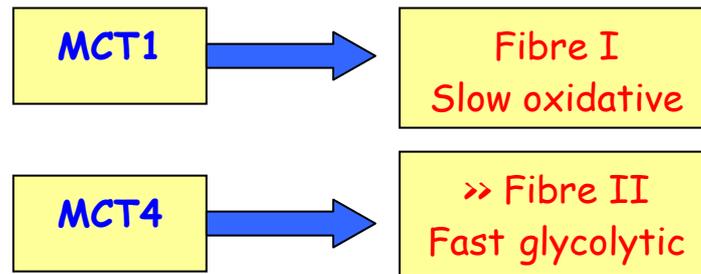
Il tamponamento dell’acido lattico, prodotto nel lavoro muscolare, da parte del sistema bicarbonato/acido carbonico, ha come risultato la formazione di CO₂ extra, che viene eliminata insieme alla CO₂ prodotta durante il metabolismo dalle reazioni di decarbossilazione ossidativa. Questa produzione extra di CO₂ fa salire il quoziente respiratorio (vedi più avanti) che può raggiungere valori superiori all’unità.

4) La famiglia dei trasportatori per i monocarbossilati (MonoCarboxylate Transporter: MCT).

Come abbiamo visto a pH fisiologico l’acido lattico è quasi interamente dissociato nell’anione lattato. Questa specie carica non può attraversare la membrana per diffusione semplice, ma richiede uno specifico sistema di trasporto fornito dai proton-linked **MonoCarboxylate Transporters (MCT)**. Questi trasportatori catalizzano la diffusione facilitata del lattato in simporto con un protone. Il trasporto avviene quindi in favore di un gradiente di concentrazione di lattato e di pH.



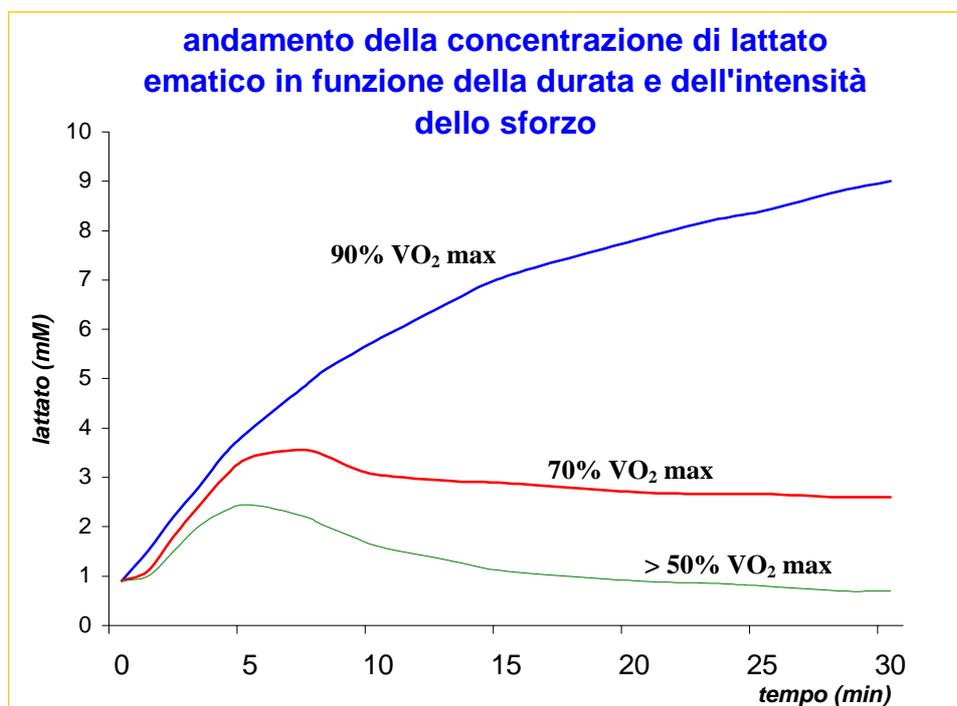
Sebbene il trasporto del lattato rappresenti il fenomeno quantitativamente più rilevante, bisogna ricordare che questi trasportatori possono trasportare anche altri importanti monocarbossilati metabolici, come il piruvato, i chetoacidi a catena ramificata e i corpi chetonici. Gli MCT rappresentano una famiglia di proteine e sono stati identificati almeno 9 diversi membri di questa famiglia nell’uomo. Le isoforme MCT1 e MCT4 sono presenti a livello del muscolo scheletrico, ed in particolare MCT4 sembra responsabile dell’efflusso di lattato dalle fibre di tipo II, mentre MCT1 è responsabile del trasporto di lattato nelle fibre di tipo I (vedi più avanti l’ipotesi dello shuttle del lattato). MCT4 presenta la maggior affinità per il lattato (con una Km di circa 20 mM) ed è espresso a livelli più elevati nelle fibre di tipo II (sebbene presente in tutti i tipi di fibre).



L'espressione di MCT1 è correlata con la capacità ossidativa del muscolo e con la sua capacità a captare il lattato dalla circolazione. I muscoli come il soleo che sono formati principalmente da fibre di tipo I contengono livelli elevati di MCT1, mentre i muscoli a prevalenza di fibre bianche, come il gastrocnemio o il tibiale anteriore, ne sono quasi completamente privi. MCT1 è anche il trasportatore presente a livello cardiaco. *L'allenamento di endurance aumenta i livelli di MCT1 nelle fibre rosse.* Sebbene una serie di studi suggeriscano che la capacità di trasporto di lattato/protoni possa essere migliorata con l'allenamento, è stata osservata una notevole variabilità interindividuale ed è possibile che ci sia una forte componente genetica nello sviluppo di questa capacità.

5) La produzione di lattato durante lo sforzo muscolare.

E' utile esaminare le variazioni di lattato ematico a diverse velocità di corsa.



I) sforzo di intensità inferiore al 50% della massima velocità di consumo di ossigeno (VO₂max)

A basse velocità di corsa la velocità di produzione e immissione di lattato nel circolo sanguigno è pari alla velocità della sua rimozione. La concentrazione di lattato ematico non varierà in modo significativo durante l'esercizio.

II) sforzo di intensità superiore al 50% della VO₂max, ma inferiore alla soglia del lattato.

Si osserva un innalzamento iniziale della concentrazione del lattato che raggiunge un massimo dopo circa 3-5 minuti; se la corsa continua, però, la concentrazione del lattato tende a scendere ai valori basali (o addirittura al di sotto di essi) e si mantiene pressoché costante per il resto dell'esercizio. All'inizio, insomma, c'è una specie di **gobba**.

Il fatto che l'apice della concentrazione non si raggiunga subito, ma alcuni minuti dopo l'inizio dello sforzo, è la conseguenza del tempo necessario per il passaggio nel sangue del lattato; la gobba, in altre parole, è l'espressione di ciò che si verifica all'inizio dello sforzo. Margaria (1975) riteneva che in quei primi istanti di impegno, il meccanismo aerobico non fosse ancora arrivato alla massima efficienza e che, di conseguenza, si dovesse liberare con il meccanismo lattacido una quantità di energia superiore a quella che bisognava produrre più tardi, quando

il meccanismo aerobico cominciava a funzionare a pieno regime. Nelle fasi iniziali ci sarebbe una ridotta efficienza nell'apporto di ossigeno dovuta a un ritardo negli adattamenti cardiocircolatori centrali e negli adattamenti circolatori periferici (perfusione muscolare). La gobba potrebbe anche dipendere da altri due fattori: il fatto che, dopo l'avvio dello sforzo, cambi mediamente la caratteristica delle fibre muscolari impegnate (diminuiscono quelle pallide ed aumentano quelle rosse) e il fatto che aumenti l'utilizzo periferico del lattato.

III) sforzo di intensità superiore alla prima soglia del lattato, ma inferiore alla soglia anaerobica.

Dopo la “gobba” iniziale, le concentrazioni di lattato si stabilizzano a valori superiori a quello basale (linea rossa grafico). All'aumentata produzione di lattato corrisponde un aumento della sua utilizzazione, con il raggiungimento di un livello di lattato stabile “allo stato stazionario” (vedi meccanismi di utilizzazione del lattato nella sezione 9).

Alcuni autori identificano una prima soglia del lattato che viene anche indicata con il termine di **LTV (lactate threshold velocity: velocità alla soglia del lattato)**. Per determinare tale valore soglia si misurano le concentrazioni di lattato dopo esercizi a diverse velocità di corsa: la velocità di corsa che precede il primo incremento del lattato al di sopra dei valori basali viene considerata il **valore LTV**. Non tutti gli autori concordano sull'esistenza di questa prima soglia del lattato.

IV) sforzo di intensità superiore alla soglia anaerobica.

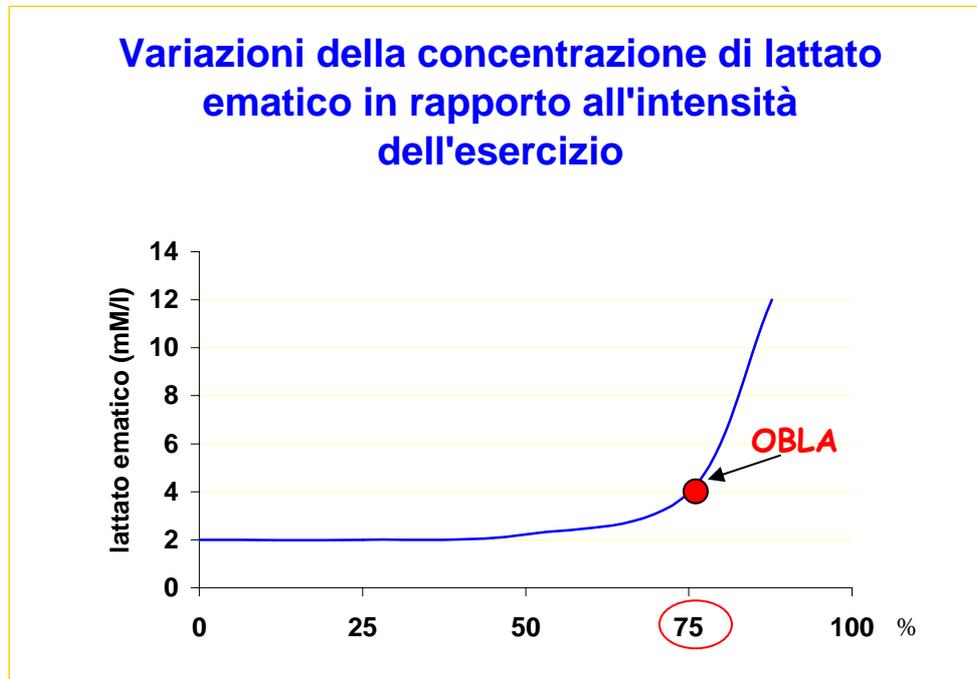
Il concetto che la glicolisi anaerobica venga attivata solo dopo che il metabolismo aerobico abbia quasi raggiunto la massima attivazione, alla cosiddetta “soglia anaerobica”, è generalmente accettato. In effetti l'intensità lavorativa alla quale si accumula lattato è correntemente usata come mezzo per determinare la potenza massima del metabolismo ossidativo.

Al di sopra di questa soglia di intensità lavorativa la concentrazione di lattato non si stabilizza, ma continua crescere durante la prosecuzione dello sforzo. Quindi la velocità di corsa alla soglia anaerobica (o l'intensità di lavoro, espressa come percentuale della VO_2max , alla soglia anaerobica) è quella massima che un atleta può mantenere per un certo tempo senza che la prosecuzione dello sforzo porti ad un continuo innalzamento della concentrazione nel sangue del lattato.

Sono stati ideati diversi metodi per valutare questa soglia e ne descriveremo brevemente alcuni:

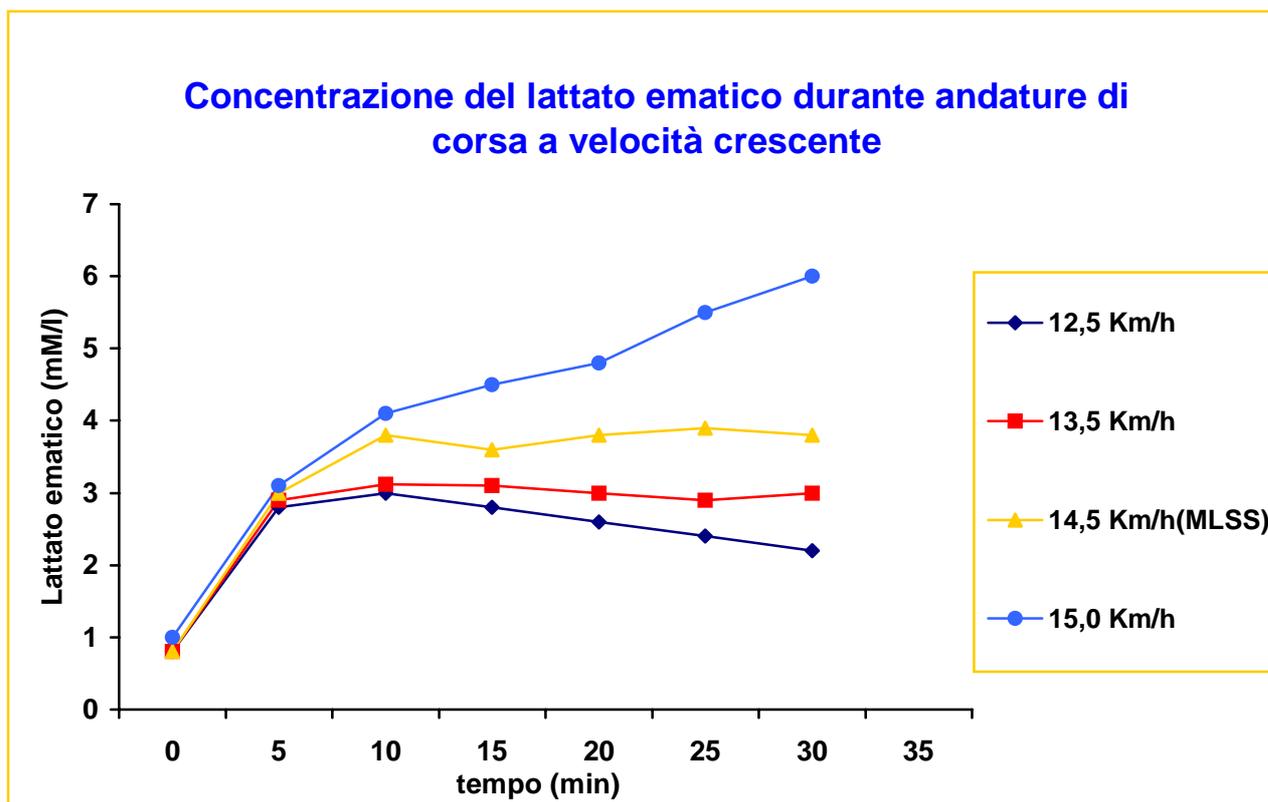
- **OBLA (Onset of Blood Lactate Accumulation) o LTPV (Lactate Turnpoint Velocity) o seconda soglia del lattato:** se si misurano le concentrazioni di lattato a velocità di corsa o intensità lavorative crescenti, si può costruire un grafico con i valori di lattato ematico in ordinate e l'intensità di lavoro in ascisse. Se si osserva il grafico si nota che la curva aumenta bruscamente la sua pendenza ad una certa intensità lavorativa.

A partire da quel valore si nota un improvviso e sostenuto accumulo di lattato ematico.



- **Maximal lactate steady state velocità (MLSSV) o maxlass** (in cui “max” sta per massimo, “la” per lattato, “ss” per steady state o stato stazionario). La MLSSV può essere definita come la più alta velocità che produce un incremento del lattato ematico non superiore a 1 mM tra il 10 e il 30 minuto di esercizio.

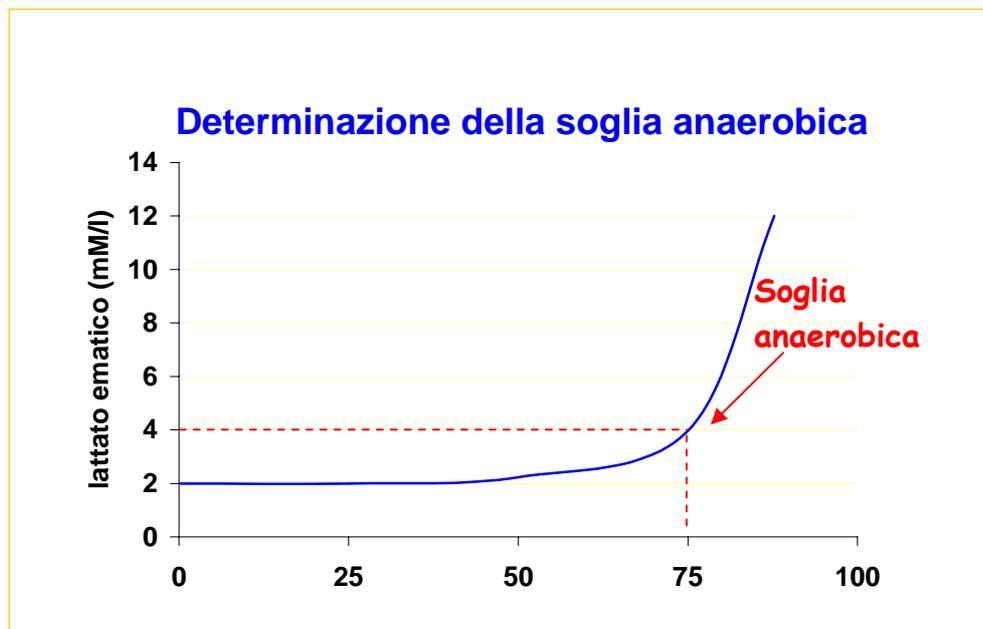
Determinazione della MLSSV in un soggetto tipico. Il soggetto ha eseguito degli esercizi di corsa su nastro trasportatore a velocità costanti (indicate nella figura). La velocità più alta che ha permesso una stabilizzazione dei valori di lattato ematico nel tempo (incrementi inferiori a 1 mM tra 10 e 30 minuti di corsa) viene definita MLSSV (in questo caso 14,5 km/h) (dati da Smith e Jones Eur J Appl Physiol 85: 19-26, 2001).



● **Soglia anaerobica convenzionale a 4 mM.**

E' definita generalmente Soglia Anaerobica l'intensità di lavoro a cui il lattato ematico raggiunge il valore di 4 mM durante prove di intensità progressivamente crescente.

Il valore 4mM è un valore medio. Utilizzando questo metodo per la valutazione della soglia anaerobica si possono ottenere indicazioni utili per la valutazione dell'atleta, ma bisogna tener presente le limitazioni di questa scelta.



Con l'allenamento la soglia anaerobica si innalza (la curva si sposta verso destra).

- La SA può anche essere determinata a partire da metodi indiretti basati sulle relazioni tra produzione di CO_2 , ventilazione polmonare o frequenza cardiaca, da un lato, e consumo di CO_2 o velocità, dall'altro. Saranno esaminati in altre discipline del corso.

6) La produzione di lattato nel singolo muscolo.

Di solito siamo abituati a pensare al massimo consumo di ossigeno dell'organismo nella sua totalità, ma proviamo ad esaminare la situazione a livello di singole masse muscolari. Esaminiamo, per esempio, i muscoli del tricipite della sura di un corridore al quale chiediamo di aumentare lentamente, ma progressivamente, la sua velocità di corsa. Man mano che l'atleta aumenta la velocità di corsa i muscoli devono accrescere la loro produzione di ATP per soddisfare totalmente la richiesta energetica e quindi aumentare il consumo di ossigeno. Aumentando l'intensità dello sforzo, il consumo di ossigeno nel singolo muscolo aumenterà fino ad un certo livello che possiamo definire come "il massimo consumo di ossigeno di quel muscolo". Da quel momento il muscolo deve far ricorso al meccanismo anaerobico lattacido per far fronte alla richiesta energetica. Ad una certa velocità di corsa può accadere che alcuni muscoli abbiano già raggiunto il loro massimo consumo di ossigeno e stiano producendo lattato, mentre altri gruppi muscolari (che sostengono un minor carico in quella particolare attività motoria o contengono un maggior numero di mitocondri attivi) non abbiano ancora raggiunto tale livello. Questa situazione ci aiuta a capire perché la soglia anaerobica e l'accumulo progressivo di lattato avvenga ad una intensità di carico lavorativo inferiore a

quella che determina il massimo consumo di ossigeno (in un soggetto medio la soglia anaerobica viene raggiunta ad una intensità di carico lavorativo pari al 70-75% della $VO_2\text{max}$).

Si ricorda che il VO_2 indica la quantità di ossigeno consumato durante gli scambi ventilatori ($VO_2\text{inspirato} - VO_2\text{espirato}$) e può essere determinato mediante spirometria a circuito aperto o chiuso. La quantità di VO_2 varia ovviamente in rapporto all'intensità dell'attività fisica, variando da valori minimi di 200 ml/min x kg di peso corporeo fino ad un massimo di 700 ml/min/kg. Questo valore rappresenta il massimo consumo di ossigeno: oltre tale valore la richiesta energetica è soddisfatta solo da meccanismi anaerobici. Il $VO_2\text{max}$ rappresenta quindi la massima capacità di risintesi per via esclusivamente ossidativa.

Esaminiamo alcuni fattori che determinano il massimo consumo di ossigeno di un singolo muscolo (corretto per grammo di peso):

- 1) la composizione percentuale nei diversi tipi di fibre muscolari (fibre di tipo I o di tipo II),
- 2) il numero di mitocondri per fibrocellula muscolare,
- 3) la concentrazione degli enzimi del metabolismo mitocondriale e dei componenti della catena di trasporto degli elettroni,
- 4) la vascolarizzazione.

Il massimo consumo di ossigeno dell'intero organismo dipenderà anche da altri fattori come, ad esempio, l'efficienza dell'apparato cardiovascolare, respiratorio e del trasporto ematico dell'ossigeno (emoglobina).

L'allenamento di tipo aerobico, inducendo una possibile conversione delle fibrocellule muscolari in fibre di tipo I, un aumento del numero di mitocondri e degli enzimi del metabolismo mitocondriale e della fosforilazione ossidativa, migliorando la vascolarizzazione dei tessuti contribuisce ad innalzare la soglia del $VO_2\text{max}$

7) Potenza e capacità lattacida

Potenza lattacida: quantità di ATP prodotto nell'unità di tempo con il meccanismo lattacido. Abbiamo già esaminato questo concetto nel paragrafo 2. La potenza lattacida è importante, per esempio, nelle prove di corsa piana dei 100-200 metri. Data la breve durata di queste prove non si raggiungono valori critici di pH intracellulari e non si esauriscono le scorte di glicogeno.

Capacità lattacida.

Nel paragrafo 2 abbiamo definito la capacità come la quantità totale di ATP che si potrebbe sintetizzare se tutti i substrati a disposizione per quella via metabolica fossero consumati. In realtà questa definizione non è esatta nel caso della capacità lattacida. In questo caso possiamo avere una riduzione di potenza significativa prima che il substrato (il glicogeno muscolare) sia esaurito. Come abbiamo già

visto ciò dipende dal fatto che la produzione di lattato provoca una riduzione del valore di pH nella cellula muscolare. Si può giungere ad un cosiddetto valore di “pH critico” che può inibire l’attività di numerosi enzimi metabolici (in particolare la fosfofruttochinasi glicolitica) e dei meccanismi contrattili muscolari.

La capacità lattacida dipende da componenti muscolari e non muscolari:

1) componenti muscolari:

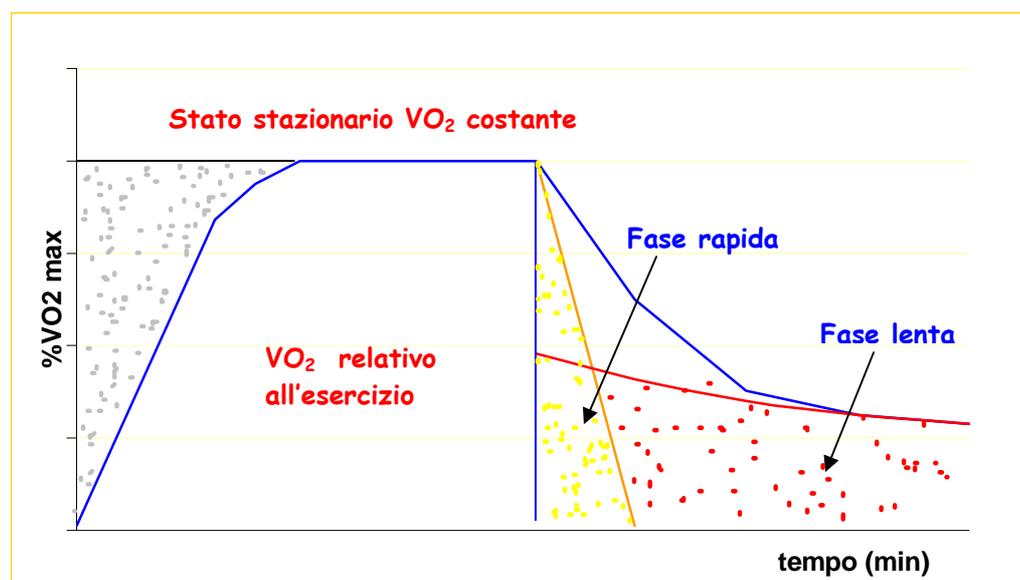
- elevate concentrazioni di sistemi tampone intracellulari
- basso valore di pH critico (capacità delle fibre muscolari di continuare a lavorare con pH basso)
- diffusione rapida di lattato ed idrogenioni dalla fibra (grazie ai trasportatori di membrana per il lattato o proton-linked monocarboxylate transporters, MCT)

- tamponamento degli ioni H⁺ nei liquidi extracellulari del muscolo
- metabolizzazione del lattato nelle fibre di tipo I dello stesso muscolo produttore

2) componenti non muscolari

- tamponamento a livello del sangue (vedi prima)
- allontanamento rapido dal sangue (la possibilità da parte di vari organi di eliminare rapidamente il lattato dal sangue. Vedi più avanti: utilizzazione del lattato)

8) Debito di Ossigeno.



Dopo un esercizio fisico il consumo di ossigeno non torna immediatamente ai valori precedenti allo sforzo, ma resta elevato per un periodo più o meno lungo a seconda dell'intensità del lavoro eseguito. Si dice che questo extra-consumo di ossigeno nella fase di recupero da uno sforzo fisico rappresenti il *pagamento di una sorta di "debito di ossigeno"* che è stato contratto all'inizio e durante l'esercizio. L'ammontare del debito di ossigeno si misura dalla quantità totale di ossigeno consumato durante la fase di recupero, sottraendo da questo il consumo di ossigeno a riposo.

Per capire meglio la problematica esaminiamo l'andamento del consumo di ossigeno durante un esercizio muscolare. Cominciamo dal caso di un esercizio di bassa intensità (per es. una corsa a velocità bassa): Iniziando l'attività le richieste energetiche nei gruppi muscolari interessati saliranno bruscamente; il consumo di ossigeno salirà durante i primi minuti in seguito all'attivazione dei sistemi aerobici per la produzione di ATP. Il consumo di ossigeno si stabilizza dopo i primi 3-4 minuti e successivamente rimane costante in una condizione detta di "stato stazionario". Evidentemente in questa condizione la quantità di ATP prodotta con meccanismo aerobico è esattamente uguale alla quantità consumata per sostenere la contrazione muscolare. Tuttavia nei primi minuti, durante la fase di salita del consumo di ossigeno, c'è un iniziale sbilanciamento tra il consumo di ATP e la produzione aerobica di ATP. Per coprire questa differenza devono intervenire i meccanismi anaerobici, che sono capaci di una risposta più rapida alle aumentate richieste energetiche. Tra i sistemi anaerobici c'è il sistema della fosfocreatina, che verrà quindi utilizzato all'inizio dello sforzo. A seconda dell'entità dello sforzo si può osservare una iniziale utilizzazione dei sistemi lattacidi anche in esercizi che poi proseguono con meccanismo aerobio. Infine ci può essere un consumo delle riserve di ossigeno legate alla proteina trasportatrice intracellulare dell'ossigeno; la mioglobina. Durante la fase di recupero ci sarà quindi un consumo extra di ossigeno per ripristinare le scorte di fosfocreatina, per riossigenare la mioglobina, per ossidare il lattato o per trasformarlo in glucosio. E' interessante notare che nei soggetti allenati la fase di salita del consumo di ossigeno all'inizio dello sforzo è più rapida rispetto ai soggetti sedentari, riducendo l'entità del debito di ossigeno che si instaura all'inizio dell'esercizio fisico. Se aumentiamo l'intensità del carico lavorativo aumenterà anche la velocità del consumo di ossigeno allo stato stazionario. Tuttavia oltre una certa intensità di lavoro non si osserveranno ulteriori aumenti della velocità di consumo di ossigeno: si dice che è stata raggiunta la velocità massima di consumo di ossigeno (VO_2max). Una richiesta energetica superiore non può essere soddisfatta da un incremento dei meccanismi aerobici e si deve fare ricorso ai meccanismi anaerobici lattacidi. In realtà, come abbiamo visto nei paragrafi precedenti, non è necessario raggiungere la VO_2max , ma si può osservare un accumulo progressivo di lattato già a carichi lavorativi pari al 75% della VO_2max (vedi concetto di soglia anerobica). Durante la fase di recupero l'ossidazione del lattato o la sua riconversione in glucosio può contribuire all'extra consumo di ossigeno.

Mantenendo quindi la visione tradizionale, che considera l'extraconsumo di ossigeno come il pagamento di un debito di ossigeno, possiamo distinguere le seguenti componenti:

● **debito di ossigeno alattacido:**

1. *ripristino delle scorte di fosfocreatina*
2. *riossigenazione della mioglobina* (la mioglobina, la cui concentrazione nei muscoli è circa 2g/kg è completamente desaturata nell'esercizio massimale, mentre in condizioni di riposo è completamente satura con ossigeno).

Nel caso di un esercizio di lieve intensità rappresenta il 100% del debito. Nel caso di un esercizio di intensità elevata o massimale rappresenta la cosiddetta *fase rapida del pagamento del debito di ossigeno* (tempo di dimezzamento del consumo di ossigeno di circa 30 secondi).

● **debito di ossigeno lattacido:**

1. *conversione del lattato in glucosio* (gluconeogenesi)
2. *ciclo muscolo-fegato di Cori*. Sarebbero responsabili della cosiddetta *fase lenta del pagamento del debito d'ossigeno*.

Secondo le idee attuali la conversione del lattato in glucosio (gluconeogenesi) non rappresenta il meccanismo principale responsabile del cosiddetto **EPOC** (Excess Postexercise Oxygen Consumption).

Vediamo un elenco delle possibili cause di EPOC (le prime tre sono quelle già esaminate):

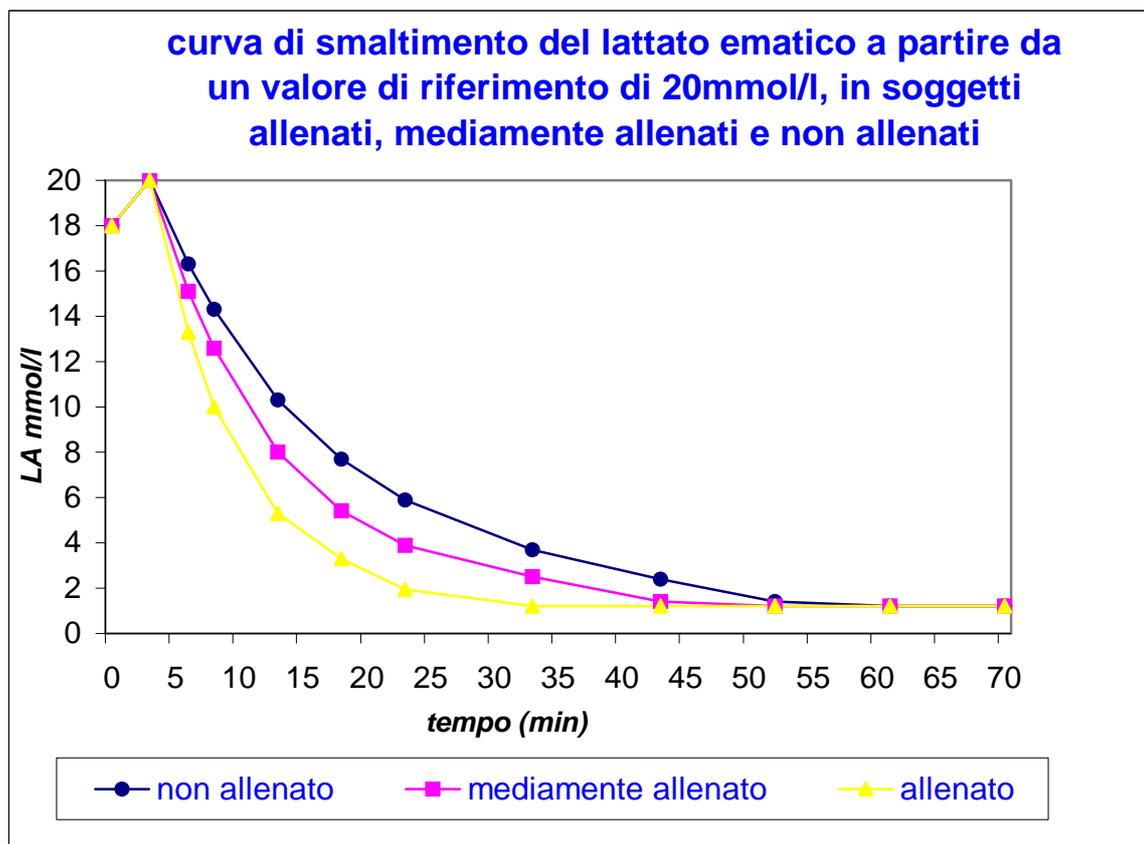
1. resintesi fosfocreatina
2. riossigenazione della mioglobina
3. ciclo di Cori o ciclo muscolo-fegato
4. conversione del lattato in glucosio o glicogeno in organi diversi dal fegato
5. ossidazione del lattato
6. attivazione del metabolismo da ipertermia: la temperatura corporea può aumentare fino a 3 °C nel corso di un lavoro intenso e prolungato e può restare elevata per parecchie ore nella fase di recupero.
7. attivazione metabolica da azione ormonale (in particolare adrenalina e noradrenalina)
8. mantenimento di una frequenza cardiaca e di una ventilazione elevate in seguito all'attivazione durante l'esercizio.

9) Utilizzazione del lattato

Come abbiamo visto nella precedente sezione il lattato viene continuamente rimosso dal torrente circolatorio per essere utilizzato nelle seguenti vie metaboliche:

- 1) conversione lattato-glucosio/glicogeno a livello epatico (ciclo di Cori)
- 2) conversione lattato-glucosio/glicogeno in altri tessuti
- 3) ossidazione completa del lattato in fibre muscolari o altri tessuti

Nella figura seguente è indicato l'andamento nel tempo della diminuzione del lattato nel sangue (lattatemia) durante la fase di recupero che segue un intenso sforzo lattacido che ha causato un aumento dei valori di lattatemia fino a 20 mM. Per esprimere l'andamento di questo decremento si fa spesso riferimento al tempo di dimezzamento della concentrazioni ematiche (o tempo di semipagamento, o T_{mezzo} o $T_{50\%}$

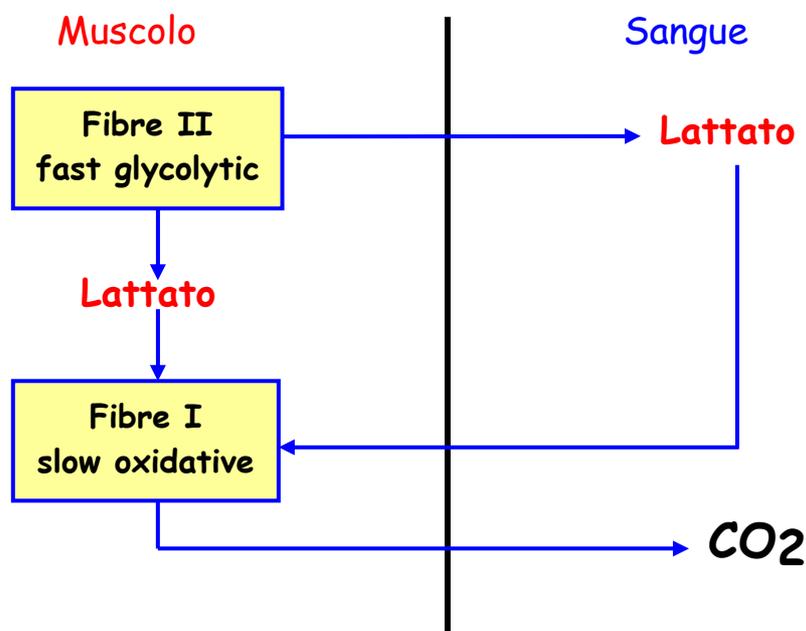


Nell'individuo **non allenato** questo tempo è di circa **15 minuti**; ciò significa che ci vorranno almeno **60 minuti per tornare ai valori basali di 1,25 mM**. Come si vede in figura il tempo di dimezzamento è più breve **nei soggetti allenati** e, a parità di valori di lattatemia dopo sforzo) **si possono raggiungere i valori basali in circa 30 min**.

Abbiamo già visto gli aspetti biochimici della conversione del lattato in glucosio nel capitolo sulla gluconeogenesi.

Per quanto riguarda l'ossidazione del lattato ricordiamo che il lattato può essere riconvertito in piruvato (la reazione catalizzata dall'enzima lattato deidrogenasi è reversibile) che prosegue il suo destino metabolico nel mitocondrio nei processi della decarbossilazione ossidativa e del ciclo di Krebs.

E' importante ricordare che le stesse fibre muscolari sono in grado di utilizzare il lattato sia durante lo sforzo muscolare sia durante la fase di recupero. In particolare è stato descritto un flusso di lattato dalle fibre di tipo II (fibre bianche) alle fibre di tipo I (fibre rosse) (shuttle del lattato).



Inoltre diversi organi sono in grado di utilizzare il lattato: tra questi una citazione particolare merita il cuore. L'utilizzazione del lattato da parte del miocardio è espressione di una significativa complementarietà metabolica fra muscolo scheletrico e cardiaco. Infatti la produzione di lattato a livello muscolare contribuisce a fornire substrato energetico al cuore. Il miocardio preferisce il lattato al glucosio. Si è visto che quando il livello di lattato nel sangue si innalza (durante o subito dopo un esercizio) si ha una significativa diminuzione dell'utilizzazione di glucosio da parte del miocardio. Quindi, a riposo, quest'organo utilizza preferenzialmente ac. grassi (75%) e glucosio (19%), mentre il lattato rappresenta una quota minore (6%). Durante un esercizio fisico intenso la percentuale di utilizzazione del lattato può raggiungere il 27% (grassi 58% e glucosio 15%).

Questa situazione metabolica dipende:

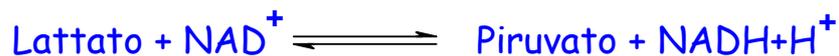
- 1) dalla diversa distribuzione degli isoenzimi della lattato deidrogenasi nel cuore e nel muscolo
- 2) dalla diversa capacità ossidativa dei due tessuti

Come già descritto nel capitolo II si ricorda che l'enzima lattato deidrogenasi è un tetramero (formato da 4 subunità). Ogni subunità può essere di due tipi diversi (catena polipeptidiche H o M codificate da geni diversi). Si possono distinguere, quindi, 5 isoenzimi:

H4, H3M, H2M2, HM3, M4

L'isoenzima presente nel muscolo cardiaco (H4) viene inibito, a differenza di quello muscolare (M4), da un eccesso di piruvato. Ciò significa che la formazione del lattato non è favorita nel muscolo cardiaco, nemmeno in presenza di elevate concentrazioni di piruvato.

L'elevata capacità del miocardio di ossidare piruvato e NADH a livello mitocondriale sposta l'equilibrio della seguente reazione verso destra:



Se si fa un lavoro prolungato a un'intensità metabolica pari al 75% del massimo consumo di ossigeno (se, per esempio, si corre all'incirca alla velocità che tiene in una maratona chi è allenato) la velocità di produzione del lattato è aumentata di cinque volte rispetto al basale, mentre la concentrazione del lattato nel sangue sale di poco, circa una volta e mezzo o due rispetto al basale (vedi sezione 5: sforzo di intensità superiore alla prima soglia del lattato, ma inferiore alla soglia anaerobica). All'aumentata produzione di lattato corrisponde, quindi, un aumento della sua utilizzazione, con il raggiungimento di un livello di lattato stabile "allo stato stazionario". Tuttavia, nelle fibre impegnate nello sforzo vi è un continuo impoverimento delle scorte del glicogeno (la produzione di lattato aumenta di 19 volte il consumo di glucosio per mole di ATP prodotto o di 13 volte il consumo di glucosio da glicogeno per mole di ATP prodotto). E' molto probabile che negli atleti che si allenano per prove molto prolungate (nelle quali è importante non sprecare il glicogeno muscolare) uno degli adattamenti è appunto quello di ricorrere in misura inferiore (a pari velocità di corsa) al meccanismo lattacido.

10) Il metabolismo basale

Il metabolismo basale (Standard Metabolic Rate-SMR) è la quantità di energia consumata quando un organismo adulto è sveglio ma a riposo, non impegnato in processi digestivi e in condizioni di termoneutralità (una temperatura ambientale dove la produzione di calore non è stimolata, ~28 °C per esseri umani adulti). Essendo l'organismo a riposo, tutta l'energia consumata è rilasciata come calore. Il metabolismo basale diminuisce del~10% al di sotto di quello standard (SMR) durante il sonno e anche più del 40% durante il digiuno ed aumenta al di sopra del SMR di circa 10 –20 volte durante sforzi fisici intensi.

La spesa energetica (il metabolismo) nei sedentari, esseri umani adulti tende ad essere approssimativamente il 150 –200% del SMR, l'incremento al di sopra del SMR è dovuto all'attività fisica e all'effetto termogenico degli alimenti.

Inoltre, il SMR per grammo del peso corporeo varia inversamente con la dimensione corporea fra le specie all'interno di un *phylum* indicando un adattamento necessario per gli animali più piccoli che hanno una più vasta superficie corporea (luogo di dispersione del calore). In effetti, il tasso metabolico di un topo per grammo di peso è circa dieci volte più elevato di quello di un cavallo.

11) Equivalente calorico degli alimenti

È possibile stimare il dispendio energetico totale di un organismo considerando l'equivalente calorico dell'ossigeno. Ciò si basa sulla considerazione che ogni reazione esoergonica si traduce alla fine in consumo di ossigeno: gli studi con la bomba calorimetria hanno indicato che si liberano circa 4,82 Kcal quando viene usato un litro di O₂ per ossidare un substrato formato da una miscela di carboidrati, lipidi e proteine. Questo valore costituisce il cosiddetto **equivalente calorico** e varia anche se di poco al variare della composizione del substrato, andando da un massimo di 5,047 Kcal/LO₂ se formato da carboidrati, a un minimo di 4,686 se si ossidano esclusivamente lipidi. Arrotondando l'equivalente calorico a 5 Kcal/LO₂ diventa semplice calcolare il dispendio energetico di un organismo in quanto basta misurare il consumo di O₂ e moltiplicare per l'equivalente calorico.

Per la stima del dispendio energetico si utilizza la *calorimetria indiretta* che differisce da quella diretta in quanto non misura la quantità di calore prodotta da un organismo nel corso di un'attività, ma risale alla quantità di calorie utilizzate attraverso l'analisi dei gas espirati.

Tuttavia, dovendo ottenere dei dati più esatti nella stima del dispendio energetico, occorre analizzare il **quoziente respiratorio** ovvero il rapporto tra CO₂ prodotta e O₂ consumato per ossidare un substrato a cui corrisponde un diverso equivalente calorico a seconda del substrato ossidato.

10) Il quoziente respiratorio

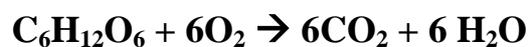
Si definisce **quoziente respiratorio (QR)** il rapporto tra la quantità di CO₂ prodotta e la quantità di O₂ consumata durante i processi metabolici.

$$QR = \frac{CO_2}{O_2}$$

Questo rapporto non è costante ma varia a seconda del tipo di substrato ossidato. Infatti, a causa delle differenze chimiche strutturali tra carboidrati, proteine e lipidi è necessaria una diversa quantità di O₂ per degradare la stessa quantità di substrati fino a CO₂ e H₂O.

La misura del QR consente di risalire, sia in condizioni di riposo sia nel corso di un'attività fisica, al tipo di substrato ossidato per compiere un lavoro (riferito al costo energetico del metabolismo basale o a quello dell'attività in esame).

Il quoziente respiratorio dei carboidrati equivale a 1 perché la quantità di molecole di ossigeno necessarie per l'ossidazione del glucosio a CO₂ e H₂O equivale alla quantità di molecole di CO₂ prodotta:

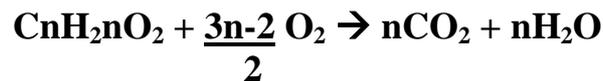


$$QR (\text{glucidi}) = \frac{6 CO_2}{6 O_2} = 1$$

Analoghi valori di QR si riscontrano anche per composti più complessi quali polisaccaridi. La produzione di anidride carbonica è esattamente equivalente al consumo di ossigeno. Analizzando quindi la composizione dei gas espirati, con un quoziente respiratorio di tale valore si è certi che il soggetto in esame abbia utilizzato come substrato esclusivamente carboidrati e, conoscendo l'equivalente calorico dei carboidrati (5,047 Kcal), è dunque possibile risalire al dispendio energetico di un'attività.

Ad esempio, supponendo che nel corso di un lavoro al cicloergometro della durata di 15 minuti il soggetto in esame abbia consumato 25 L di ossigeno e che il suo quoziente respiratorio sia di 1, il dispendio energetico sarà 25x 5,047= 136,075 Kcal.

Il QR dei lipidi è inferiore rispetto a quello dei carboidrati. Infatti, a causa della diversa composizione chimica delle molecole da ossidare (gli acidi grassi), la cui formula bruta può essere genericamente espressa C_nH_{2n}O₂, sarà ovviamente necessaria una quantità maggiore di O₂ per ossidare il composto fino a CO₂ e H₂O



Ad esempio dall'acido palmitico si otterrà:



Da cui:

$$\text{QR (lipidi)} = \frac{16 \text{ CO}_2}{23 \text{ O}_2} = 0,696$$

Quindi il QR dei lipidi, arrotondato per eccesso, corrisponde al valore di 0,7.

Con un QR di tale valore si è certi che il substrato ossidato sia composto esclusivamente da lipidi a cui corrisponde un equivalente calorico per LO_2 di 4,868 Kcal. Conoscendo quindi tali valori è possibile risalire al costo energetico di un'attività procedendo come nell'esempio riportato per i carboidrati.

In realtà non si fa mai ricorso per scopi energetici all'ossidazione di un solo substrato, bensì ad una miscela di nutrienti diversi, infatti il valore di QR si attesta mediamente intorno al valore di 0,8 a cui corrisponde una quota calorica proveniente per il 33,4% da carboidrati e per il 66,6% da lipidi.

Il calcolo del quoziente respiratorio delle proteine è abbastanza complesso. Infatti, in questo caso non si ha solo il processo di ossidazione ad anidride carbonica ed acqua ma un amminoacido, prima di essere utilizzato a scopi energetici, deve essere convertito nel chetoacido corrispondente attraverso il processo di desaminazione, ovvero la rimozione del gruppo amminico dalla molecola.

Anche nel caso dei chetoacidi la quota di ossigeno necessaria per l'ossidazione è superiore alla quota di CO_2 prodotta. Il QR delle proteine è di 0,818 che normalmente viene arrotondato al valore di 0,82.

Dall'analisi dell'aria espirata è possibile risalire alla percentuale di substrato ossidato abbastanza agevolmente se si tratta soltanto di due substrati. Per la quota percentuale proveniente dalle proteine è necessario effettuare un'analisi indiretta attraverso la quota di azoto eliminata con le urine. Per ogni grammo di azoto urinario corrispondono infatti 6,25gr di proteine ossidate. Per questa quota proteica si ha la produzione di 4,8 L di CO_2 e il consumo di 6 L di O_2 . Avendo questi parametri di riferimento è possibile risalire alla quota di QR non proteica che riflette così solo il consumo di O_2 legato all'ossidazione di carboidrati e lipidi. Tuttavia, anche se si trascura la quota proteica nel calcolo metabolico si ottiene un errore nel calcolo dello 0,5% che può essere considerato poco apprezzabile data la complessità delle operazioni che il calcolo metabolico proteico richiede. Quindi, nella maggior parte dei casi, il QR globale, ignorando la quota di azoto urinario, introduce un errore minimo nella valutazione del dispendio energetico e ciò riflette il fatto che le proteine contribuiscono solo in maniera modesta al metabolismo energetico.

Come detto in precedenza, in condizioni stazionarie, ovvero considerando un individuo sia in condizioni di riposo sia che svolga un'attività fisica di tipo aerobico, il QR non riflette solo ossidazione di carboidrati o di lipidi, ma si colloca intorno al valore di 0,80-0,82 a cui corrisponde un equivalente calorico di circa 4,8 Kcal.

Misurando quindi il consumo di ossigeno in un lasso di tempo, è possibile risalire al costo energetico di un'attività con una minima percentuale di errore. Tuttavia per calcoli più accurati, occorre valutare il QR proteico attraverso l'analisi dell'azoto urinario e quindi risalire con esattezza al QR non proteico. Per i calcoli metabolici relativi possono essere consultate delle apposite tabelle, stimate dai ricercatori, attraverso le quali si risale all'equivalente calorico corrispondente, alla qualità e alla quantità di substrato ossidato e alla percentuale di Kcal derivanti dai substrati. Ad esempio nel caso di un QR medio di 0.8 corrisponde un equivalente calorico di 4.8 Kcal / LO₂ di cui il 33.6% deriva dai carboidrati e il 66.6% dai lipidi. Quindi le calorie provenienti dai carboidrati sono 1,6128 Kcal/L/O₂ e quelle dai lipidi 3,2 Kcal / L/O₂. Considerando che per ogni grammo di carboidrati ossidati si ricavano 4 Kcal e dalla stessa quantità di lipidi 9 Kcal si può risalire con una proporzione alla quantità di substrato ossidato. Si osserva che in condizioni stazionarie la quantità di substrati ossidati è più o meno la stessa (0.371gr di carboidrati e 0.347gr di lipidi per litro di ossigeno consumato). Moltiplicando quindi i valori ottenuti per i litri di ossigeno consumato si può risalire al quantitativo totale di substrato ossidato nel corso di un'attività.

Tutti questi calcoli partono dal presupposto che gli scambi di gas respiratori che si verificano a livello dei polmoni riflettano esattamente gli stessi scambi che si verificano a livello cellulare. Tale assunzione può essere valida solo in condizioni stazionarie.

Infatti varie situazioni possono influenzare la situazione dei gas respiratori a livello polmonare e quindi far variare i rapporti tra i gas che così non riflettono più la situazione a livello cellulare.

Quando si è in condizioni non stazionarie si parla di quoziente respiratorio esterno (R) e per il suo calcolo si procede come fatto nel QR. Condizioni non stazionarie si possono verificare nel caso il soggetto iperventili, il che comporta una maggiore eliminazione di CO₂ senza che a questa corrisponda un aumento del consumo di O₂ per ossidare substrato. In questi casi R può essere anche maggiore di 1.

Un'altra condizione non stazionaria si verifica nel corso di un'attività di elevata intensità, condizione in cui R è maggiore di 1. La produzione di acido lattico che deriva nel corso dell'attività richiede il tamponamento nel sangue mediante il sistema dei bicarbonati. Il processo di tamponamento porta alla formazione di acido carbonico che a livello polmonare si dissocia e consente l'eliminazione di CO₂ nel gas alveolare. Quindi in seguito ad attività fisica intensa a cui segue il tamponamento dell'acido lattico, si ha una maggiore produzione di CO₂ rispetto a quella effettivamente prodotta nel corso dei processi metabolici.

IL QR varia al variare dell'acido lattico. All'inizio della pausa di riposo il QR ha un valore superiore all'unità, andando avanti le cose tendono a ristabilirsi e il QR (dopo 5') scende sotto l'unità. Anche l'acido lattico dopo 5' si abbassa molto, perché viene ossidato e il corpo tende a recuperarlo. A questo punto però si verifica un fenomeno curioso: il QR tende a scendere, perché l'anidride carbonica tende a legarsi con le basi che prima erano legate all'acido lattico. In questo caso le cellule tendono a trattenere CO_2 per riformare i bicarbonati che si sono persi nel corso delle reazioni di tamponamento. In queste condizioni R può essere anche di 0.7.

I calcoli metabolici effettuati attraverso l'esame dei gas espirati con il metodo della spirometria aperta consentono di valutare con estrema accuratezza il costo energetico di una determinata attività, dalle condizioni di riposo a quella della più svariata attività sportiva. Difatti attualmente si dispone di sofisticate apparecchiature spirometriche di minimo ingombro, che possono essere trasportate come uno zaino e che dato l'esiguità del peso non contribuiscono ad elevare il costo energetico dell'attività in esame. Tali apparecchiature dispongono di un boccaglio all'interno del quale il soggetto in esame espira l'aria e di un analizzatore di gas collegato ad un computer che istante dopo istante fornisce la composizione dei gas e il relativo dispendio energetico. La spirometria a circuito aperto è valida in quanto la concentrazione dei gas inspirati è nota ($20.93\% \text{O}_2 - 0.03 \text{CO}_2 - 79.04\% \text{N}_2$) e per differenza si risale alla quantità di gas scambiati e quindi a tutti i parametri che servono per la stima del dispendio energetico.

Equivalente calorico dell'ossigeno relativo a diversi valori di quoziente respiratorio

QR non proteico	Kcal/LO ₂	% Kcal derivanti da		Grammi/LO ₂	
		Carboidrati	Lipidi	Carboidrati	Lipidi
0.707	4.686	0.0	100.0	0.000	0.496
0.71	4.690	1.1	98.9	0.012	0.491
0.72	4.702	4.8	95.2	0.051	0.476
0.73	4.714	8.4	91.6	0.090	0.460
0.74	4.727	12.0	88.0	0.130	0.444
0.75	4.739	15.6	84.4	0.170	0.428
0.76	4.750	19.2	80.8	0.211	0.412
0.77	4.764	22.8	77.2	0.250	0.396
0.78	4.776	26.3	73.7	0.290	0.380
0.79	4.788	29.9	70.1	0.330	0.363
0.80	4.801	33.4	66.6	0.371	0.347
0.81	4.813	36.9	63.1	0.413	0.330
0.82	4.825	40.3	59.7	0.454	0.313
0.83	4.838	43.8	56.2	0.496	0.297
0.84	4.850	47.2	52.8	0.537	0.280
0.85	4.862	50.7	49.3	0.579	0.263
0.86	4.875	54.1	45.9	0.621	0.247
0.87	4.887	57.5	42.5	0.663	0.230
0.88	4.899	60.8	39.2	0.705	0.231
0.89	4.911	64.2	35.8	0.749	0.195
0.90	4.924	67.5	32.5	0.791	0.178
0.91	4.936	70.8	29.2	0.834	0.160
0.92	4.948	74.1	25.9	0.877	0.143
0.93	4.961	77.4	22.6	0.921	0.125
0.94	4.973	80.7	19.3	0.964	0.108
0.95	4.985	84.0	16.0	1.008	0.090
0.96	4.998	87.2	12.8	1.052	0.072
0.97	5.010	90.4	9.6	1.097	0.054
0.98	5.022	93.6	6.4	1.142	0.036
0.99	5.035	96.8	3.2	1.186	0.018
1.00	5.047	100.0	0.0	1.231	0.000

RICHIAMI DI CHIMICA GENERALE

Programma

Tavola periodica degli elementi e struttura atomica.

Legame chimico.

Definizioni e nomenclatura di idracidi, ossidi, anidridi, idrossidi, acidi, sali.

pH e soluzioni tampone.

La mole ed il numero di Avogadro.

La molarità.

Cinetica chimica ed equilibri chimici.

Catalizzatori (vedi cap. 1, introduzione al metabolismo).

Cenni elementari di termodinamica chimica (vedi cap. I, introduzione al metabolismo).

Reazioni di ossido-riduzione (vedi cap. I, introduzione al metabolismo, e cap. IV, catena di trasporto degli elettroni mitocondriale).

STRUTTURA DELL'ATOMO

La chimica limita il suo campo di studio alle interazioni tra atomi e molecole e le reazioni chimiche rappresentano mutamenti nella composizione delle molecole.

Elementi: sostanze che non possono essere decomposte in altre sostanze aventi caratteri diversi.

Composti: combinazioni secondo proporzioni definite di due o più elementi.

Molecola: la molecola è la più piccola parte di un elemento o di un composto chimico che può esistere allo stato libero e che conserva le proprietà specifiche dell'elemento o composto.

Atomo: è la più piccola parte di un elemento che entra nella costituzione delle molecole.

Tabella con caratteristiche dei costituenti dell'atomo:

	massa (U.M.A.)	carica elettrica	raggio (Angstrom)
protone	1	+1	0.0001
neutrone	1	0	0.0001
elettrone	1/1830	-1	
atomo	P+N	0	1

-**Numero Atomico (Z):** numero di protoni nel nucleo.

-**Numero di massa (A):** somma dei protoni e neutroni.

(tale numero si può identificare col peso atomico)

Orbitale elettronico: la zona dello spazio in cui c'è più del 90% di probabilità di trovare l'elettrone.

Gli orbitali sono caratterizzati da **numeri quantici** che indicano la distanza dal nucleo (numero quantico principale: 1, 2, 3, 4), la forma dell'orbitale (numero quantico angolare o lettere s, p, d, f) e l'orientamento (numero quantico magnetico)

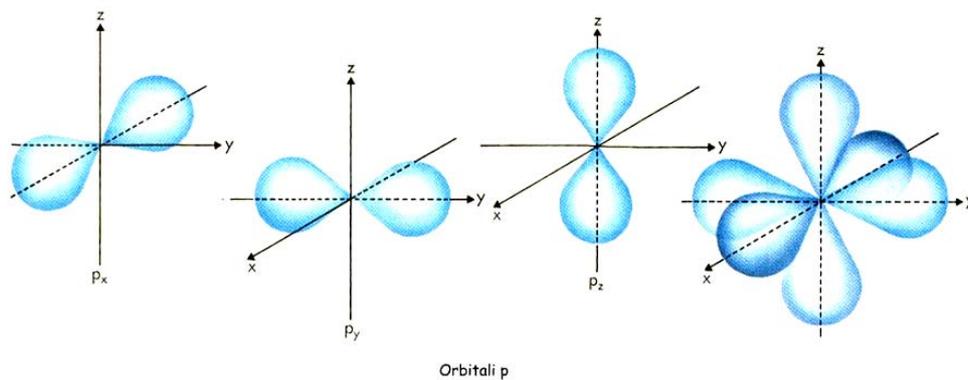
Tabella degli orbitali in ordine energetico crescente

Numero quantico principale (n) e numero quantico angolare (lettere s,p,d,f)	Numero di orbitali	Numero massimo di elettroni
1s	1	2
2s	1	2
2p	3	6
3s	1	2
3p	3	6
4s	1	2
3d	5	10
4p	3	6

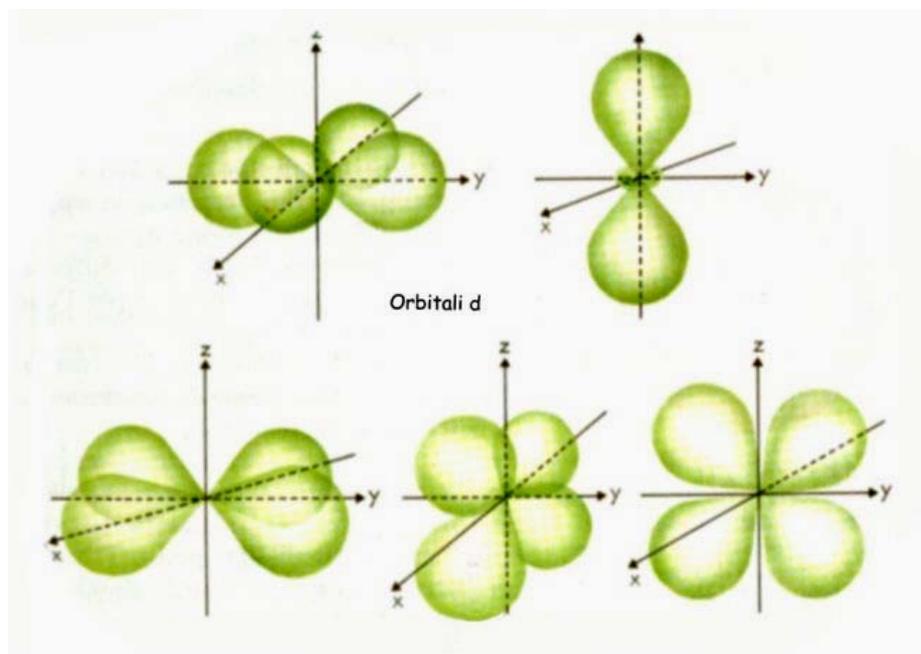
Come si vede da questa tabella, ogni orbitale viene indicato con un numero ed una lettera; il numero indica il valore di n (**numero quantico principale**) e la lettera (**s, p, d, f**) indica la forma dell'orbitale (numero quantico angolare o lettere s, p, d, f).

Per ogni valore di n vi è un orbitale s , a valori crescenti di n corrispondono orbitali s con raggi crescenti. Gli orbitali s sono sempre sferici.

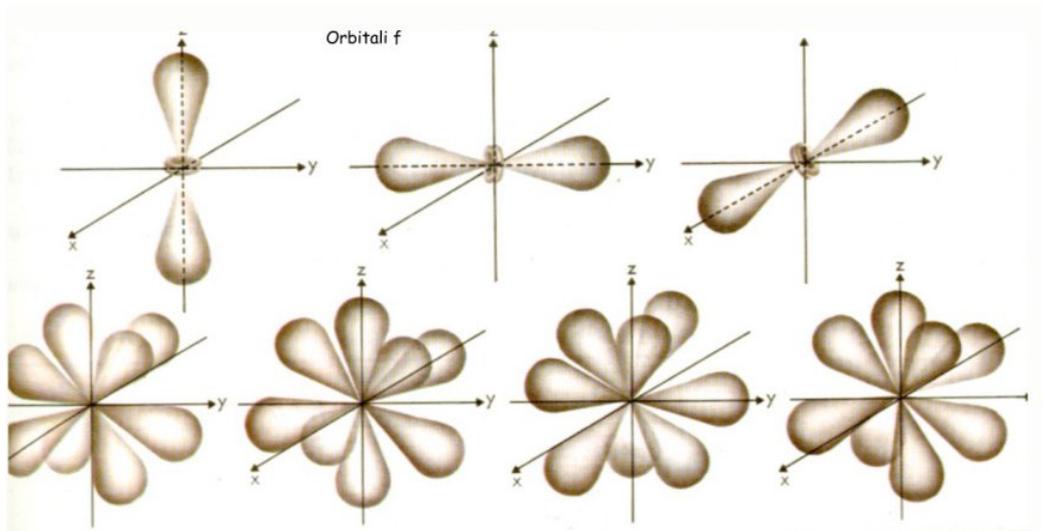
Per ogni valore di n (escluso $n=1$) vi sono tre orbitali p (numero quantico magnetico che indica l'orientazione dell'orbitale), perpendicolari tra di loro secondo tre assi cartesiani ortogonali x , y , e z ; un orbitale p ha la forma di due gocce d'acqua unite per la parte più stretta.



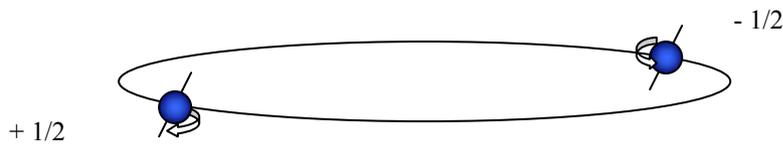
Per ogni valore di n superiore a 2, vi sono 5 orbitali d .



Per ogni valore di n superiore a 3 vi sono 7 orbitali f .



Un altro numero quantico, il **numero quantico di Spin** o rotazionale tiene conto del fatto che l'elettrone, oltre a ruotare attorno al nucleo, ruota anche intorno al proprio asse. Esso può assumere i valori $+ 1/2$ o $-1/2$ a seconda che il moto di rotazione si compia in senso orario o antiorario.



Il **principio di esclusione di Pauli** (1925) dice che in un atomo non possono esistere 2 elettroni che abbiano i quattro numeri quantici uguali. In ogni orbitale non vi possono essere più di 2 elettroni e questi 2 elettroni devono avere spin opposto.

Possiamo schematizzare gli orbitali e gli elettroni con dei quadratini e delle frecce verticali (diagrammi a celle)



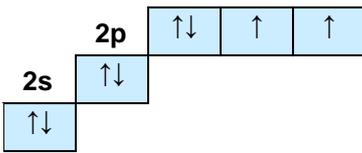
Costruzione ideale degli atomi

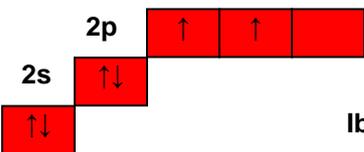
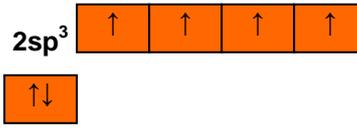
Gli elettroni si dispongono negli orbitali rispettando l'ordine energetico crescente (vedi tabella 1) il principio di Pauli e la regola di Hund.

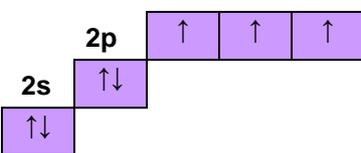
Il **principio della massima molteplicità** o regola di Hund dice che avendo a disposizione degli orbitali isoenergetici (come sono i 3 orbitali p o i 5 orbitali d o i 7 orbitali f) gli elettroni si dispongono sul numero massimo di questi orbitali con spin parallelo.

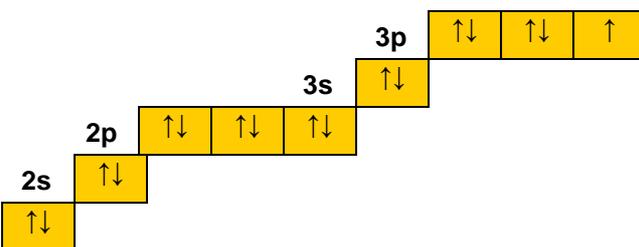
Principali configurazioni elettroniche atomiche

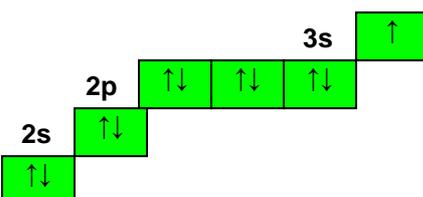
Idrogeno 1s 

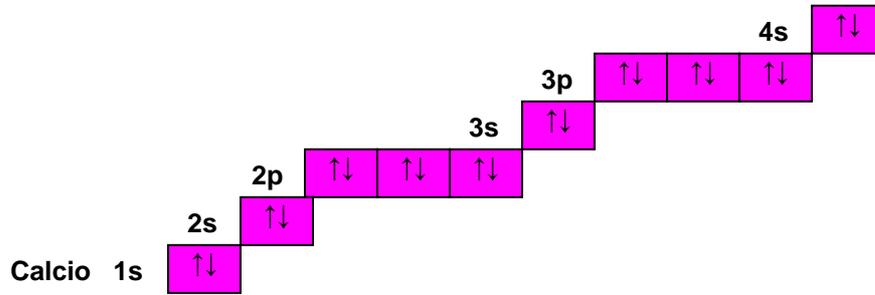
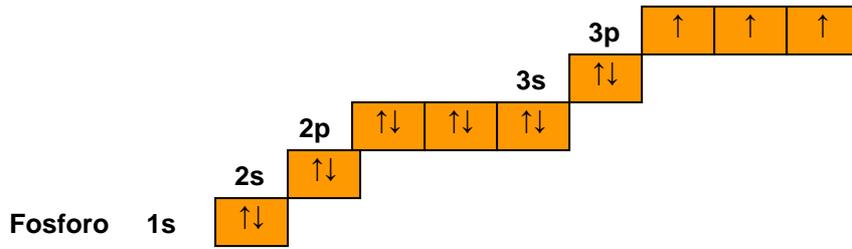
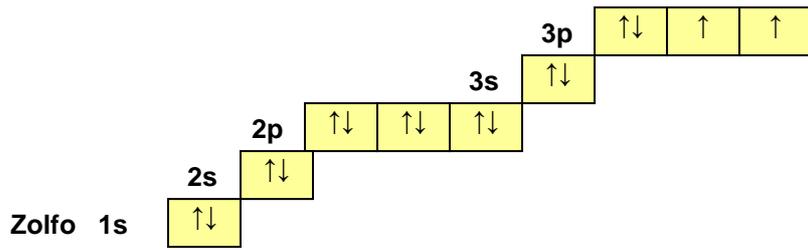
Ossigeno 1s 

Carbonio 1s  Ibrido 1s 

Azoto 1s 

Cloro 1s 

Sodio 1s 



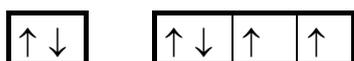
SISTEMA PERIODICO DEGLI ELEMENTI

Ogni elemento è caratterizzato da un numero atomico (numero degli elettroni) e dal numero di massa (numero totale di protoni e neutroni).

La configurazione elettronica di un elemento si indica nel modo seguente: si scrivono gli orbitali preceduti dai rispettivi numeri quantici principali e si dà ad ogni orbitale come esponente il numero degli elettroni presenti in detto orbitale.

ad es. ossigeno: $1s^2, 2s^2 p^4$

oppure con i diagrammi a celle (es. configurazione elettronica esterna dell'ossigeno):



Configurazione elettronica esterna: Gli elettroni periferici, cioè quelli dello strato esterno, determinano le proprietà chimiche degli elementi.

Regola dell'ottetto: ogni elemento tende a completare la sua orbita esterna con otto elettroni.

Le proprietà fisiche e chimiche degli elementi sono una funzione periodica del loro numero atomico.

Sistema periodico degli elementi: rappresentazione di tutti gli elementi chimici in una tavola che mette in evidenza il periodico ripetersi delle loro proprietà chimiche.

Periodo: riga orizzontale nella tavola periodica che comprende elementi con numero atomico crescente da sinistra a destra.

Gruppo: colonna verticale nella tavola periodica che comprende elementi con proprietà chimiche simili (e con configurazione elettronica esterna simile).

Periodicità della configurazione elettronica esterna

Metalli: si distinguono dagli elementi non metallici per la lucentezza, malleabilità, conducibilità e facilità di formazione di cationi.

Metalli alcalini: elementi con configurazione elettronica esterna s^1 (o ns^1)

Metalli alcalino-terrosi: elementi con configurazione elettronica esterna s^2 (o ns^2)

Metalli di transizione: sono quelli in cui si verifica il riempimento di orbitali d e/o f di uno strato con numero quantico inferiore a quello caratteristico del periodo a cui appartengono.

Non metalli: elementi non malleabili, con bassa conducibilità e che non formano ioni positivi.

Alogeni: elementi con configurazione elettronica esterna s^2p^5 ($ns^2 np^5$).

Gas nobili: elementi con configurazione elettronica esterna s^2p^6 . Sono gas monoatomici e chimicamente inerti.

Elettronegatività: grandezza che esprime il potere di attrazione di un elemento nei confronti degli elettroni di legame.

Potenziale di ionizzazione: energia necessaria per strappare un elettrone dallo strato esterno ad un atomo o ione.

Il valore aumenta nella direzione della freccia	Gruppo	Periodo
Raggio atomico	↓	←
caratt. metalliche	↓	←
elettronegatività	↑	⇒
potere riducente	↓	←

Tavola periodica degli elementi

Gruppi																		18
Periodi	1											13	14	15	16	17	18	
	IA											3A	4A	5A	6A	7A	VIII	8A
	1A											3A	4A	5A	6A	7A	VIII	8A
1	1 <u>H</u> 1.008	2 IIA 2A											13 IIIA 3A	14 IVA 4A	15 VA 5A	16 VIA 6A	17 VIIA 7A	2 <u>He</u> 4.003
2	3 <u>Li</u> 6.941	4 <u>Be</u> 9.012											5 <u>B</u> 10.81	6 <u>C</u> 12.01	7 <u>N</u> 14.01	8 <u>O</u> 16.00	9 <u>F</u> 19.00	10 <u>Ne</u> 20.18
3	11 <u>Na</u> 22.99	12 <u>Mg</u> 24.31	3 IIIB 3B	4 IVB 4B	5 VB 5B	6 VIB 6B	7 VIIB 7B	8 ----- VIII ----- 8	9	10	11 IB 1B	12 IIB 2B	13 <u>Al</u> 26.98	14 <u>Si</u> 28.09	15 <u>P</u> 30.97	16 <u>S</u> 32.07	17 <u>Cl</u> 35.45	18 <u>Ar</u> 39.95
4	19 <u>K</u> 39.10	20 <u>Ca</u> 40.08	21 <u>Sc</u> 44.96	22 <u>Ti</u> 47.88	23 <u>V</u> 50.94	24 <u>Cr</u> 52.00	25 <u>Mn</u> 54.94	26 <u>Fe</u> 55.85	27 <u>Co</u> 58.47	28 <u>Ni</u> 58.69	29 <u>Cu</u> 63.55	30 <u>Zn</u> 65.39	31 <u>Ga</u> 69.72	32 <u>Ge</u> 72.59	33 <u>As</u> 74.92	34 <u>Se</u> 78.96	35 <u>Br</u> 79.90	36 <u>Kr</u> 83.80
5	37 <u>Rb</u> 85.47	38 <u>Sr</u> 87.62	39 <u>Y</u> 88.91	40 <u>Zr</u> 91.22	41 <u>Nb</u> 92.91	42 <u>Mo</u> 95.94	43 <u>Tc</u> (98)	44 <u>Ru</u> 101.1	45 <u>Rh</u> 102.9	46 <u>Pd</u> 106.4	47 <u>Ag</u> 107.9	48 <u>Cd</u> 112.4	49 <u>In</u> 114.8	50 <u>Sn</u> 118.7	51 <u>Sb</u> 121.8	52 <u>Te</u> 127.6	53 <u>I</u> 126.9	54 <u>Xe</u> 131.3
6	55 <u>Cs</u> 132.9	56 <u>Ba</u> 137.3	57 <u>La*</u> 138.9	72 <u>Hf</u> 178.5	73 <u>Ta</u> 180.9	74 <u>W</u> 183.9	75 <u>Re</u> 186.2	76 <u>Os</u> 190.2	77 <u>Ir</u> 190.2	78 <u>Pt</u> 195.1	79 <u>Au</u> 197.0	80 <u>Hg</u> 200.5	81 <u>Tl</u> 204.4	82 <u>Pb</u> 207.2	83 <u>Bi</u> 209.0	84 <u>Po</u> (210)	85 <u>At</u> (210)	86 <u>Rn</u> (222)
7	87 <u>Fr</u> (223)	88 <u>Ra</u> (226)	89 <u>Ac~</u> (227)	104 <u>Rf</u> (257)	105 <u>Db</u> (260)	106 <u>Sg</u> (263)	107 <u>Bh</u> (262)	108 <u>Hs</u> (265)	109 <u>Mt</u> (266)	110 ---	111 ---	112 ---	114 ---	116 ---	---	---	---	118 ---
Lanthanide Series*	58 <u>Ce</u> 140.1	59 <u>Pr</u> 140.9	60 <u>Nd</u> 144.2	61 <u>Pm</u> (147)	62 <u>Sm</u> 150.4	63 <u>Eu</u> 152.0	64 <u>Gd</u> 157.3	65 <u>Tb</u> 158.9	66 <u>Dy</u> 162.5	67 <u>Ho</u> 164.9	68 <u>Er</u> 167.3	69 <u>Tm</u> 168.9	70 <u>Yb</u> 173.0	71 <u>Lu</u> 175.0				
Actinide Series~	90 <u>Th</u> 232.0	91 <u>Pa</u> (231)	92 <u>U</u> (238)	93 <u>Np</u> (237)	94 <u>Pu</u> (242)	95 <u>Am</u> (243)	96 <u>Cm</u> (247)	97 <u>Bk</u> (247)	98 <u>Cf</u> (249)	99 <u>Es</u> (254)	100 <u>Fm</u> (253)	101 <u>Md</u> (256)	102 <u>No</u> (254)	103 <u>Lr</u> (257)				

Elettronegatività di alcuni elementi, secondo Pauling

H 2.1								
Li 1.0	Be 1.5		B 2.0	C 2.5	N 3.0	O 3.5	F 4.0	
Na 0.9	Mg 1.2		Al 1.5	Si 1.8	P 2.1	S 2.5	Cl 3.0	
K 0.8	Ca 1.0				As 2.0	Se 2.4	Br 2.8	
						Te 2.1	I 2.5	

VALENZA E LEGAMI CHIMICI

Valenza: il numero che ci indica con quanti atomi di idrogeno può reagire un atomo dell'elemento. Il numero di elettroni ceduti, acquisiti o condivisi per raggiungere una configurazione elettronica stabile.

Una molecola è formata da 2 o più atomi .

Il legame che tiene uniti due atomi in una molecola viene chiamato **legame chimico**.

Esistono diversi tipi di legame:

Legame covalente:

1.) Omeopolare o covalente puro: compartecipazione di elettroni tra atomi uguali. Es. : H₂

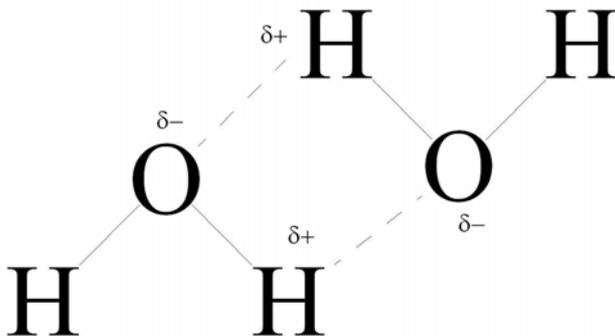
2) Eteropolare o covalente polarizzato: compartecipazione di elettroni tra atomi che hanno una piccola differenza di elettronegatività (<2).

Legame ionico: Si stabilisce tra atomi che hanno una elevata differenza di elettronegatività (>2). Es. : NaCl

Legame dativo: 2 elettroni in un orbitale non impegnato in un legame: doppietto o "lone pair". Un atomo che ha già l'ottetto completo mette a disposizione di altro atomo 2 dei suoi elettroni

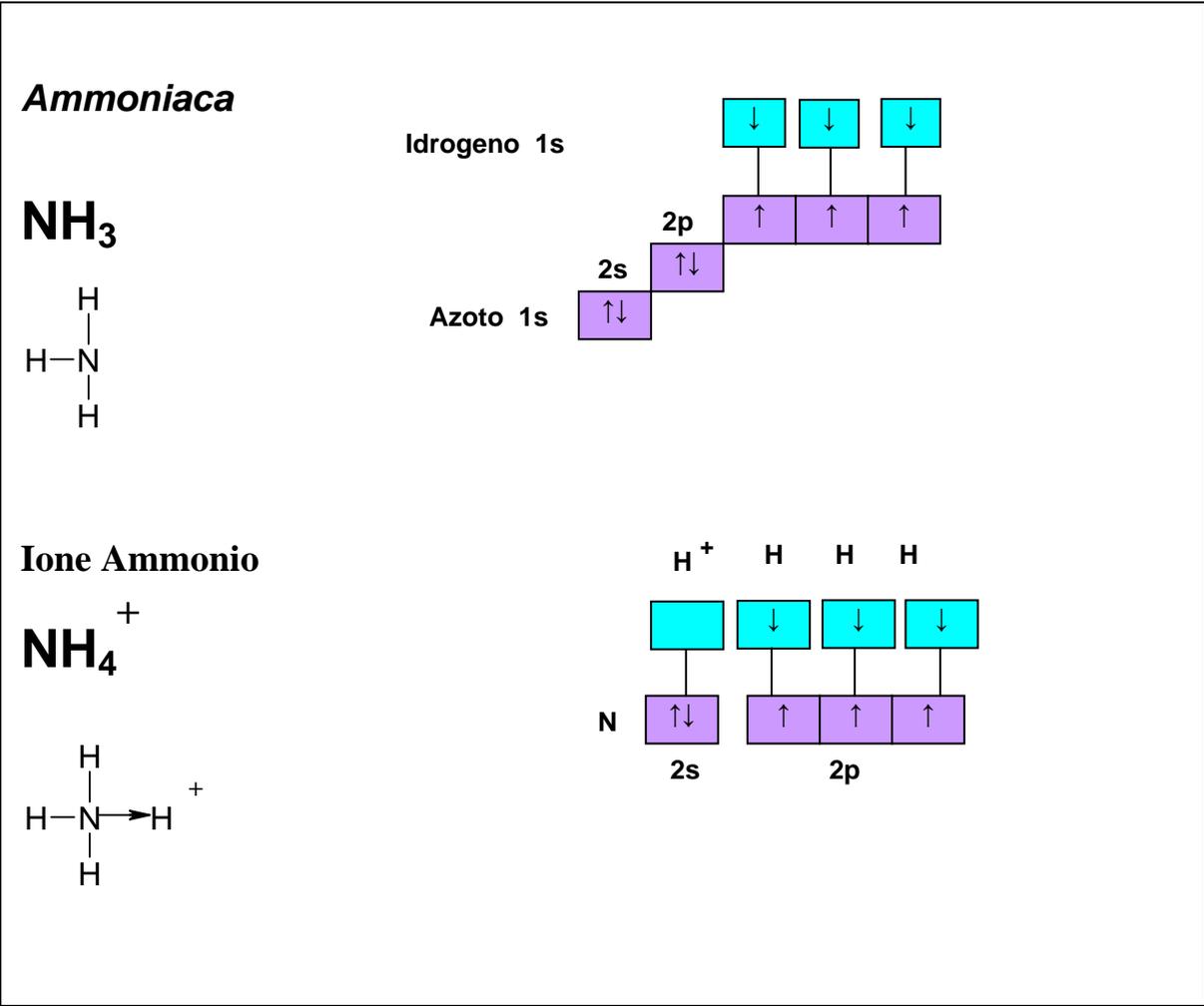
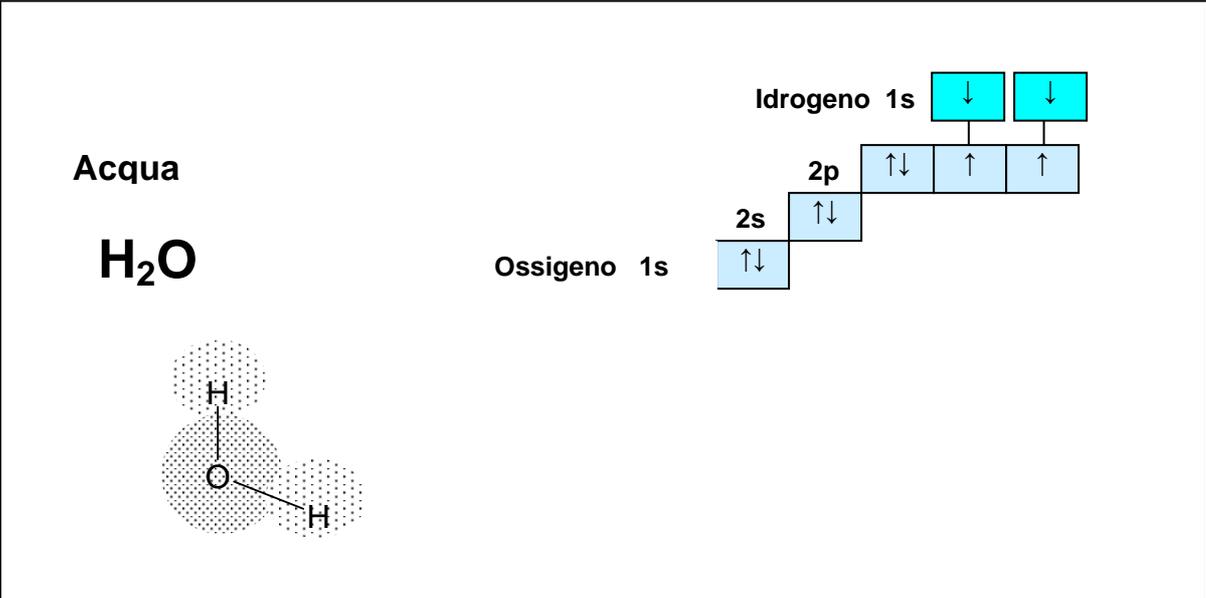
Es. Legame dativo: NH₄⁺

Legame idrogeno: è un legame elettrostatico che si forma tra un atomo di idrogeno, già legato covalentemente a un atomo molto elettronegativo, e un altro atomo elettronegativo. Un esempio tipico è rappresentato dai legami idrogeno che si stabiliscono tra molecole di acqua (legami intermolecolari):



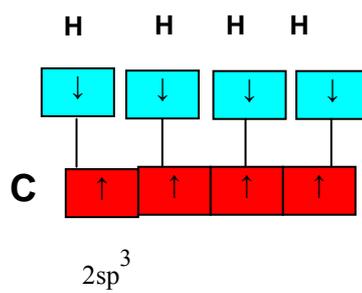
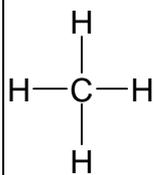
Forze di Van der Waals : sono forze di natura elettrostatica che si sviluppano quando molecole non polari sono portate molto vicine le une alle altre; esse sono dovute alla polarizzazione della nube elettronica di un atomo provocata dal campo elettrico degli atomi vicini.

Energia di legame: è la quantità di energia necessaria per rompere un legame e cioè per separare interamente due atomi o ioni direttamente uniti.



Metano

CH₄



NOMENCLATURA CHIMICA

Definizioni e nomenclatura degli idracidi, ossidi, anidridi, basi, acidi, sali.

CARATTERI GENERALI DEGLI ELEMENTI

	Metalli	Non metalli
1	Sono tutti solidi, a temperatura ordinaria, tranne il mercurio che è liquido	Sono solidi o gassosi, eccetto il bromo che è liquido
2	Hanno lucentezza metallica	Tranne qualche eccezione, se solidi hanno lucentezza vitrea o resinosa
3	Sono malleabili (riducibili in lamine), duttili (riducibili in fili), tenaci (resisti alla frattura), buoni conduttori del calore e dell'elettricità.	Non hanno in genere queste proprietà
4	Sono elettropositivi, cioè hanno tendenza a cedere elettroni per diventare ioni positivi o cationi.	Sono elettronegativi, cioè acquistano elettroni diventando ioni negativi o anioni.
5	Hanno poca affinità con l'idrogeno	Hanno molta affinità con l'idrogeno

COMPOSTI

I composti si dicono generalmente binari, ternari, quaternari a seconda che risultino costituiti da 2, 3, 4 elementi. Esaminiamoli singolarmente, seguendo la vecchia sistematica.

COMPOSTI BINARI

■ Idracidi

Se l'idrogeno si unisce in un composto binario con elementi del VI o VII gruppo del sistema periodico, elementi che sono caratterizzati dall'aver una alta elettronegatività, gli elettroni di legame si allontanano dall'atomo di idrogeno che tende ad assumere una carica positiva. Dato che questi composti tendono a liberare ioni H^+ essi sono chiamati **idracidi** ed il nome del composto si ottiene dando il suffisso **-idrico** al nome dell'elemento. Avremo quindi:

HCl acido cloridico;
H₂S acido solfidrico;

(Se l'idrogeno si lega con un elemento degli altri gruppi, cui compete una elettronegatività non molto differente da quella dell'idrogeno, il legame tra i due atomi sarà prevalentemente di carattere covalente.

Esempi: CH₄, NH₃

Questi composti in genere hanno un nome d'uso (metano, ammoniaca).

IDRACIDI

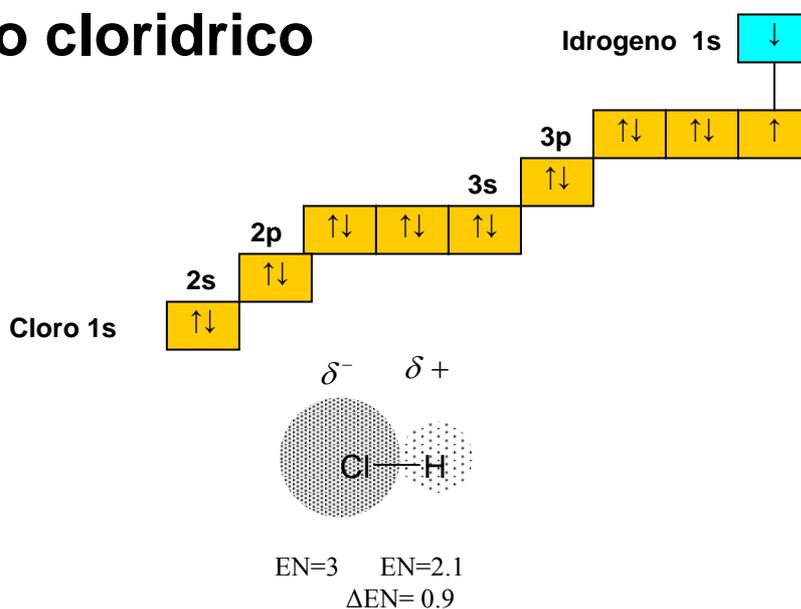
Composti binari dell'idrogeno con elementi non metallici aventi elevata elettronegatività (VI e VII gruppo);

Il legame è di tipo covalente polarizzato. In acqua gli idracidi si ionizzano in H⁺ e X⁻ formando soluzioni acide.

Es: acido cloridrico HCl

Acido cloridrico

HCl



■ Ossidi

Sono composti binari formati dalla combinazione tra un metallo e l'ossigeno.

Na₂O ossido di sodio

CaO ossido di calcio

Gli ossidi si ottengono unendo un metallo con l'ossigeno e accomodando la formula secondo la valenza. Generalmente vengono chiamati: ossido di e il nome del metallo. In base alla valenza del metallo e al rapporto fra questo e l'ossigeno, gli ossidi possono essere designati anche così:

- Protossidi o emiossidi, se il metallo è monovalente, per cui in ogni molecola il rapporto tra gli atomi del metallo e quello dell'ossigeno è di 2 a 1.

Na₂O protossido o emiossido di sodio

-Monossidi o ossidi propriamente detti, se il metallo è bivalente, per cui ogni molecola risulta formata da un atomo di metallo e uno di ossigeno.

CaO monossido o ossido di calcio

-Sesquiossidi, se il metallo è trivalente, per cui in ogni molecola il rapporto fra metallo e ossigeno è 2 a 3 cioè 1 a 1,5. (Sesqui=una metà in più, e sta ad indicare che in questo tipo di ossido un componente (l'ossigeno) è presente in quantità che è metà in più di quella dell'altro).

Al₂O₃ sesquiossido di alluminio

-Biossidi, se il metallo è tetravalente, per cui in ogni molecola si hanno un atomo di metallo e due di ossigeno.

PbO₂ biossido di piombo

Pb

I perossidi sono ossidi di metalli mono- e bivalenti, che contengono un atomo di ossigeno in più di quanto ne richieda la valenza del relativo metallo.

In questi particolari composti la valenza dell'elemento unito con l'ossigeno è uguale a quella che si nota nel composto meno ossigenato.

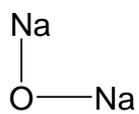
H₂O acqua con idrogeno monovalente;

H₂O₂ acqua ossigenata o perossido di idrogeno con H monovalente;

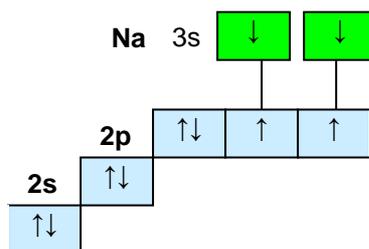
OSSIDI

composti binari formati dalla combinazione tra un metallo e l'ossigeno

Ossido di Sodio



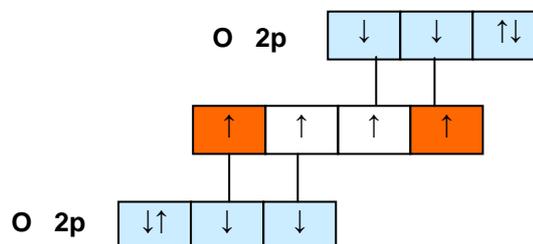
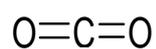
O



ANIDRIDI

composti binari formati dalla combinazione tra un non metallo e l'ossigeno.
Es anidride carbonica CO_2 ; Anidride solforosa SO_2 ; Anidride solforica SO_3

ANIDRIDE CARBONICA



COMPOSTI TERNARI

IDROSSIDI

Composti ternari formati da idrogeno, ossigeno e un metallo. Sono caratterizzati dalla presenza di uno o più gruppi OH.

Es: NaOH, Mg(OH)₂, Al(OH)₃.

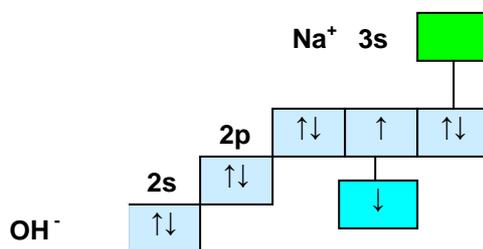
La nomenclatura è idrossido di.... Seguita dal nome del metallo. Se esistono nel composto più gruppi OH si ricorre ai prefissi *di-*, *tri-*; es diidrossido di Bario Ba(OH)₂.

Se esistono più ossidi dello stesso elemento, nella nomenclatura tradizionale, si usano i suffissi *-oso* (minor numero di OH) e *-ico* (maggiore numero di OH); es : Idrossido ferroso Fe(OH)₂

Idrossido ferrico Fe(OH)₃

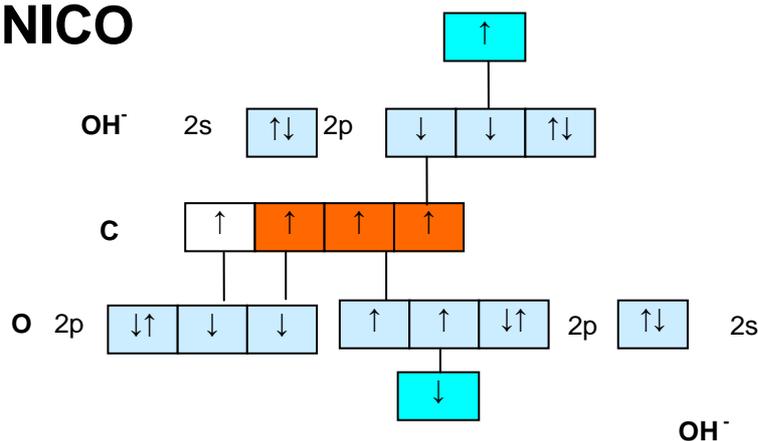
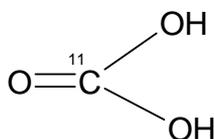
Gli idrossidi hanno generalmente proprietà basiche

Idrossido di Sodio NaOH



ACIDI

ACIDO CARBONICO



Nomenclatura degli acidi e delle basi.

La nomenclatura delle basi è molto semplice. Basta dire "idrossido di" ed il nome dell'elemento; esempi:

NaOH idrossido di sodio

Il nome degli acidi deriva dal nome delle anidridi da cui questi acidi derivano:

(anidride solforosa) $\text{SO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{SO}_3$ (acido solforoso)

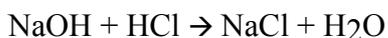
(anidride solforica) $\text{SO}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{SO}_4$ (acido solforico)

(anidride ipoclorosa) $\text{Cl}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{HClO}$ (acido ipocloroso)

(anidride perclorica) $\text{Cl}_2\text{O}_7 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{HClO}_4$ (acido perclorico)

Nomenclatura dei sali.

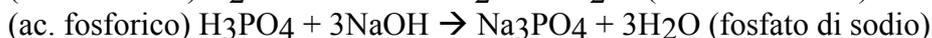
I sali si ottengono dalla reazione di un acido con una base, con eliminazione di una molecola di acqua.



Il nome dei sali deriva dal nome degli acidi, tenendo presente che il suffisso:

-idrico	diviene	-uro
-oso	"	-ito
-ico	"	-ato

Avremo per esempio:



Esistono **acidi poli-protici** cioè acidi che hanno più di un idrogeno sostituibile con un metallo. Vediamo ora alcuni esempi di nomenclatura dei sali che derivano da questi acidi:

NaH_2PO_4 : fosfato monosodico o fosfato biacido di sodio

Na_2HPO_4 : fosfato bisodico o fosfato monoacido di sodio

Na_3PO_4 : fosfatotrisodico o fosfato neutro di sodio.

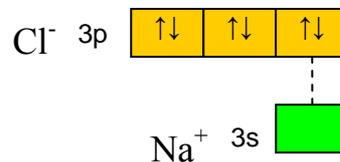
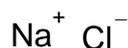
NaHCO_3 : carbonato monosodico o carbonato acido di sodio

Na_2CO_3 : carbonato bisodico o carbonato neutro di sodio.

Questi due ultimi hanno anche nomi d'uso, il primo si chiama anche **bicarbonato di sodio** ed il secondo soda. Come si vede da questi esempi, si indica il numero degli atomi di metallo o il numero degli idrogeni sostituibili ancora presenti.

SALI

CLORURO DI SODIO NaCl



ACIDI E BASI

Dissociazione elettrolitica: si indicano col nome di elettroliti quelle specie chimiche che in soluzione si scindono totalmente o parzialmente in ioni, cioè in particelle (atomi o gruppi di atomi) cariche elettricamente e solvate: gli ioni positivi prendono il nome di cationi, quelli negativi di anioni.

Allorchè un elettrolita passa in soluzione si dice che:

a) si dissocia, se già prima di passare in soluzione era costituito da ioni;

b) si ionizza e si dissocia, se prima di passare in soluzione era costituito da molecole con legami prevalentemente covalenti. frequentemente però si usa il verbo dissociare, sia in senso a) che in senso b).

Per un elettrolita in soluzione possono verificarsi due casi:

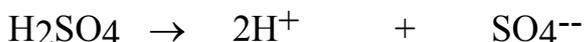
1) l'elettrolita è totalmente dissociato in ioni;

2) l'elettrolita è parzialmente dissociato in ioni, e una parte di esso è presente sotto forma di molecole indissociate.

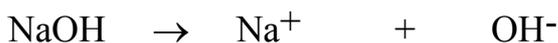
Nel primo caso si dice che l'elettrolita è forte, nel secondo che è debole: (sono forti alcuni acidi, ad es. HCl, alcune basi, ad es. NaOH, e praticamente tutti i sali).

Arrhenius (1887) definì acido un composto che in soluzione si dissocia liberando uno o più idrogenioni (H^+) e base un composto che in soluzione si dissocia liberando uno o più ossidrilioni (OH^-)

Acidi

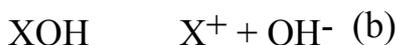


Basi:



Bronsted nel 1923 definì acido un composto AH capace di cedere un protone ad un altro composto B capace di accettarlo; il composto capace di accettare un protone ceduto da un acido viene definito base.

Un composto generico XOH può dissociarsi in due modi diversi



Se l'atomo del composto XOH è fortemente elettronegativo, l'ossigeno potrà addensare su di sé solo gli elettroni del legame O-H e questo favorisce la protonizzazione dell'idrogeno. Quindi in soluzione acquosa avviene la reazione (a) ed il composto si comporta da acido.

Se l'atomo X del composto XOH è dotato di una bassa elettronegatività, esso tende a cedere gli elettroni del legame X-O all'ossigeno, che quindi non richiama elettroni dal legame O-H. l'atomo X, cedendo gli elettroni di legame, si trasforma in X^+ e quindi il composto XOH si dissocia secondo la reazione (b), comportandosi da base.

Se infine l'atomo X del composto XOH ha una elettronegatività media, l'ossigeno addensa parzialmente su di sé sia gli elettroni del legame OH che quelli del legame XO. Quindi il composto XOH ha la possibilità di dissociarsi sia secondo la (a) che secondo la (b), comportandosi cioè da elettrolita anfotero.

Ricordando che il valore della elettronegatività degli elementi cresce spostandosi da sinistra a destra nel sistema periodico, risulta che, quando X è un elemento dei primi gruppi, il composto XOH si comporta da base, quando invece è degli ultimi gruppi, il composto XOH si comporta da acido.

Forza degli acidi e delle basi

Possiamo applicare la legge dell'azione delle masse alla reazione di dissociazione di un acido o di una base all'equilibrio.

La costante di equilibrio di un acido è chiamata *costante di dissociazione dell'acido*.

Ad ogni acido corrisponde una costante di dissociazione. Quanto più alto è il valore della costante, tanto più l'acido si dissocia e quindi tanto più idrogenioni avremo in soluzione. La costante di dissociazione di un acido dà quindi una misura della forza di un acido. Avremo acidi forti (quelli completamente dissociati) ed acidi deboli (quelli parzialmente dissociati).

pK

Si definisce pK di un acido *il logaritmo in base 10 dell'inverso della costante di dissociazione dell'acido*.

$$pK = \log \frac{1}{K}$$

Es.: Reazione di dissociazione dell'acido acetico



Applichiamo la legge di azione di massa a questo equilibrio:

$$\frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-] [\text{H}^+]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]} = K = 1,8 \times 10^{-5}$$

$$pK = \log 1 / 1,8 \times 10^{-5} = 4,74$$

Dato che il pK è il logaritmo dell'inverso della K, risulta che quanto più grande è il valore di K, tanto più piccolo è il valore del pK.

Risulta allora che quanto più basso è il valore del pK tanto più forte è l'acido.

Possiamo anche definire il pK di un acido come il pH al quale l'acido è per il 50% sotto forma dissociata e per il 50% sotto forma indissociata.

IL PRODOTTO IONICO DELL'ACQUA.



$$\frac{[\text{H}^+] [\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]} = K$$

$$[\text{H}^+] [\text{OH}^-] = K [\text{H}_2\text{O}]$$

in un litro d'acqua vi sono 1000/18 (peso molecolare dell'acqua) = 55,5 moli d'acqua.

$$[\text{H}^+] [\text{OH}^-] = K_w$$

Questa espressione è indicata come **prodotto ionico dell'acqua**.

La costante K_w ha il valore di 10^{-14}

Essendo quindi le concentrazioni degli idrogenioni e degli ossidrioni legate dalla equazione precedente, basta conoscere una delle due per poter risalire immediatamente all'altra.

Una soluzione viene chiamata acida se in essa la concentrazione degli idrogenioni è maggiore di 10^{-7} (e quindi se la concentrazione degli

ossidrioni è minore di questo valore). Una soluzione viene detta basica se la concentrazione degli idrogenioni è minore di 10^{-7} (e quindi se la concentrazione degli ossidrioni è maggiore di tale valore). Una soluzione viene chiamata neutra se la concentrazione degli idrogenioni è di 10^{-7} .

In altre parole, una soluzione è acida se vi sono più idrogenioni che ossidrioni, basica se vi sono meno idrogenioni che ossidrioni, neutra se questi due ioni sono in ugual concentrazione. Quindi l'acqua pura è neutra.

pH

Si definisce pH di una soluzione *il logaritmo, in base 10, dell'inverso della concentrazione idrogenionica*:

$$\text{pH} = \log \frac{1}{[\text{H}^+]} \quad \text{oppure} \quad -\log [\text{H}^+]$$

SISTEMI TAMPONE.

I sistemi tampone sono dei sistemi che si oppongono alle modificazioni del pH di una soluzione all'aggiunta di acidi e di basi.

a) Un sistema tampone è una soluzione contenente un acido debole ed un suo sale (con una base forte) o una base debole ed il suo sale (con un acido forte).

b) Il massimo potere tamponante si ha quando il pH del tampone è uguale al pK dell'acido (o della base) debole.

c) Il potere tamponante aumenta con la concentrazione del tampone.

d) Nel campo $(\text{pK}-1) < \text{pH} < (\text{pK}+1)$ un tampone sopporta l'aggiunta di acidi a basi fino ad un cinquantesimo della sua concentrazione, senza che il pH cambi apprezzabilmente.

Equazione di Henderson Hasselbach



$$K = \frac{[\text{A}^-][\text{H}^+]}{[\text{AH}]}$$

$$\frac{1}{[\text{H}^+]} = \frac{1}{K} \frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]}$$

$$\log \frac{1}{[\text{H}^+]} = \log \frac{1}{K} + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]}$$

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]}$$

nel caso di una soluzione di un acido debole con una base forte possiamo sostituire alla concentrazione dell'acido indissociato la concentrazione dell'acido totale. Il sale è completamente dissociato e quindi possiamo sostituire $[\text{A}^-]$ con la concentrazione del sale:

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{sale}]}{[\text{acido}]}$$

La mole ed il numero di Avogadro

Possiamo definire mole di un composto chimico una quantità in grammi di quel composto pari al peso molecolare.

L'acqua ha la formula H₂O ed è cioè costituita da due atomi di idrogeno legati ad un atomo di ossigeno. Una molecola di acqua avrà una massa pari alla somma delle masse dei singoli atomi che la costituiscono: 16+2= 18. Sulla base della definizione di mole, una mole di acqua sarà pari a 18 grammi di acqua.

Nel caso del cloruro di sodio (NaCl) una mole sarà pari a 58,5 grammi.

In una mole di qualsiasi composto chimico vi è sempre un numero di Avogadro (N) di molecole. Quindi 18 grammi di acqua contengono lo stesso numero di molecole di 58,5 grammi di NaCl.

Il numero di Avogadro (numero di molecole contenute in una mole di una sostanza) viene indicato con il simbolo N ed ha il valore di:

$$N = 6,023 \times 10^{23}$$

Uno dei metodi utilizzati per esprimere la concentrazione di una soluzione è la **molarità**. La molarità indica il numero di moli di soluto disciolti in un litro di soluzione. Una soluzione che contenga 58,5 gr di NaCl sciolti in un litro di soluzione acquosa avrà una concentrazione 1 Molare (1M).

CINETICA CHIMICA ED EQUILIBRI CHIMICI

Una reazione chimica consiste nella rottura o formazione (o ambedue) di legami chimici. La cinetica chimica è quella parte della chimica che studia la velocità delle reazioni. La velocità di una reazione chimica si esprime in moli (o mmoli o μ moli) di sostanza trasformata o prodotta nell'unità di tempo (sec, min o ore) per unità di volume (litro, millilitro).

Legge cinetica

$$V = K [A]^a [B]^b$$

K =costante di velocità

Definiamo ordine di reazione la somma degli esponenti che appaiono nella formula della legge cinetica.

Equilibrio chimico



$$V_1 = K_1 [A] [B]$$

$$V_2 = K_2 [C] [D]$$

All'equilibrio:

$$V_1 = V_2$$

$$K_1 [A] [B] = K_2 [C] [D]$$

$$\frac{K_1}{K_2} = \frac{[C] [D]}{[A] [B]}$$

$$\frac{K_1}{K_2} = K_{eq}$$

$$\frac{[C] [D]}{[A] [B]} = K_{eq}$$

dove K_{eq} è una costante (a temp. cost.) chiamata **costante di equilibrio della reazione**.

Legge di azione delle masse:

per una reazione chimica all'equilibrio, il rapporto tra il prodotto dei valori delle concentrazioni dei prodotti e quello dei valori delle concentrazioni dei reagenti è costante a temp. costante.

Quando abbiamo una reazione all'equilibrio, possiamo spostare a destra l'equilibrio, o diminuendo la concentrazione di un prodotto, o aumentando la concentrazione di un reattivo.

Principio dell'equilibrio mobile:

Dato un sistema all'equilibrio, se viene turbato l'equilibrio (per es. variando le concentrazioni dei reattivi o dei prodotti) la reazione si svolge in un senso tale da ripristinare l'equilibrio.

Richiami di chimica organica

1. *Composti organici.*
2. *Idrocarburi alifatici: Alcani, alcheni alchini.*
3. *Idrocarburi aliciclici.*
4. *Idrocarburi aromatici.*
5. *I gruppi funzionali e le classi di composti: Alcoli, tioalcoli, fenoli, eteri, aldeidi e chetoni, acidi carbossilici, esteri, ammine.*
6. *Amminoacidi e struttura delle proteine.*
7. *Principali eterociclici (furano, pirrolo, imidazolo, piridina, pirimidina, purina).*
8. *Nucleosidi e nucleotidi.*
9. *Glicidi: struttura dei monosaccaridi (glucosio, fruttosio, galattosio, ribosio), disaccaridi (saccarosio, lattosio), polisaccaridi (glicogeno, amido).*
10. *Lipidi: acidi grassi, trigliceridi, fosfolipidi e colesterolo.*

1) I composti organici:

La chimica dei composti del carbonio viene definita chimica organica e le relative sostanze vengono chiamati composti organici.

Il carbonio forma più composti di quanti ne formino tutti gli altri messi insieme; i suoi atomi possono legarsi tra loro per formare lunghe e stabili sequenze, dette **catene**. Queste possono essere lineari o ramificate, aperte o chiuse, e si possono rappresentare ricorrendo alle formule di struttura. In generale ciascuno degli atomi di carbonio forma quattro legami covalenti con altri atomi di carbonio o con altri elementi: tra questi l'idrogeno è quasi sempre presente e frequenti sono l'ossigeno, l'azoto e gli alogeni.

Idrocarburi

I più semplici composti del carbonio sono gli idrocarburi: essi sono caratterizzati dall'esclusiva presenza nelle loro molecole di atomi di carbonio e di idrogeno. Vengono classificati in idrocarburi alifatici e idrocarburi aromatici; gli idrocarburi alifatici vengono a loro volta classificati in alcani, alcheni e alchini.

Gli idrocarburi hanno una enorme importanza economica e politica, perché costituiscono una importante sorgente di energia. Nelle condizioni della vita cellulare gli idrocarburi hanno una scarsissima reattività; quindi non possono essere utilizzati dalle nostre cellule e non hanno importanza biologica. La conoscenza della loro struttura costituisce tuttavia la base per la comprensione della struttura e delle proprietà delle biomolecole.

2) Idrocarburi alifatici: Alcani, alcheni alchini:

- **Alcani:** negli alcani tutti i legami presenti nella molecola sono legami covalenti singoli. L'alcano più semplice è il metano, costituito da un solo

atomo di carbonio unito a 4 atomi di idrogeno (CH₄). Aggiungendo via via un atomo di carbonio alla volta con i relativi atomi di idrogeno si ottiene una serie di composti, gli alcani, la cui formula bruta può essere rappresentata da:



Come indica la formula generale, in ogni alcano il numero di atomi di idrogeno è pari al doppio più 2 del numero di atomi di carbonio (es per n=4 si avra C₄H_{2·4+2} → C₄H₁₀)

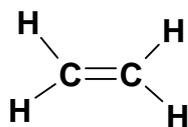
Nomi e formule dei primi sette alcani			
Nome	Formula molecolare	Formula di struttura	Formula di struttura condensata
Metano	CH₄	<pre> H H-C-H H </pre>	CH ₄
Etano	C₂H₆	<pre> H H H-C-C-H H H </pre>	CH ₃ CH ₃
Propano	C₃H₈	<pre> H H H H-C-C-C-H H H H </pre>	CH ₃ CH ₂ CH ₃
Butano	C₄H₁₀	<pre> H H H H H-C-C-C-C-H H H H H </pre>	CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₃
Pentano	C₅H₁₂	<pre> H H H H H H-C-C-C-C-C-H H H H H H </pre>	CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃
Esano	C₆H₁₄	<pre> H H H H H H H-C-C-C-C-C-C-H H H H H H H </pre>	CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃

Gli alcani sono classificati come composti saturi perché in essi ogni atomo di carbonio è legato covalentemente ad altri 4 atomi (di carbonio e di idrogeno), sono denominati anche paraffine (poco affini) perché manifestano scarsa reattività chimica. La causa di questa scarsa reattività va ricercata anche nella scarsa polarità della molecola (tra carbonio ed idrogeno la differenza di elettronegatività è molto piccola e quindi i legami sono poco polarizzati). Gli alcani non hanno la possibilità di formare ioni o legami idrogeno (sono apolari) e pertanto non sono solubili in acqua (*idrofobi*).

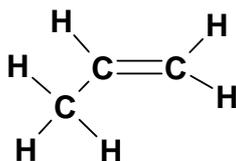
● Alcheni:

Gli alcheni sono caratterizzati dalla presenza nella loro molecola di un doppio legame carbonio-carbonio. La formula generale degli alcheni è C_nH_{2n} .

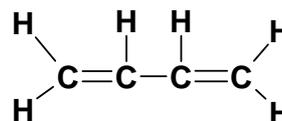
I nomi degli alcheni derivano da quello degli alcani con lo stesso numero di atomi di carbonio, mutando la desinenza *-ano* in *-ene*. Gli alcheni sono composti insaturi perché nella loro molecola esistono atomi di carbonio che sono legati a meno di 4 atomi. Quando gli idrocarburi presentano più di un doppio legame vengono definiti dieni(2) trieni (3)...(es butadiene 2 doppi legami). Quando contengono numerosi doppi legami sono definiti polieni.



etene



propene



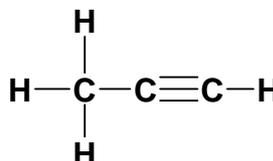
butadiene

● Alchini:

Gli alchini sono caratterizzati dalla presenza nella loro molecola di un triplo legame carbonio-carbonio. La formula generale degli alchini è C_nH_{2n-2} . I nomi degli alchini derivano da quello degli alcani con lo stesso numero di atomi di carbonio, mutando la desinenza *-ano* in *-ino*.



Etino (comunemente detto acetilene)



propino

3) Idrocarburi aliciclici:

Se lo scheletro carbonioso dell'idrocarburo alifatico si chiude ad anello si hanno gli idrocarburi aliciclici:

cicloalcani (C_nH_{2n}), es: *cicloesano*

cicloalcheni (C_nH_{2n-2}),

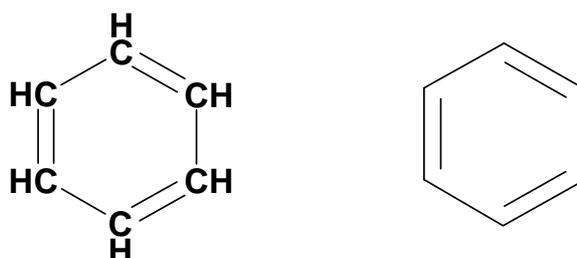
cicloalchini (C_nH_{2n-4})

4) Idrocarburi aromatici:

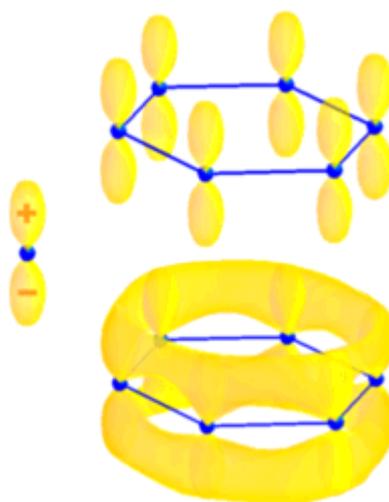
Benché l'aggettivo aromatico derivi dal fatto che i primi composti di questa classe scoperti ed identificati in passato possedessero odori intensi e caratteristici, oggi sono definiti come composti aromatici tutti i composti organici che contengono uno o più **anelli aromatici** nella loro struttura; la presenza di tali anelli conferisce loro reattività

particolari, molto diverse da quelle dei composti alifatici aventi peso molecolare e gruppi funzionali simili.

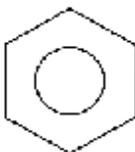
Per comprendere la struttura di un anello aromatico, esaminiamo il capostipite dei composti aromatici, il **benzene**, avente formula bruta C_6H_6 . La sua struttura è planare e presenta i sei atomi di carbonio disposti ai vertici di un esagono regolare; In genere gli atomi di carbonio sono rappresentati dai vertici dell'esagono, mentre gli atomi di idrogeno vengono sottointesi.



I sei atomi di carbonio hanno una ibridazione sp^2 : dei tre orbitali ibridi di ogni atomo di carbonio, due sono impiegati nei legami con i due atomi di carbonio adiacenti ed il terzo è usato per legare l'atomo di idrogeno. Gli orbitali p non ibridi dovrebbero unirsi a due a due per formare tre doppi legami alternati a tre legami singoli (tre doppi legami coniugati) come mostrato nella figura precedente. Se fosse così dovremmo avere tre legami con le caratteristiche del legame singolo e tre con le caratteristiche del legame doppio. In realtà i sei legami sono uguali e con caratteristiche intermedie tra il legame singolo ed il legame doppio. Si ritiene che gli orbitali p non ibridi si uniscano tutti e sei insieme, formando due nubi elettroniche che si trovano una sopra e l'altra sotto il piano determinato dagli atomi di carbonio (struttura ciclica planare). Questo fenomeno è stato indicato con il termine di **delocalizzazione elettronica** estesa a tutta la molecola.



Per indicare la delocalizzazione elettronica la formula del benzene può anche essere indicata come un esagono che contiene un cerchio.



Benzene



Tale configurazione risulta particolarmente stabile; la reattività dei composti aromatici è completamente diversa da quella degli alcheni. Mentre questi ultimi tendono a reagire addizionando atomi a sé, gli anelli aromatici tendono invece a preservarsi, favorendo reazioni di sostituzione.

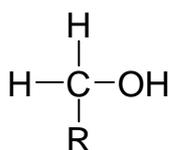
5) Gruppi funzionali:

Un gruppo funzionale è un atomo o un gruppo di atomi che, presente in un composto, ne caratterizza la reattività e le proprietà. (vedi tabella). Con R viene inteso il gruppo alchilico (raggruppamento di atomi di carbonio e di idrogeno).

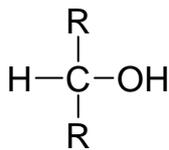
Struttura	Nome del gruppo	Classe di composto
$\begin{array}{c} \\ \text{R}-\text{C}-\text{OH} \\ \end{array}$	ossidrile	alcool
$\begin{array}{c} \quad \\ \text{R}-\text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{R} \\ \quad \end{array}$	alcossi	etere
$\begin{array}{c} \\ \text{R}-\text{C}=\text{O} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{R} \\ \\ \text{O} \end{array}$	carbonile	aldeide chetone
$\begin{array}{c} \text{O} \\ // \\ \text{R}-\text{C} \\ \backslash \\ \text{OH} \end{array}$	carbossile	Acido carbossilico
R-NH ₂	ammino	ammina
$\begin{array}{c} \text{O} \\ // \\ \text{R}-\text{C} \\ \backslash \\ \text{NH}_2 \end{array}$	ammidico	ammide
$\begin{array}{c} \text{O} \\ // \\ \text{R}-\text{C} \\ \backslash \\ \text{OR} \end{array}$	estereo	estere
R-Cl	cloro	cloruro
R-SH	sulfidrile	tioalcool

Alcooli

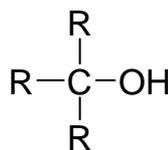
La formula generale degli alcooli è R-OH, in cui R è un gruppo alchilico. Gli alcooli si dicono primari, secondari o terziari, a seconda se il gruppo ossidrilico o alcolico (-OH) si trova legato ad un atomo di carbonio a sua volta legato ad uno o nessuno, a due o a tre atomi di carbonio:



primario



secondario



terziario

Secondo la nomenclatura ufficiale i nomi degli alcooli derivano da quelli dell'idrocarburo corrispondente cui si aggiunge "olo" e si indica con il numero più basso possibile la posizione del gruppo -OH nella catena principale. Per molti alcooli sono ancora in uso dei nomi ottenuti da quello del radicale alchilico da cui derivano, terminante in "ilico" e preceduto dalla parola alcol.

Riportiamo le formule, il nome scientifico e il nome comune di alcuni alcooli:

CH₃OH metanolo (alcool metilico)

CH₃CH₂OH etanolo (alcool etilico)

CH₃CH₂CH₂OH propanolo (alcool propilico)

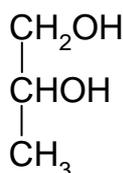
La presenza del gruppo alcolico in un composto ne aumenta la solubilità in acqua (per la possibilità di formare legami ad idrogeno) e la reattività (perché la presenza dell'atomo di ossigeno, molto più elettronegativo dell'atomo di carbonio, provoca una separazione di cariche nella molecola).

Polialcooli.

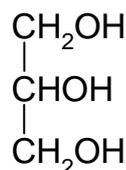
Polialcooli o alcooli polivalenti sono quelle sostanze che contengono nella loro molecola più gruppi alcolici.

Gli alcooli bivalenti sono detti dioli o glicoli, quelli trivalenti sono detti trioli.

Esempi:



glicol propilenico o 1,2-propandiolo



glicerina o glicerolo o 1,2,3-propantriolo

Principali reazioni di interesse in biologia:

Reazioni di esterificazione: reazione tra un alcol e un acido con rimozione di una molecola di acqua:

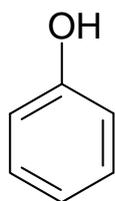
Reazioni di deidrogenazione ed ossidazione: da un alcool primario si ottiene un aldeide e da un alcool secondario un chetone (vedi dopo).

■ Fenoli

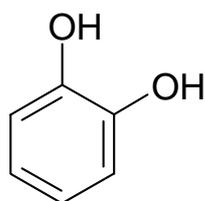
I fenoli sono composti organici che hanno uno o più gruppi ossidrilici (-OH) legati direttamente a un anello benzenico o aromatico. Si hanno così fenoli monovalenti, bivalenti, trivalenti e polivalenti a seconda del numero di ossidrili che contengono.

Non si devono confondere i fenoli con gli alcoli aromatici in cui il gruppo ossidrilico non è direttamente legato all'anello aromatico, ma fa parte di una catena alifatica che a sua volta è legata all'anello aromatico (confronta il fenolo con il fenil metanolo).

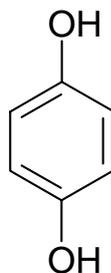
Il fenolo con un solo gruppo ossidrilico è chiamato semplicemente fenolo. Tra i fenoli bivalenti ricordiamo l'orto-difenolo detto pirocatechina e il para-difenolo detto idrochinone. Tra i fenoli trivalenti il pirogallolo (vedi formula)



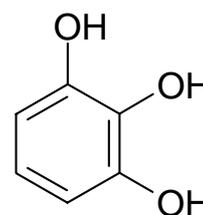
fenolo



pirocatechina



idrochinone



pirogallolo

Mentre gli alcoli non sono acidi, l'ossidrilico fenolico ha una certa tendenza a dissociarsi, in quanto l'anello benzenico ha un'azione elettrone-attrattrice. Quindi i fenoli sono acidi deboli ed il fenolo viene anche chiamato acido fenico.

● Tioalcoli

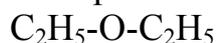
Il gruppo sulfidrilico (o tioalcolico) –SH è il gruppo funzionale dei tioalcoli, che hanno formula generale R-SH. Hanno uno spiccato potere riducente in quanto tendono ad ossidarsi a disolfuro secondo la reazione:



● Eteri

Gli eteri hanno la formula generale R-O-R; I due radicali possono essere uguali (eteri semplici) o diversi (eteri misti).

Esempio:

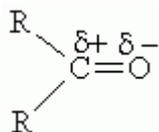


Etere dietilico o etere etilico

L'etere più noto è l'etere etilico, usato come solvente organico e come anestetico.

● Aldeidi e chetoni

Le aldeidi e i chetoni sono caratterizzati dalla presenza di un gruppo carbonilico –C=O; le aldeidi hanno formula generale R-CHO, mentre i chetoni R-CO-R'. Essendo l'atomo di ossigeno più elettronegativo dell'atomo di carbonio il legame –C-O risulta polarizzato con una parziale carica positiva sull'atomo di carbonio ed una parziale carica negativa sull'atomo di ossigeno.



Nomenclatura

Secondo la nomenclatura comune il nome delle aldeidi viene ricavato da quello degli acidi corrispondenti:

aldeide formica (formaldeide)- acido formico

aldeide acetica (acetaldeide)- acido acetico

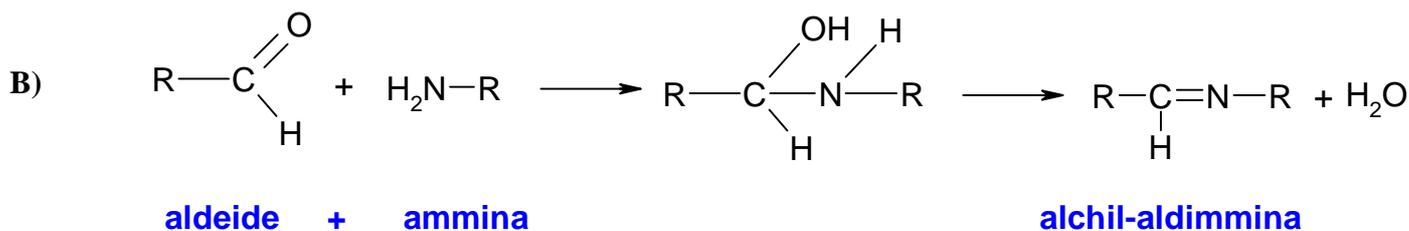
aldeide benzoica- acido benzoico

Secondo la nomenclatura IUPAC si fa terminare il nome in “ale”

Formaldeide-metanale

Acetaldeide-etanale

Aldeide propionica- propanale



● Acidi carbossilici

Il gruppo carbossilico $-\text{COOH}$ è il gruppo funzionale degli acidi carbossilici, che hanno formula generale $\text{R}-\text{COOH}$.

Secondo la nomenclatura ufficiale il nome dell'acido si ottiene da quello del corrispondente idrocarburo cambiandone la desinenza in $-\text{oico}$:

$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$ acido butanoico

Per molti composti sono ancora in uso dei nomi tradizionali:

$\text{H}-\text{COOH}$ acido formico (acido metanoico)

CH_3-COOH acido acetico (acido etanoico)

$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{COOH}$ acido propionico (acido propanoico)

$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$ acido butirrico (acido butanoico)

$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$ acido valerianico (acido pentanoico)

Ricordiamo alcuni acidi carbossilici a lunga catena ($>10\text{C}$) detti **acidi grassi**:

$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{COOH}$ acido palmitico (16 atomi di carbonio in totale: C16)

$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{16}-\text{COOH}$ acido stearico (18 atomi di carbonio in totale: C18)

Gli atomi di carbonio della catena possono essere indicati con i numeri arabi, assegnando la **posizione 1** al carbossile, o con le lettere dell'alfabeto greco assegnando la **posizione alfa** al carbonio adiacente al carbossile.

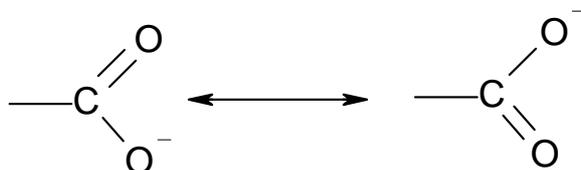
Possiamo dividere gli acidi carbossilici in acidi a catena breve ($<4\text{C}$), intermedia (4-10C), lunga (11-20) e molto lunga ($>20\text{C}$)

Il gruppo $-\text{COOH}$ è un gruppo acido che può dissociarsi in $-\text{COO}^-$ e H^+ .

Perché il gruppo $-\text{OH}$ nel contesto di un gruppo carbossilico è più acido del gruppo $-\text{OH}$ alcolico?

Nel caso di un gruppo alcolico l'azione elettrone-attrattrice di un solo atomo di ossigeno non basta per provocare la protonizzazione dell'idrogeno. Inoltre la carica negativa dell'elettrone prelevato all'idrogeno conferirebbe al piccolo atomo di ossigeno una densità di carica elettrica, e quindi un'energia, troppo elevata. Nel caso

del gruppo carbossilico vi è una più forte azione elettron-attrattrice dovuta al secondo atomo di ossigeno e la carica dello ione è delocalizzata su tre atomi (O-C-O). Infatti per l'anione carbossilato si possono scrivere due forme di risonanza:



dalle quali si vede come la carica negativa non sia localizzata su uno dei due atomi di ossigeno, ma ugualmente ripartita fra di essi. Anche il legame doppio non è localizzato con precisione, ma ambedue i legami tra carbonio ed ossigeni hanno caratteristiche intermedie di legame singolo e doppio.

Il carbonio del gruppo carbossilico $-\text{COOH}$ ha numero di ossidazione +3; questo è il numero massimo di ossidazione del carbonio in un composto organico. Nel composto inorganico anidride carbonica (CO_2) il carbonio ha numero di ossidazione +4.

Acidi bicarbossilici saturi

Contengono nella loro molecola due gruppi carbossilici.

Alcuni acidi bicarbossilici saturi di interesse in biologia:

Acido ossalico $\text{HOOC}-\text{COOH}$

Acido malonico $\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{COOH}$

Acido succinico $\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$

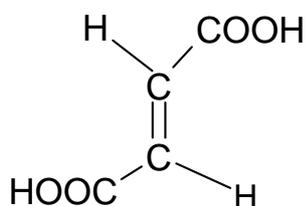
Acido glutarico $\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$

Acidi tricarbossilici

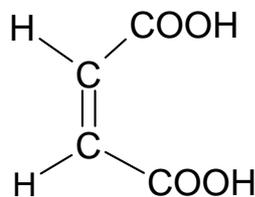
Vedi acido citrico nel capitolo sul ciclo di Krebs.

Acidi bicarbossilici insaturi

Ricordiamo gli acidi fumarico e maleico.



acido fumarico



acido maleico

Questi due composti isomeri ci permettono di ricordare un tipo particolare di isomeria (stessa formula bruta ma diversa formula di struttura), detta **isomeria**

geometrica o isomeria cis-trans. Questo tipo di isomeria compare in presenza di un doppio legame tra due atomi di carbonio. Il doppio legame impedisce la libera rotazione dei due atomi di carbonio uno rispetto all'altro e definisce un piano rispetto al quale si possono disporre i gruppi legati ai due atomi di carbonio. Se i due carbossili (o i due idrogeni) si trovano sullo stesso lato del piano definito dal doppio legame parleremo di forma cis ed il composto sarà l'acido maleico, mentre se si trovano su lati opposti parleremo di forma trans ed il composto sarà l'acido fumarico.

Reazioni degli acidi carbossilici:

- reazioni di esterificazione:** reazione tra un alcol e un acido con rimozione di una molecola di acqua
- reazione con ammoniaca per la formazione di ammidi**
- reazioni di decarbossilazione** (eliminazione del carbossile sotto forma di anidride carbonica)

Saponi

Si chiamano saponi i sali sodici o potassici degli acidi grassi, cioè degli acidi carbossilici alifatici a lunga catena carboniosa. I saponi sono sali e quindi in acqua si dissociano completamente in cationi Na^+ (o K^+) e in anioni R-COO^- . Questi anioni sono costituiti da una lunga catena carboniosa idrofobica e dal gruppo $-\text{COO}^-$ idrofilico. Per la presenza sulla stessa molecola di una parte idrofobica e di una parte idrofilica (molecola anfifilica) i saponi hanno la ben nota capacità tensioattiva e detergente.

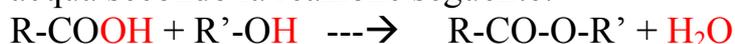
Anidridi

Le anidridi sono i prodotti ottenuti dalla disidratazione degli acidi. Si formano in seguito alla reazione di due molecole di un acido (organico, inorganico o di entrambi i tipi) con perdita di una molecola di acqua.



● Esteri

Gli esteri sono importanti derivati degli acidi carbossilici e risultano formati da una molecola di acido e una molecola di alcool con eliminazione di una molecola di acqua secondo la reazione seguente:



La molecola di acqua eliminata proviene dall'idrogeno dell'alcool e dall'ossidrile dell'acido nel caso degli alcoli primari e secondari.

Il nome degli esteri viene coniato considerandoli come sali alchilici degli acidi carbossilici:



I gliceridi sono esteri del glicerolo (alcool trivalente) con acidi grassi. Vedi il capitolo sui lipidi per la definizione di mono, di, e trigliceridi.

Di particolare importanza biologica sono gli esteri formati tra un acido inorganico (acido fosforico) ed un gruppo alcolico: esteri fosforici (vedi ad esempio il glucosio-6-fosfato nella glicolisi).

● Ammine

Le ammine alifatiche si possono considerare derivate dall'ammoniaca per sostituzione di uno o più atomi di idrogeno con radicali alchilici. Si distinguono ammine primarie, secondarie e terziarie a seconda del numero di sostituenti alchilici legati all'azoto. I composti che possiedono quattro sostituenti legati all'atomo di azoto sono ioni positivi e vengono indicati come ioni ammoniaci quaternari. Le ammine secondarie si chiamano anche immine.

RNH₂ amina primaria	R₂NH secondaria	R₃N terziaria	R₃N⁺-H (o R) ione ammonio quaternario
--	--------------------------------------	------------------------------------	---

Il nome delle ammine può risultare costituito da quello dell'idrocarburo corrispondente preceduto dal prefisso ammino, oppure premettendo alla parola ammina il nome dei radicali alchilici in essa presenti:



Il doppietto di elettroni presente sull'atomo di azoto delle ammine conferisce alle stesse due fondamentali caratteristiche: a) le ammine sono basiche, b) l'azoto amminico è nucleofilo.

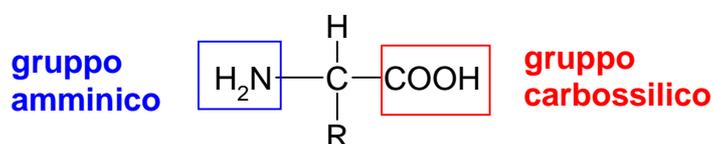
Le ammine, praticamente, sono gli unici composti organici che possono funzionare da base.



L'azoto amminico è nucleofilo e reagisce con atomi elettrofili: ad es. la reazione tra aldeide ed ammina primaria.

6) Amminoacidi e struttura delle proteine

Gli amminoacidi sono composti che contengono due gruppi funzionali: il gruppo carbossilico -COOH e il gruppo amminico -NH₂



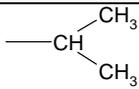
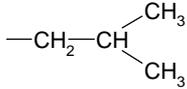
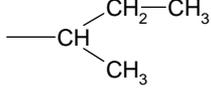
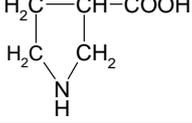
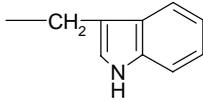
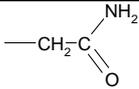
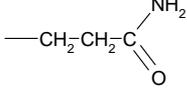
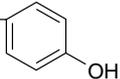
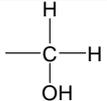
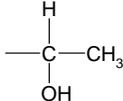
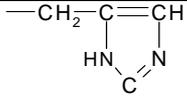
Il carbonio legato al gruppo carbossilico prende il nome di carbonio alfa. Gli amminoacidi hanno proprietà acido-base: acide grazie al gruppo carbossilico, che ha la tendenza a perdere il protone H⁺ e diventare COO⁻; basiche in quanto il gruppo amminico ha la capacità di acquisire una carica positiva NH₃⁺. Le molecole che in natura hanno la proprietà acido-base sono definite **anfotere**.

Gli amminoacidi differiscono tra loro soltanto per il gruppo R. Venti differenti amminoacidi entrano nella costituzione delle proteine (aminoacidi proteici). Quelli che l'organismo non è in grado di autoprodurre si chiamano essenziali e sono in tutto 8: **triptofano, fenilalanina, lisina, treonina, metionina, leucina, isoleucina e valina. Istidina ed arginina** sono considerati semi-essenziali perché sono essenziali solo negli organismi in fase di accrescimento.

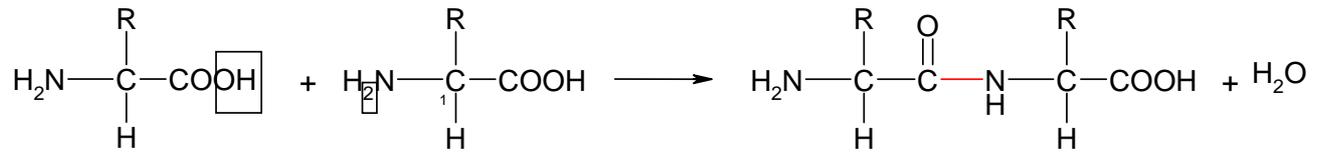
In base alle caratteristiche del gruppo laterale (R) gli amminoacidi possono essere:

- 1) POLARI (idrofilo)
- 2) APOLARI (idrofobo)
- 3) ACIDI
- 4) BASICI

(vedi tabella)

idrofobi			
G	Gly	Glicina	-H
A	Ala	Alanina	-CH ₃
V	Val	Valina	
L	Leu	Leucina	
I	Ile	Isoleucina	
P	Pro	Prolina	
M	Met	Metionina	-CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₃
W	Trp	Triptofano	
F	Phe	Fenilalanina	-CH ₂ - 
idrofili			
N	Asn	Asparagina	
Q	Gln	Glutammina	
C	Cys	Cisteina	-CH ₂ -SH
Y	Tyr	Tirosina	-CH ₂ - 
S	Ser	Serina	
T	Thr	Treonina	
acidi			
D	Asp	Acido aspartico	-CH ₂ -COOH
E	Glu	Acido glutammico	-CH ₂ -CH ₂ -COOH
basici			
H	His	Istidina	
K	Lys	Lisina	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -NH ₂
R	Arg	Arginina	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -NH-C(=NH ₂)-CH ₂

Per eliminazione di una molecola di acqua, il gruppo amminico di un aminoacido può legarsi al gruppo carbossilico di un altro:



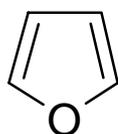
il legame che unisce due aminoacidi, evidenziato in rosso, prende il nome di **legame peptidico o carboammidico**. Una catena di più aminoacidi legati attraverso legami peptidici prende il nome generico di polipeptide; uno o più polipeptidi, a volte accompagnati da altre molecole ausiliarie, costituiscono una **proteina**.

7) Eterociclici

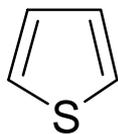
Gli eterociclici sono dei composti insaturi a catena carboniosa chiusa (struttura ad anello), che differiscono dagli idrocarburi aromatici in quanto non tutti gli atomi dell'anello sono atomi di carbonio. Gli eterociclici si dividono in pentaatomici ed esaatomici, a seconda che l'anello è formato da 5 o 6 atomi. Un'ulteriore suddivisione è basata sul numero degli **eteroatomi** (atomi diversi dal carbonio).

Esamineremo alcuni composti eterociclici costituiti da anelli con carattere aromatico per la presenza di un sestetto di elettroni coniugati.

• Eterociclici pentaatomici con un eteroatomo.



furano

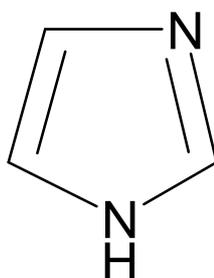


tiofene



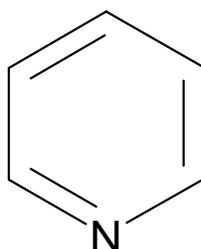
pirrolo

• Eterociclici pentaatomici con due eteroatomi



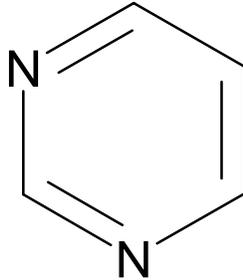
imidazolo

• Eterociclici esaatomici con un eteroatomo



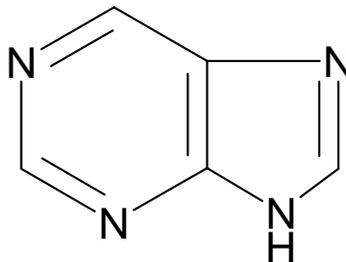
piridina

• **Eterociclici esaatomici con due eteroatomi**



pirimidina

• **Eterociclici con anelli condensati**



purina

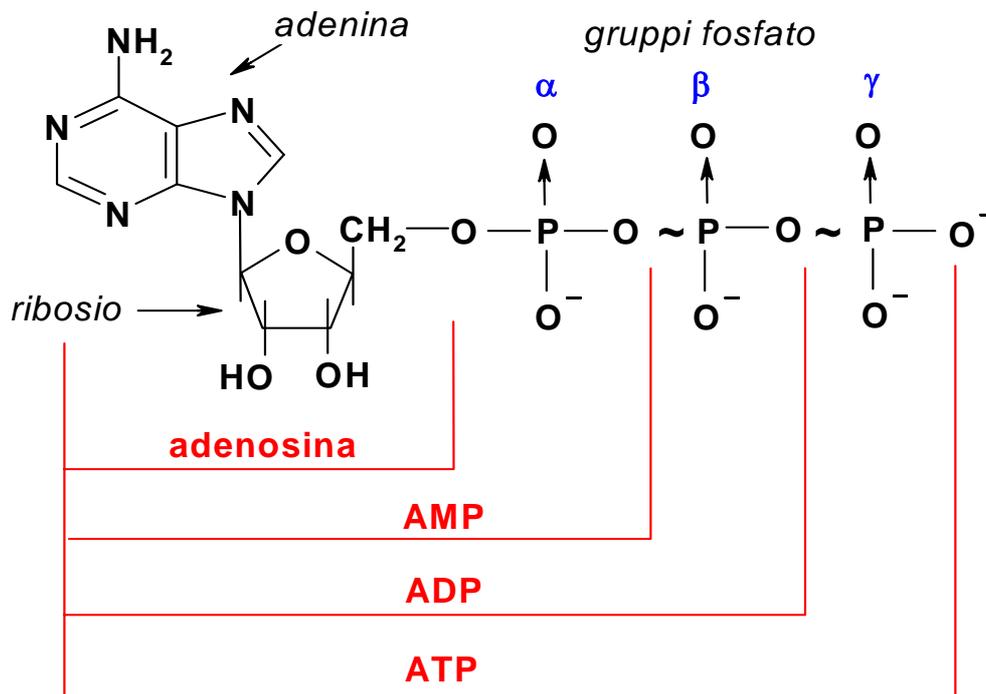
8) Nucleosidi e nucleotidi

In generale un **nucleotide** è formato da una base azotata eterociclica (purinica o pirimidinica), da uno zucchero (ribosio o deossiribosio) e da uno o più fosfati. Vengono detti **nucleosidi** i composti che si ottengono dall'unione (con legame N-glicosidico) tra la base azotata e il ribosio (ribonucleosidi) o il deossiribosio (deossiribonucleosidi).

Gli esteri fosforici dei nucleosidi sono i **nucleotidi**.

Es:

L'adenina e il ribosio formano l'**adenosina**, che è un nucleoside. L'adenosina più un **fosfato** forma una molecola di **AMP (adenosin monofosfato)** o **acido adenilico**. L'**AMP** può legare un altro **fosfato** diventando **ADP (adenosin difosfato)**. Una molecola di ADP può legare un altro fosfato diventando **ATP (adenosin trifosfato)**.



9) Zuccheri o glucidi.

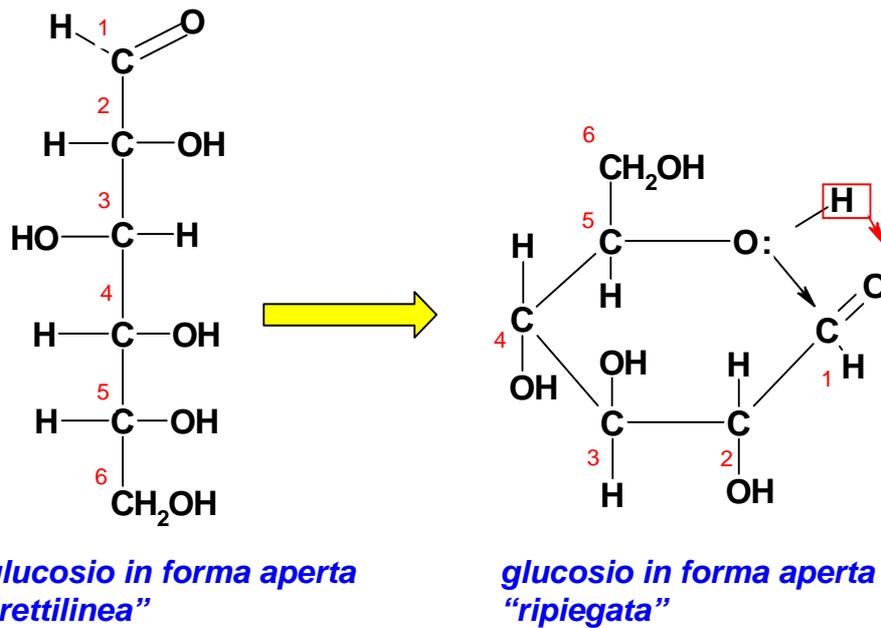
Gli zuccheri o glucidi sono derivati aldeidici o chetonici di polialcoli.

I glucidi sono anche denominati carboidrati, poiché nella loro formula il rapporto idrogeno/ossigeno è di 2/1 come nell'acqua: $(CH_2O)_n$ (formula bruta degli zuccheri) dove n può variare da 3 a 9, donde le denominazioni di *triosi*, *tetrosi*, *pentosi*, *esosi*, *eptosi*, ecc.

Essi si distinguono in aldosi o chetosi: i primi contengono il gruppo carbonilico ($C=O$) in posizione terminale, mentre gli altri in posizioni intermedie.

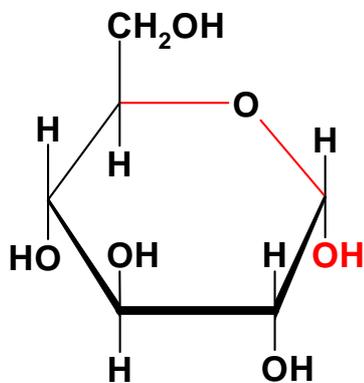
Il **glucosio** è una molecola a 6 atomi di carbonio che rientra tra gli aldosi in quanto, nella forma aperta, il gruppo aldeidico è presente in posizione C1, in C(2-3-4-5) sono presenti quattro gruppi alcolici secondari e in C6 il gruppo alcolico primario.

Il gruppo aldeidico reagisce intramolecolarmente con il gruppo alcolico del carbonio 5 dando origine ad una struttura ciclica (*semiacetale interno*)

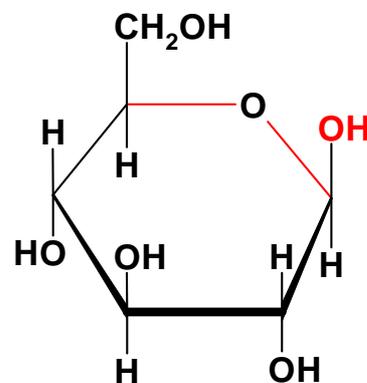


In seguito a tale legame si ottiene uno spostamento dell'idrogeno dal gruppo alcolico in C5 al gruppo carbonilico in C1, che diventa così gruppo alcolico. C1 e C5 sono legati covalentemente all'ossigeno e viene stabilizzata la struttura ciclica del glucosio (*forma piranosica*).

Nota: da questo momento in poi non verranno indicati gli atomi di carbonio: nelle strutture cicliche si intende siano espressi ai vertici dei poligoni che le rappresentano.

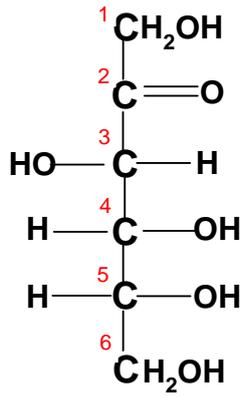


alfa-glucosio:
il gruppo ossidrilico in C1 è disposto al di sotto dell'anello piranosico

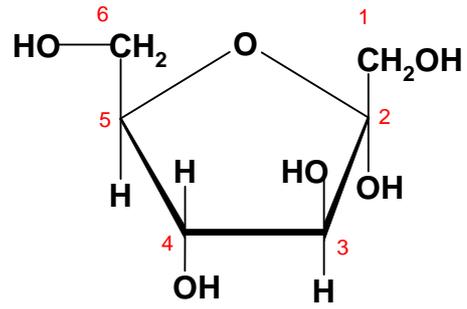


beta-glucosio:
il gruppo ossidrilico in C1 è disposto al di sopra dell'anello piranosico

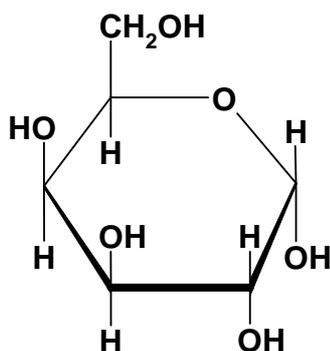
Il fruttosio è sempre un esoso, ma rientra tra i chetosi, in quanto il gruppo carbonilico, nella forma aperta rettilinea, è in posizione C2. Anche nel fruttosio avviene una reazione intramolecolare che dà origine ad un anello pentaciclico (furanosico), in quanto il legame si stabilisce tra C2 e C5.



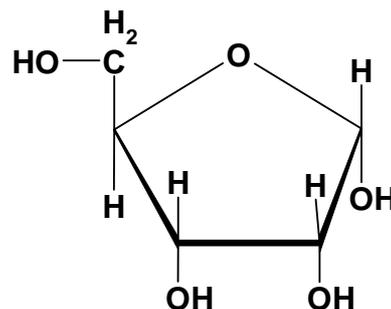
Fruttosio:
forma rettilinea “aperta”



Fruttosio:
forma ciclica o “furanosica”



Galattosio:



Ribosio:

Il galattosio è un aldoso, uguale al glucosio nella composizione, simile ad esso nella struttura, l'unica differenza fra i due esosi è nella posizione dell'-OH sul C-4. Due zuccheri che differiscono solo per la posizione di un gruppo -OH attorno ad un atomo di carbonio vengono definiti **epimeri**. Il galattosio è l'epimero in C4 del glucosio.

Il galattosio viene prodotto in piccole quantità dal nostro organismo e viene utilizzato per la sintesi di polimeri complessi. La maggior parte del galattosio usato dal nostro organismo ha una origine esogena; esso infatti è il costituente di un importante e diffuso disaccaride: il lattosio (lo zucchero del latte).

Il ribosio è contenuto in ogni cellula e fa parte di strutture complesse quali l'acido ribonucleico (RNA) e l'adenosintrifosfato (ATP). È un pentoso indispensabile per gli esseri viventi.

■ Disaccaridi:

Un disaccaride si forma quando due monosaccaridi reagiscono tra loro, il primo con l'ossidrile della sua struttura emiacetaleica ed il secondo con uno qualsiasi dei suoi ossidrilili eliminando una molecola d'acqua.; comunemente il legame fra due o più monosaccaridi viene chiamato legame glicosidico.

Principali disaccaridi:

maltosio, due molecole di α -glucosio

lattosio, una molecola di d-glucosio e una di d-galattosio

saccarosio, una molecola di glucosio e una di fruttosio.

■ I polisaccaridi.

Sono *polimeri di monosaccaridi* o loro derivati.

Da un punto di vista *strutturale* si possono dividere in:

omopolisaccaridi: formati da un solo tipo di monosaccaride;

eteropolisaccaridi: formati da due o più tipi di monosaccaridi.

Dal punto di vista *funzionale* si possono distinguere:

polisaccaridi nutrizionali o di riserva (amido nei vegetali, glicogeno negli animali);

polisaccaridi strutturali o di sostegno (cellulosa nei vegetali, mucopolisaccaridi o chitina negli animali).

L' amido

E' un polimero dell'alfa-glucosio e rappresenta il tipico polisaccaride di riserva dei vegetali dove è depositato nei semi, nei tuberi e nelle radici in forma di granuli. I granuli di amido contengono due omopolisaccaridi, entrambi polimeri dell'alfa-glucosio: l'*amilosio* (20-28%) e l'*amilopectina* (72-80%). L'amilosio consiste di catene lineari composte da unità di alfa-glucosio (da 200 a 300) unite fra di loro da legami alfa-1,4-glucosidici. L'amilopectina è invece costituita da catene ramificate (da 10.000 a 20.000 molecole di alfa-glucosio). (Si veda più avanti la spiegazione sulle basi strutturali delle ramificazioni nel paragrafo sul glicogeno).

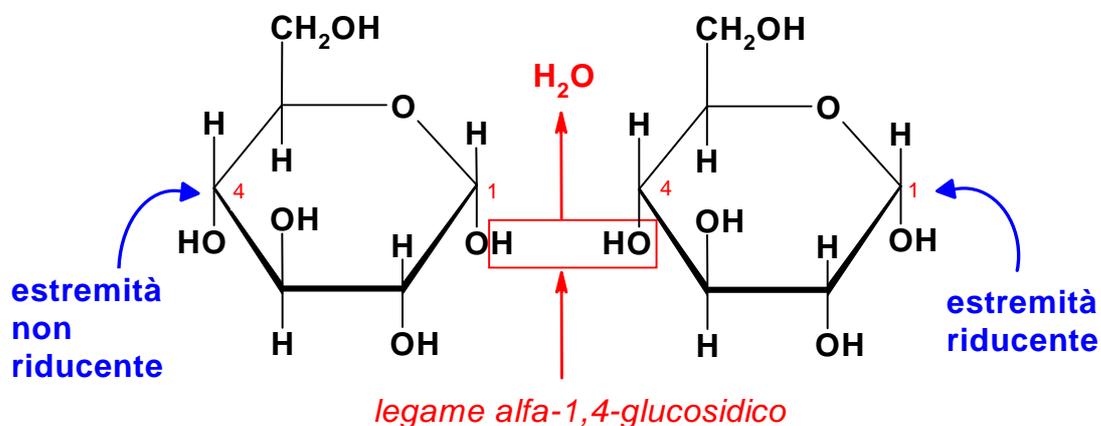
Prodotti di parziale idrolisi dell'amido sono le destrine, impiegate come additivi alimentari.

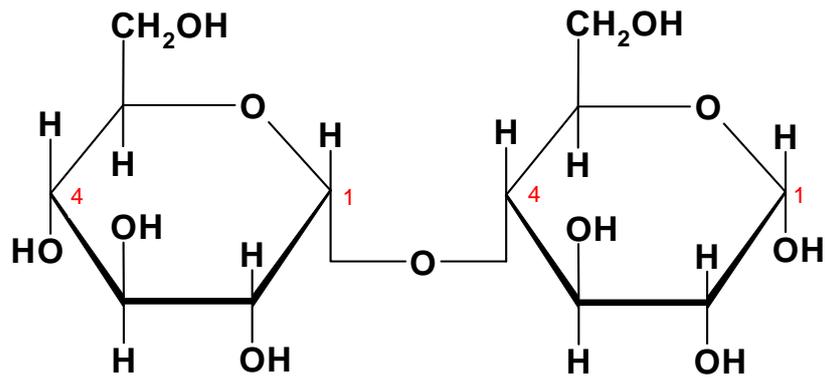
Il glicogeno

E' un *polimero dell'alfa-glucosio* e rappresenta il tipico polisaccaride di riserva degli animali.

Nella molecola del glicogeno (e dell'amido) le molecole di glucosio sono legate fra di loro con *legame alfa-1,4-glucosidico*.

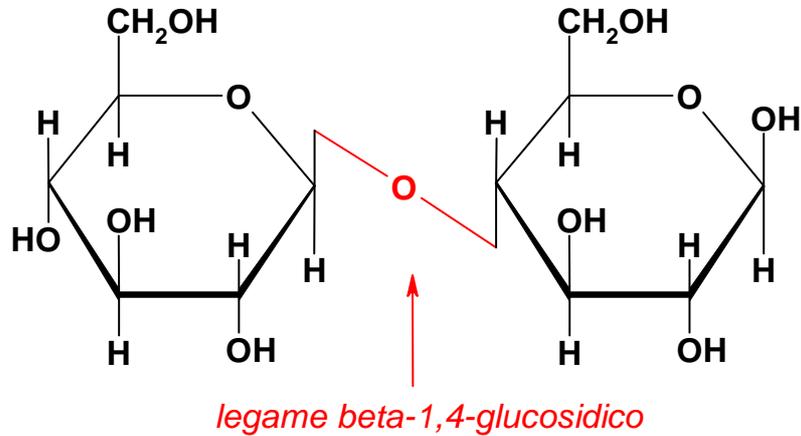
Si può considerare il legame alfa-1,4-glucosidico come il risultato della reazione tra OH del C1 di una molecola di glucosio ed OH del carbonio 4 della molecola successiva, con rimozione di una molecola di acqua e formazione di un ponte ad ossigeno tra C1 e C4.





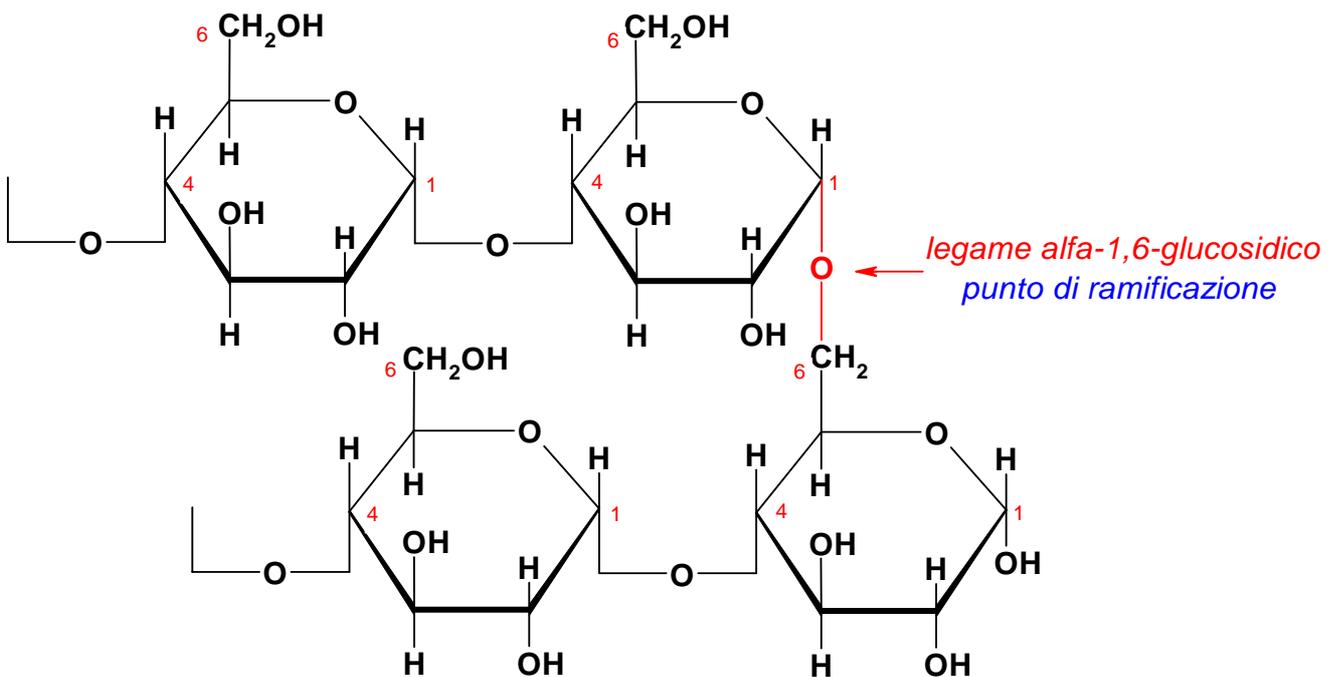
Il disaccaride (unione di 2 glicidi) mostrato nella figura precedente si chiama **maltosio**.

I polimeri formati da n molecole di beta-glucosio formano polisaccaridi non digeribili dal nostro organismo (la cellulosa), in quanto non vi sono enzimi digestivi in grado di idrolizzare il legame beta-1,4-glicosidico.



Il glicogeno sarà formato da numerose unità glicidiche di alfa-glucosio unite da legami alfa-1,4-glicosidici. Si ottiene una catena lineare con due estremità: l'estremità con l'OH libero in C1 (estremità riducente) e l'estremità con l'OH libero in C4 (estremità non riducente). Il glicogeno accresce le sue dimensioni aggiungendo molecole di alfa-glucosio dall'estremità **non riducente**.

In realtà il glicogeno è un polimero ramificato, infatti in alcuni punti, detti *di ramificazione*, le catene lineari sono unite tra loro con *legami alfa-1,6-glicosidici*.



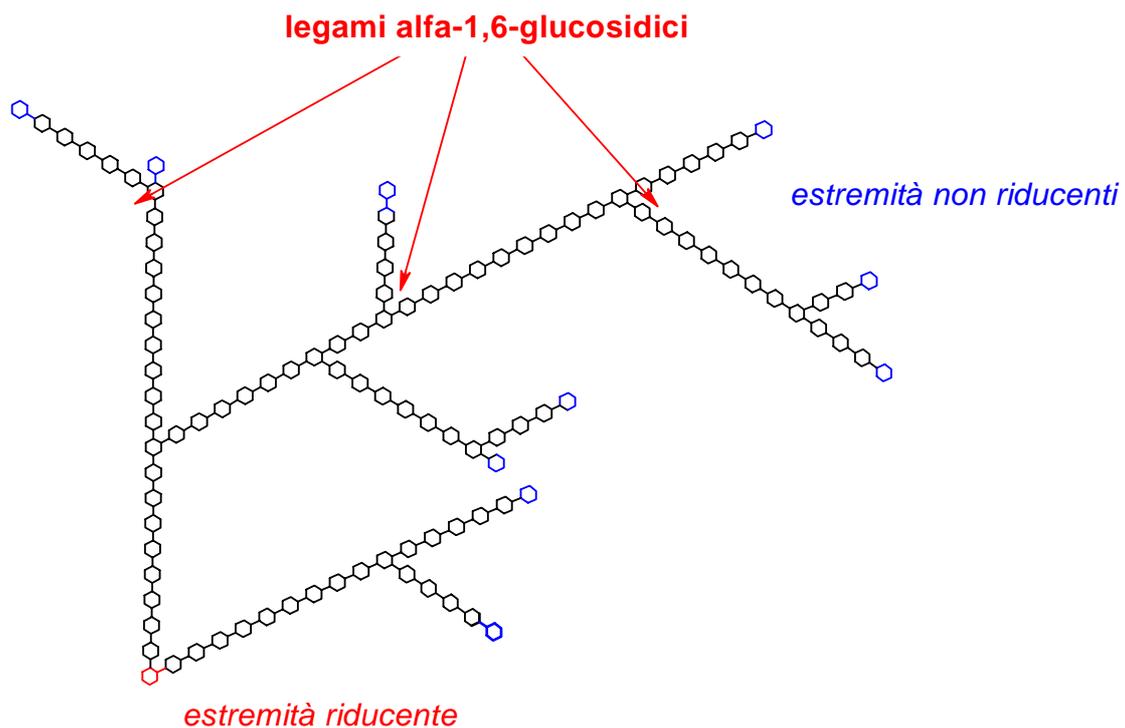
La frequenza di legami alfa-1,6-glicosidici è di 1 ogni 10 legami alfa-1,4-glicosidici. Il glicogeno è più ramificato rispetto alla molecola dell'amilopectina dell'amido. Nel caso dell'amilopectina, infatti, il rapporto tra legami alfa-1,4-glicosidici e legami alfa-1,6-glicosidici è di 20:1.

La molecola del glicogeno ha dunque l'aspetto di un cespuglio molecolare con una sola estremità riducente e numerose estremità non riducenti (vedi figura). Fino a 30.000 unità di glucosio possono partecipare alla formazione di un molecola di glicogeno (peso molecolare 5×10^6).

E' possibile osservare con la microscopia elettronica i depositi di glicogeno nei tessuti sotto forma di granuli di glicogeno.

Qual'è il vantaggio fornito dalla presenza delle ramificazioni? Come vedremo la sintesi del glicogeno (glicogenosintesi) e la sua degradazione (glicogenolisi) procedono a partire dall'estremità non riducente.

La presenza di numerose estremità non riducenti per molecola di glicogeno accelera la velocità dei processi metabolici del glicogeno.



10) Lipidi: acidi grassi, trigliceridi, fosfolipidi e colesterolo

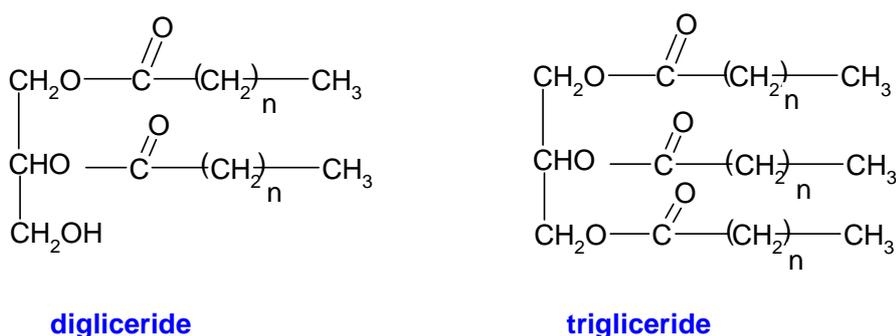
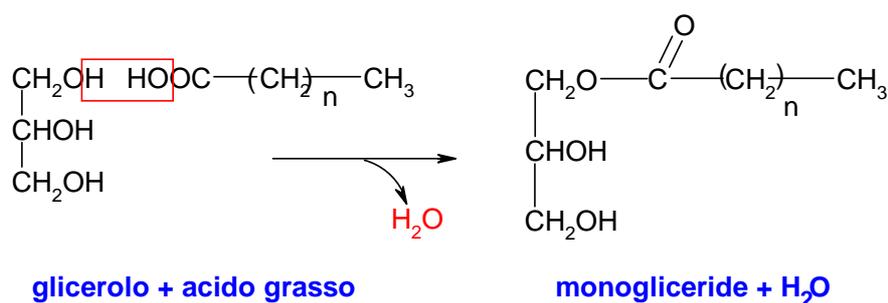
I lipidi, o grassi, costituiscono un gruppo eterogeneo di sostanze accomunate dalla proprietà fisica della insolubilità nei solventi polari, ad esempio acqua (idrofobicità), e dalla solubilità nei solventi apolari, ad esempio cloroformio, etere, ecc. (lipofilicità).

■ Gli acidi grassi

Gli acidi grassi vengono rappresentati con la formula R-COOH, dove R è un gruppo alchilico. Gli acidi grassi possono essere suddivisi in classi a seconda della lunghezza della catena di atomi di carbonio che può essere: corta (da 2 - 3 atomi di carbonio), media (da 4 a 10 atomi di carbonio) e lunga (da 12 a 26 e oltre atomi di carbonio). La gran parte degli acidi grassi presenti nelle cellule umane è del tipo a lunga catena. Quasi tutti gli acidi grassi presenti in natura contengono un numero pari di atomi di carbonio. Gli acidi grassi che non contengono doppi legami vengono detti saturi. Quelli che posseggono un solo doppio legame si dicono *acidi grassi monoinsaturi* e quelli con due o più doppi legami si dicono *acidi grassi poliinsaturi*.

■ I gliceridi

I gliceridi, detti anche acilgliceroli, sono esteri neutri del glicerolo e di acidi grassi a lunga catena. Il glicerolo (o glicerina) è un alcool a tre atomi di carbonio con un gruppo ossidrilico per ogni carbonio (trivalente). Gli acidi grassi sono uniti all'alcool tramite legami esterei (con l'eliminazione di una molecola di acqua):



Possiamo definire i gliceridi come esteri del glicerolo con uno o più acidi grassi (mono-, di- e trigliceridi, vedi figura). I gliceridi sono molecole totalmente idrofobiche in quanto non presentano alcuna polarità: la parziale solubilità dovuta ai gruppi alcolici del glicerolo e la parziale solubilità degli acidi grassi dovuta alla presenza del gruppo carbossilico si è persa nel processo di esterificazione.

■ I fosfolipidi

I fosfolipidi sono molecole composte da una regione lipidica (insolubile in acqua e solubile in solventi organici) e da un residuo di acido ortofosforico (gruppo fosfato). I fosfolipidi presenti nelle membrane cellulari animali sono classificati, in base all'alcool più rappresentativo contenuto nella loro struttura, in: glicerofosfolipidi (o fosfogliceridi) e sfingofosfolipidi, a seconda che l'alcool sia, rispettivamente, glicerolo o sfingosina.

Glicerofosfolipidi

Derivano dal glicerolo legato in posizione 3 con l'acido ortofosforico (H_3PO_4).

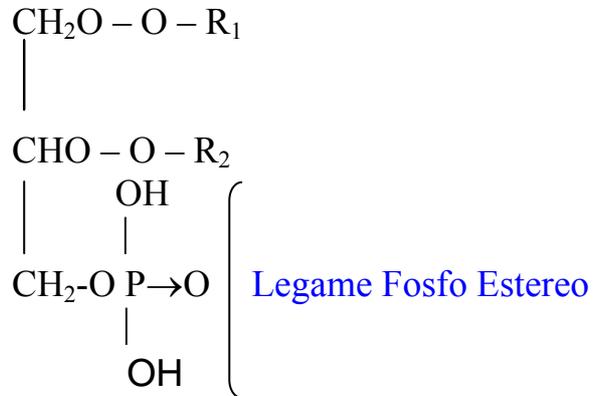
I fosfolipidi sono molecole fortemente asimmetriche, caratterizzate dall'aver una voluminosa porzione alifatica apolare (coda), che è costituita dalle catene alifatiche degli acidi grassi e del glicerolo, ed una più piccola estremità polare (testa), costituita dall'ortofosfato e dal composto alcolico ad esso esterificato, che può contenere i gruppi ossidrilico (OH), carbossilico (COOH), aminico (NH_2) o lo ione ammonio quaternario ($N^+(CH_3)_3$).

Per la loro struttura, i fosfolipidi manifestano proprietà idrofiliche nella testa e proprietà idrofobiche nella coda, per questo i fosfolipidi risultano sostanze anfipatiche (o anfifile). Tuttavia le caratteristiche idrofobiche sono dominanti, per cui i più comuni fosfolipidi sono insolubili in acqua: a valori neutri di pH, i gruppi carbossilici, ossidrilici o amminici, presenti nelle teste polari, sono dissociati e quindi in grado di legare molecole di acqua, attraverso lo stabilirsi di forze elettrostatiche.

In un sistema acqua-lipidi, i fosfolipidi si dispongono alla superficie delle micelle lipidiche, con le catene idrocarboniose inserite nella componente lipidica e con le teste polari immerse nella componente acquosa. Nonostante l'insolubilità in acqua, i fosfolipidi possono disperdersi in acqua, dando luogo ad emulsioni.

Fosfolipidi

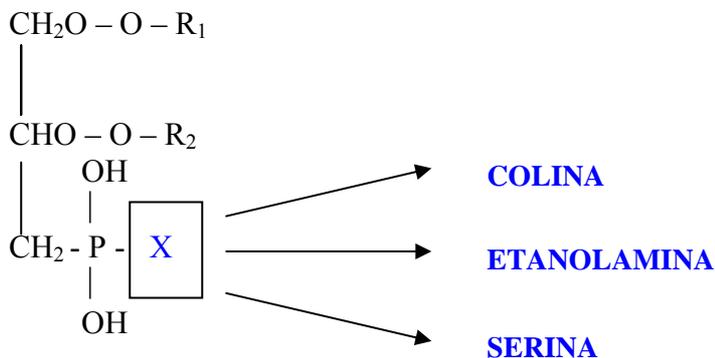
DIGLICERIDE CON LEGAME FOSFOESTEREO= acido fosfatidico



Nella reazione successiva il **fosfato** si legherà con una **Base Azotata X**;
Tale **Base Azotata (X)** potrà essere ad esempio la:

- **Colina**
 - **Etanolamina**
 - **Serina**
- Hanno cariche elettriche e gruppi polari che interagiscono con l'H₂O.

Quindi:

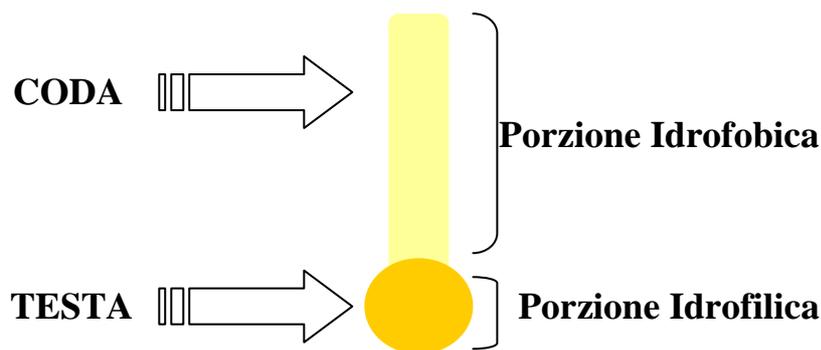


Nota: **La Lecitina è un Fosfolipide che contiene Colina.**

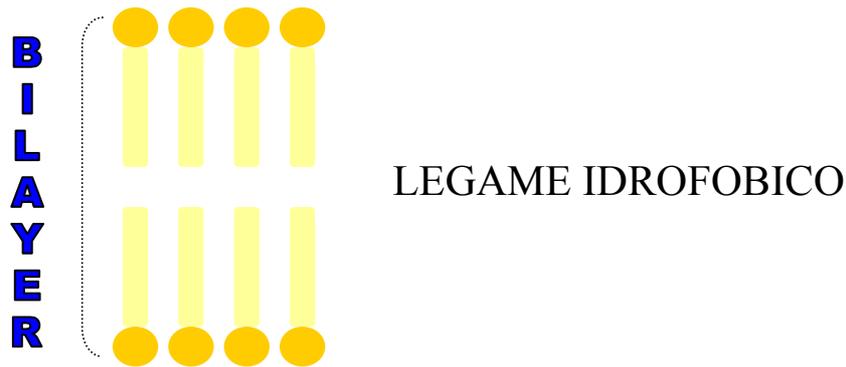
Quindi, considerando che la X può essere idrofila per le sue cariche elettriche che interagiscono con l'acqua e considerando anche che i gruppi (O - O - R₁) e (O - O - R₂) sono idrofobici, si può affermare che il Fosfolipide è composto da 2 parti:



Struttura schematica dei fosfolipidi



I fosfolipidi sono tra i componenti principali delle **membrane biologiche**, strutture composte da lipidi e proteine che hanno il compito di delimitare l'ambiente intracellulare dall'ambiente extracellulare e i diversi compartimenti intracellulari, e dalla cui integrità dipende in ultima analisi la sopravvivenza della cellula stessa. Nelle membrane biologiche si realizza un doppio strato (bilayer) di fosfolipidi, con le code idrofobiche rivolte verso l'interno della membrana e le teste polari rivolte verso la soluzione acquosa extra- e intra-cellulare.



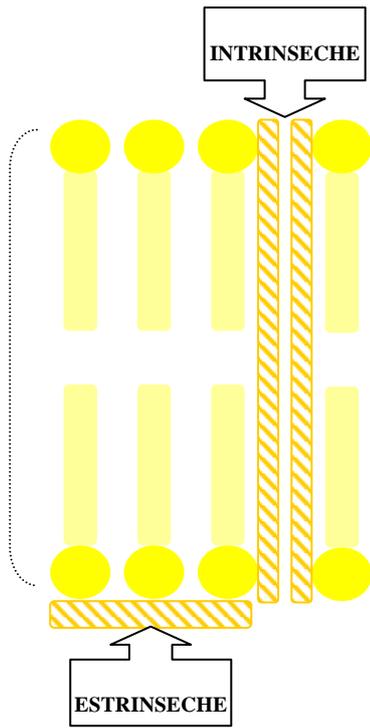
Tutte le membrane cellulari sono composte da un doppio strato fosfolipidico; i fosfolipidi formano anche le membrane degli organelli sub – cellulari (nucleo, mitocondri, reticolo endoplasmico, lisosomi, apparato di Golgi).

Le membrane mediamente sono costituite dalle seguenti percentuali:

- **60% Lipidi (fosfolipidi, glicolipidi, colesterolo)**
- **40% Proteine**

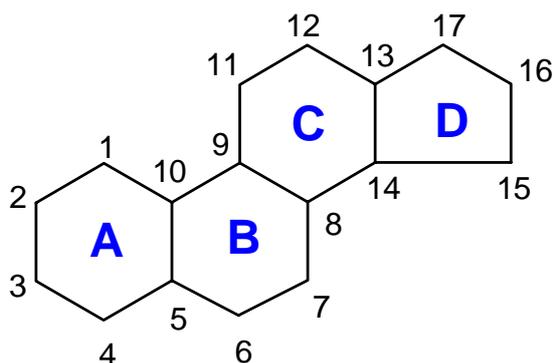
Le proteine a loro volta possono essere di 2 tipi:

- **Proteine intrinseche di membrana**
- **Proteine estrinseche di membrana**



● *Struttura del colesterolo*

Con il nome generico di *steroidi* si indicano tutti i composti derivati dal ciclopentanoperiidrofenantrene, un nucleo tetraciclico costituito dalla saldatura fra periidrofenantrene (anelli A, B e C) e ciclopentano (anello D).

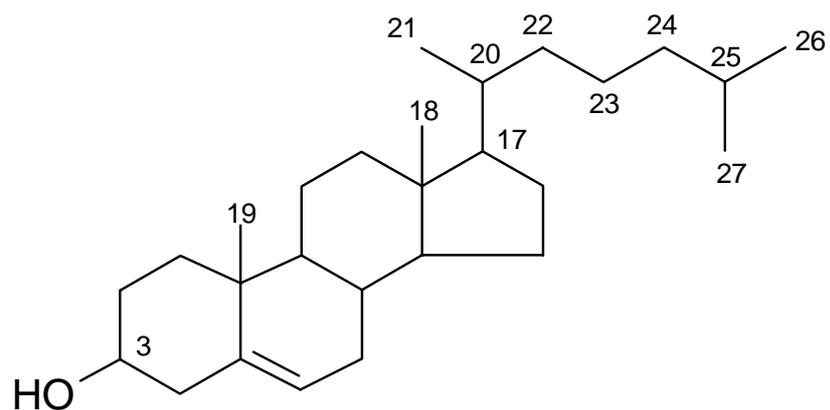


Anello del ciclopentanoperiidrofenantrene

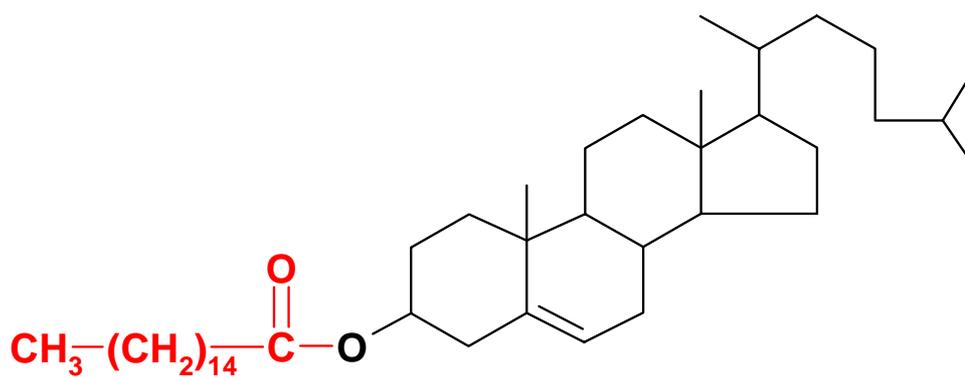
Gli idrocarburi contenenti il nucleo del ciclopentanoperiidrofenantrene sono gli sterani. Per sostituzione di uno o più idrogeni degli sterani con ossidrili si ottengono gli alcoli corrispondenti, denominati steroli. Il colesterolo è uno sterolo di fondamentale importanza in biologia.

Caratteristiche strutturali della molecola del colesterolo (Δ^5 colest-3 β -olo):

- 1) nucleo centrale rappresentato dal ciclopentanoperiidrofenantrene
- 2) catena alifatica formata da 8 atomi di carbonio (isoottilica) legata al carbonio 17
- 3) due metili legati su C13 e C10 (denominati rispettivamente C18 e C19)
- 4) un doppio legame tra il carbonio 5 e 6
- 5) un ossidrile in posizione 3 (beta). L'OH in C3 può essere esterificato da un acido grasso: colesterolo esterificato (steride).
- 6) numero totale di atomi di carbonio che formano il colesterolo: 27.



Struttura del colesterolo (Δ^5 -colesten-3 β -olo)



Struttura del palmitoilestere del colesterolo

● *Ruoli funzionali del colesterolo*

Il colesterolo svolge i seguenti ruoli funzionali:

- 1) **ruolo strutturale:** è un componente delle membrane biologiche degli animali (i batteri sono privi di steroidi; nelle piante troviamo altri tipi di steroli).
- 2) **ruolo metabolico:** è il precursore di molecole con importanti funzioni biologiche quali gli ormoni steroidei, la vitamina D, gli acidi biliari.