

Lezioni di biochimica

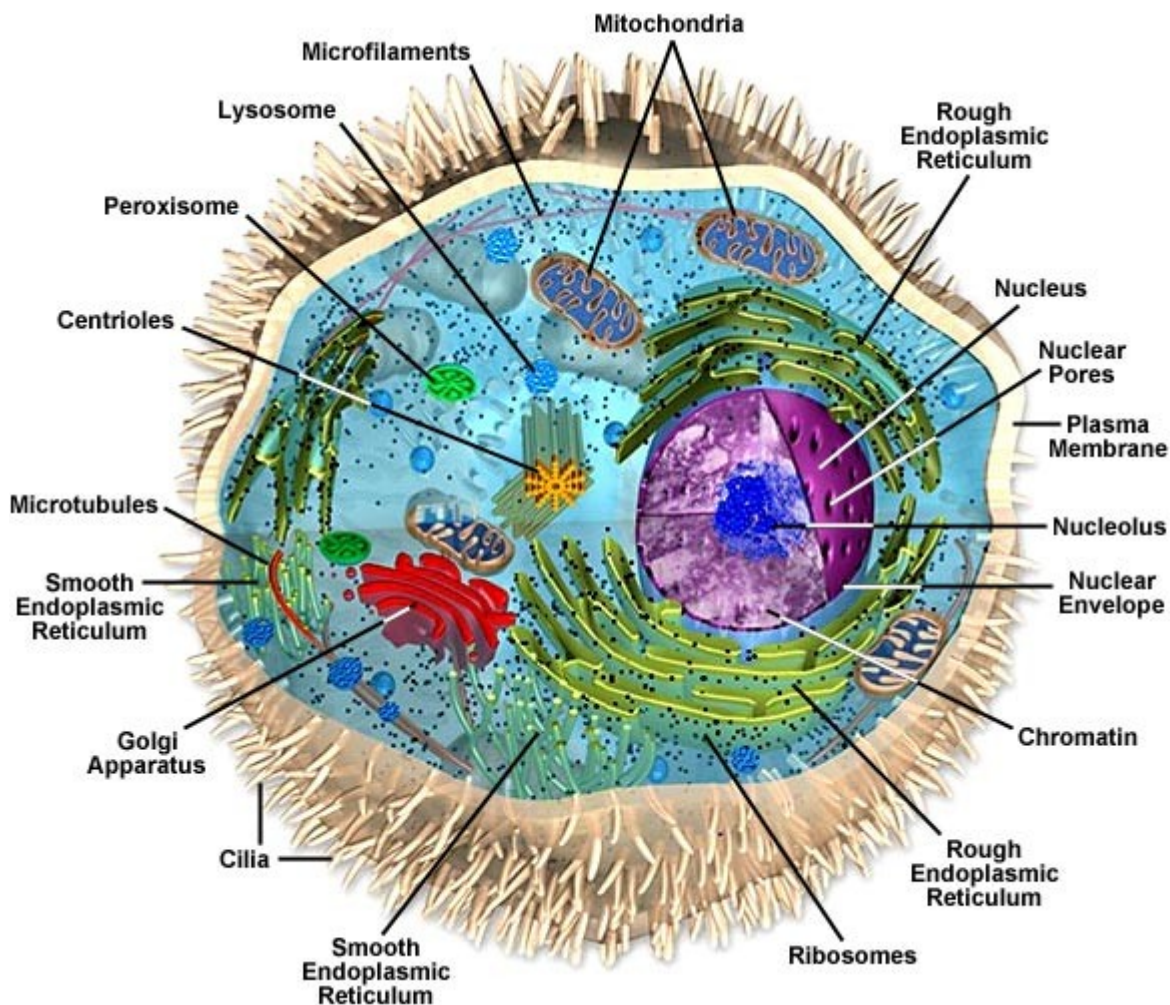
Dott.ssa Deborah Claro

1. LA CELLULA.....	4
2. L'ACQUA.....	6
3. LE PROTEINE.....	8
4. BIOENERGETICA.....	13
5. METABOLISMO DEI CARBOIDRATI.....	15
6. METABOLISMO DEI LIPIDI.....	22
7. METABOLISMO DELLE PROTEINE.....	26
8. METABOLISMO DEI NUCLEOTIDI.....	29

BIOCHIMICA

La Biochimica è lo studio delle reazioni chimiche che permettono lo svolgimento della vita. La conoscenza della biochimica si rivela essenziale per molte discipline: genetica, nutrizione, fisiologia, immunologia, tossicologia, microbiologia, zoologia, botanica, termodinamica e altre, pur rappresentando una scienza riduzionista a causa della sua visione a comparti.

1. La cellula.



La moderna teoria cellulare può essere riassunta in quattro punti:

1. Tutta la materia vivente è formata da cellule.
2. Tutte le cellule derivano da altre cellule.
3. L'informazione genetica necessaria per il mantenimento delle cellule esistenti e la produzione di nuove cellule è trasmessa da una generazione all'altra.

Sappiamo che le cellule esistono in numero notevole di forme e dimensioni; il corpo umano, per esempio, è costituito da più di 200 tipi differenti di cellule. Nonostante questa grande varietà le cellule possono essere distinte in **cellule procariote** e **cellule eucariote**.

Le cellule procariote (dal greco *pro*, prima e *karyon*, nocciolo) non hanno né nuclei delimitati da membrane né alcun comparto interno delimitato da una membrana. I procarioti sarebbero gli antenati di ogni forma di vita sulla terra.

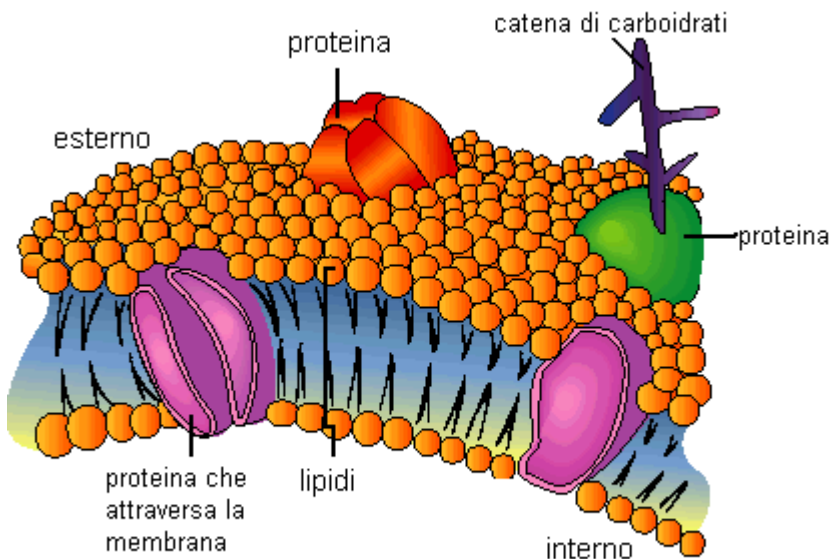
Le cellule eucariote (da *eu*, buono, effettivo) possiedono nuclei avvolti da membrana.

Parti costituenti delle cellule eucariotiche:

- il nucleo, contiene il DNA;
- il nucleolo, in cui sono assemblati i ribosomi, è l'organo che assicura la sintesi proteica;
- i mitocondri, i cosiddetti polmoni della cellula, utilizzano ossigeno per produrre ATP;
- i ribosomi, un complesso di macromolecole che traducono in proteine le informazioni contenute in mRNA;
- il reticolo endoplasmatico ruvido, con un gran numero di ribosomi incollati alla superficie (che danno l'aspetto ruvido), sono in grado di eseguire modifiche post-translazionali delle proteine;
- il reticolo endoplasmatico liscio, coinvolto nella genesi dei lipidi;
- l'apparato di Golgi, il quale distribuisce le proteine sintetizzate dai ribosomi e modificate nel reticolo endoplasmatico ruvido ai vari organelli subcellulari;
- i lisosomi, vescicole contenenti enzimi idrolitici coinvolti nella digestione intracellulare;
- i perossisomi sono vescicole contenenti enzimi ossidativi che producono e distruggono il perossido d'idrogeno;
- il citoscheletro è una struttura membranosa costituita di proteine che conferisce alla cellula la sua forma caratteristica e la base per il suo movimento; è composto da microtubuli, filamenti intermedi e actina;
- Il citoplasma costituisce il materiale di riempimento della cellula.

Le cellule sono avvolte dalla membrana. La membrana separa il fluido intracellulare da quello extracellulare, mantiene separati i vari ambienti e consente il passaggio soltanto ad alcune sostanze e non ad altre.

Le membrane biologiche.



Sono fondamentalmente composte da tre costituenti:

- porzione lipidica, responsabile della struttura generale della membrana,
- porzione proteica, responsabile di numerose funzioni tra cui la selettività del trasporto transmembrana,
- porzione glucidica, responsabile delle funzioni di riconoscimento.

I lipidi sono rappresentati da fosfolipidi tipo fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol fosfato, fosfatidilinositolo.

Le proteine funzionalmente attive possono essere: estrinseche o intrinseche.

La superficie esterna delle membrane è spesso rivestita da uno strato di zuccheri, che possono essere ancorati o ai lipidi di membrana a formare glicolipidi o alle proteine intrinseche di membrana a formare glicoproteine.

La principale funzione delle membrane è di selezionare il tipo di trasporto delle sostanze attraverso di esse.

Trasporto per diffusione semplice: il soluto lascia l'ambiente acquoso, si scioglie nell'ambiente idrofobico nell'interno delle membrane, entra nell'ambiente acquoso del versante controlaterale. Es. ossigeno, anidride carbonica, azoto, benzene. L'acqua non diffonde liberamente, ma attraverso dei canali specifici, le aquaporine. Il passaggio dei soluti per diffusione semplice segue la legge di Fick: *una sostanza diffonde nella direzione che annulla il gradiente di concentrazione, ad una velocità proporzionale al gradiente stesso.*

Trasporto per diffusione facilitata: si serve di specifiche proteine vettrici, è saturabile, non richiede energia perché avviene sempre secondo un gradiente.

Trasporto attivo: lavora contro gradiente, è altamente efficiente, richiede ATP.

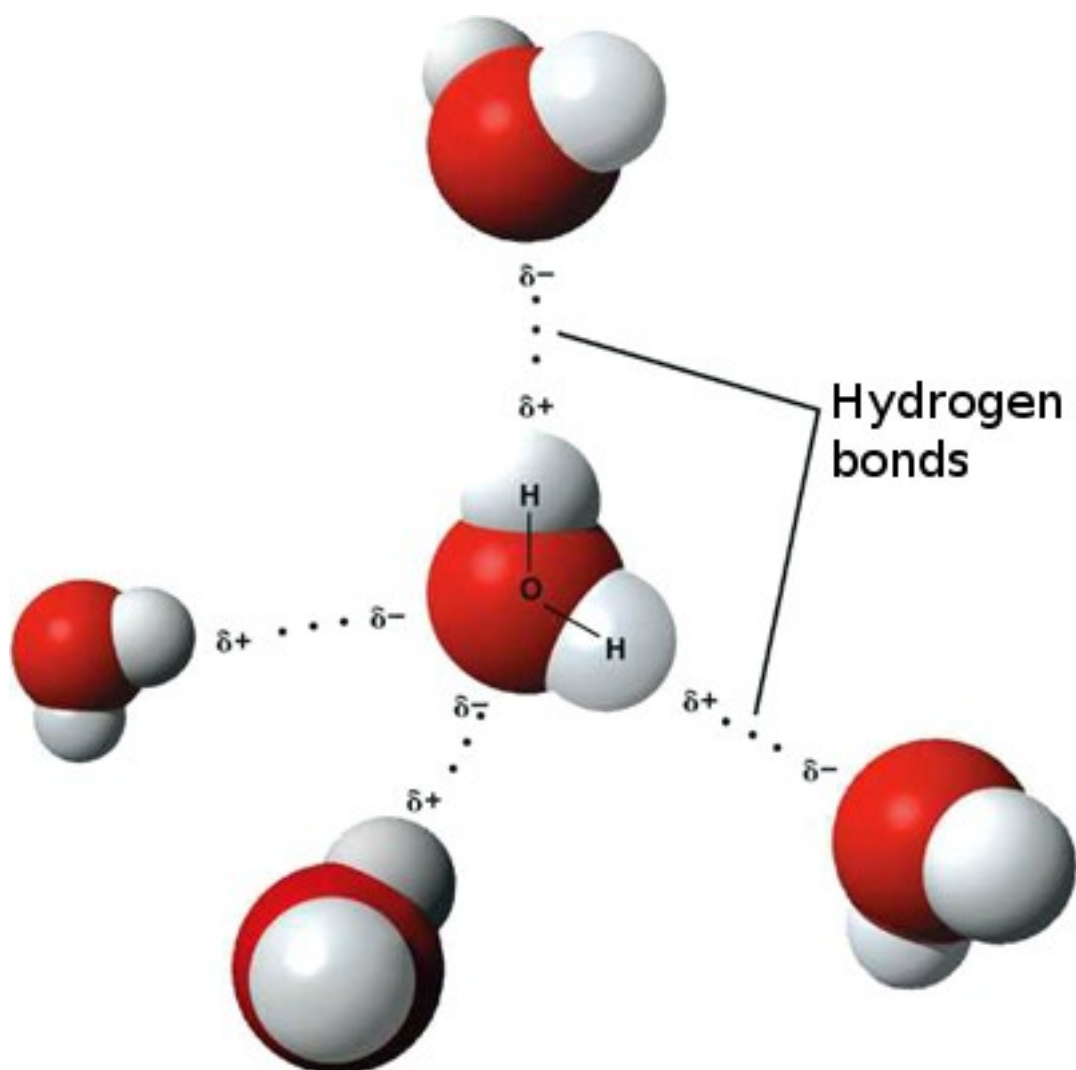
2. L'acqua.

Gli organismi viventi che popolano la Terra dipendono in maniera assoluta dall'acqua, la cui importanza per le cellule è una diretta conseguenza delle sue peculiari proprietà chimico-fisiche.

La struttura tridimensionale dell'acqua prevede un atomo di ossigeno posto fra due atomi di idrogeno, l'angolo fra i due H è di $104,5^\circ$. A causa della struttura distorta, la molecola d'acqua presenta una distribuzione di carica elettrica non uniforme: la zona intorno all'atomo di ossigeno è relativamente ricca di elettroni rispetto a quella intorno ai due atomi di idrogeno, ed è quindi elettronegativa, al contrario nella zona occupata dagli atomi di idrogeno si addensa una carica positiva, il che origina un dipolo. Allo stato liquido, le molecole d'acqua formano fra di loro legami deboli che sfruttano la natura dipolare dell'acqua e sono anche chiamati legami ad idrogeno. Si instaura, infatti, un'interazione elettrostatica tra l'atomo di idrogeno di una molecola di acqua e l'atomo di ossigeno di un'altra molecola. Tali legami sono relativamente deboli, rispetto a quelli covalenti, ma di enorme importanza per l'associazione delle molecole in disposizioni ordinate e compatte.

Il carattere dipolare dell'acqua influisce sulle sue interazioni con le biomolecole, le quali possono essere:

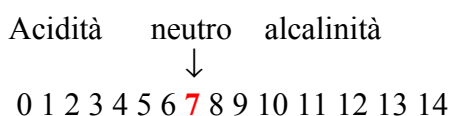
- legami ad idrogeno
- forze elettrostatiche, fra gruppi chimici diversi
- forze di van der Waals, molto deboli, ma in grado di originarsi continuamente fra atomi e molecole a causa della continua ridistribuzione della carica
- effetti idrofobici.



Le sostanze che si sciolgono in ambienti acquosi ionizzandosi sono dette elettroliti (forti se si dissociano completamente, deboli se solo in parte). L'acqua presenta scarsa tendenza a dissociarsi in ioni H^+ e OH^- , la cui concentrazione a 25° è uguale e pari a 10^{-7} .

L'unità di misura del grado di acidità o di alcalinità di una soluzione è il **pH** (abbreviazione di Potenziale Hydrogenus). Il pH rappresenta la **concentrazione degli ioni idrogeno** della soluzione e rappresenta l'attività del catione nella soluzione considerata. Tale concentrazione viene espressa numericamente con il logaritmo negativo in base 10: $pH = -\log[H^+]$. Il grado di acidità o di alcalinità di una soluzione dipende dal numero di idrogenioni o di idrossilioni (OH^-) presenti. Il pH dell'acqua pura (H_2O) a 25° è neutro perché le molecole di H_2O si dissociano in ioni idrogeno e in ioni ossidrilici in parti uguali.

SCALA DEL pH



L'acidità di una soluzione aumenta da 7 a 0 e l'alcalinità aumenta da 7 a 14.

Una soluzione con

pH 6 è 10 volte più acida dell'acqua

pH 5 è 100 volte più acida dell'acqua

pH 4 è 1000 volte più acida dell'acqua.

Quindi variazioni apparentemente piccole di pH corrispondono in realtà a variazioni anche consistenti di $[H^+]$.

3. Le proteine.

Possono essere divise in:

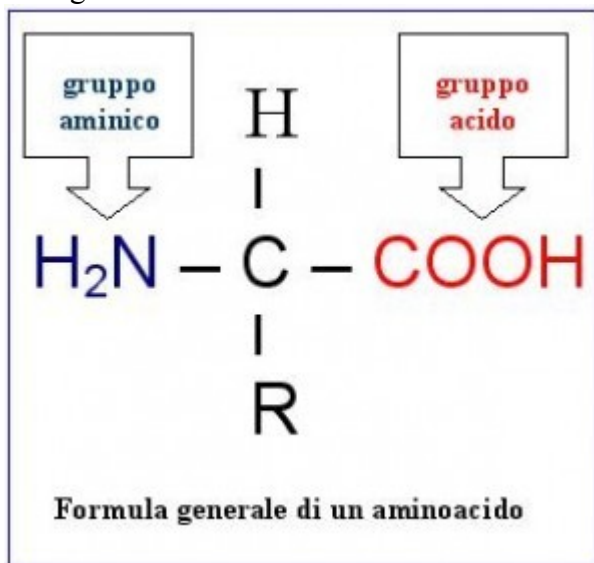
- proteine insolubili in ambienti acquosi (proteine fibrose e strutturali quali collagene, elastina, keratina e proteine di membrana quali le pompe ioniche)
- proteine globulari o solubili in acqua: proteine di trasporto (emoglobina, albumina), proteine di deposito (ferritina, caseina), proteine del sistema contrattile (actina, miosina, troponina), le proteine del sistema immunitario (immunoglobuline, fibrinogeno), i trasmettitori (ormoni peptidici, recettori), i catalizzatori (enzimi).

Le proteine svolgono notevoli funzioni biologiche:

- gli enzimi catalizzano quasi tutte le reazioni chimiche che avvengono nella cellula, accelerando di molti ordini di grandezza la velocità di tali reazioni rendendo possibile l'esistenza.
- Le immunoglobuline fungono da prima linea di difesa contro le infezioni.
- Le proteine di trasporto veicolano sostanze indispensabili alla vita della cellula attraverso le membrane cellulari.
- Molti ormoni, come l'insulina esplicano un controllo sul metabolismo.
- Associazioni di proteine sono responsabili della contrazione muscolare e della motilità cellulare, compreso il movimento dei batteri e degli spermatozoi.
- Il citoscheletro è formato da proteine.

Le proteine sono costituite da 20 amminoacidi. La conformazione e la funzione di una proteina sono determinate dalla composizione in amminoacidi e dalla sequenza secondo cui questi sono legati l'uno all'altro a formare la catena peptidica. La formula di struttura di qualsiasi amminoacido può essere pensata come costituita da un atomo di carbonio centrale, designato come carbonio α , a cui

sono legati quattro gruppi: un gruppo amminico basico (-NH₂), un gruppo carbossilico acido (-COOH), un atomo di idrogeno e un gruppo, la catena laterale, che è caratteristico di ciascun amminoacido e viene comunemente indicato con -R. Quando a uno stesso atomo di carbonio di un composto organico sono legati quattro gruppi differenti, di quel composto esistono due isomeri, immagini speculari l'uno dell'altro non sovrapponibili. Tali isomeri sono chiamati enantiomeri e i composti con questa caratteristica sono detti chirali. Per ragioni storiche le immagini speculari degli amminoacidi sono classificate come appartenenti alla serie D (destro) o alla serie L (sinistro). Questi termini definiscono le posizioni nello spazio o configurazioni, dei vari gruppi intorno al carbonio α, non si riferiscono, invece, alle opposte rotazioni del piano della luce polarizzata, causate dagli isomeri e contraddistinte con d e l. Gli amminoacidi presenti nelle proteine hanno tutti la configurazione L.



Elenco amminoacidi.

Acido aspartico	Asp
Acido glutammico	Glu
Alanina	Ala
Arginina	Arg
Asparagina	Asn
Cisteina	Cys
Fenilalanina	Phe
Glicina	Gly
Glutammina	Gln
Isoleucina	Ile
Istidina	His

Leucina	Leu
Lisina	Lys
Metionina	Met
Prolina	Pro
Serina	Ser
Tirosina	Tyr
Treonina	Thr
Triptofano	Trp
Valina	Val

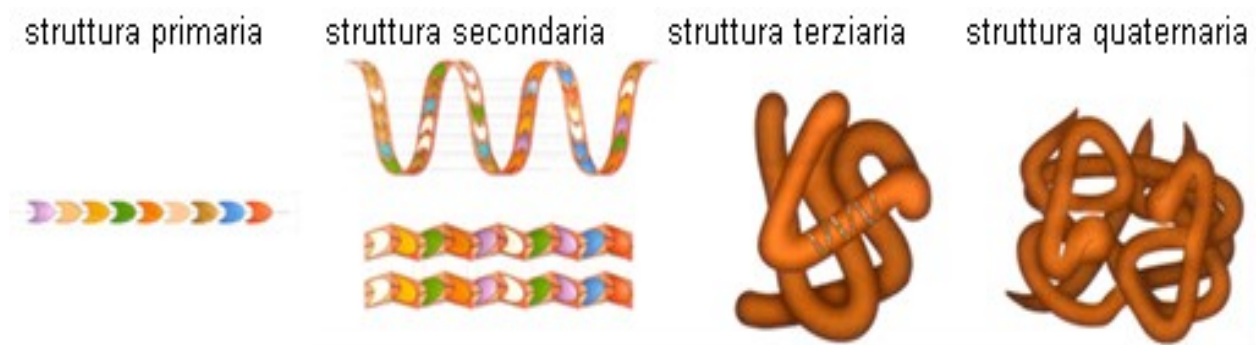
Il legame che unisce gli amminoacidi in catena si chiama **legame peptidico**. Si forma tra il gruppo carbossilico di un amminoacido e il gruppo amminico α di un altro amminoacido con eliminazione di una molecola di acqua. Si forma così un legame ammidico fra il gruppo carbonilico ($C=O$) di un amminoacido e il gruppo amminico ($N-H$) dell'altro amminoacido.

La **struttura primaria** di una proteina è la sequenza lineare dei suoi residui amminoacidici. I termini dipeptide, tripeptide, oligopeptide, polipeptide vengono usati per indicare catene peptidiche di lunghezza diversa. Con meno di 50 residui parliamo di oligopeptidi, oltre di polipeptidi.

La **struttura secondaria** è data dalla formazione di legami ad idrogeno che permette alla struttura primaria di assumere delle conformazioni spaziali caratteristiche: α -elica, conferisce compattezza e robustezza, β a pieghe, ad es. le proteine fibrose, con funzione di sostegno.

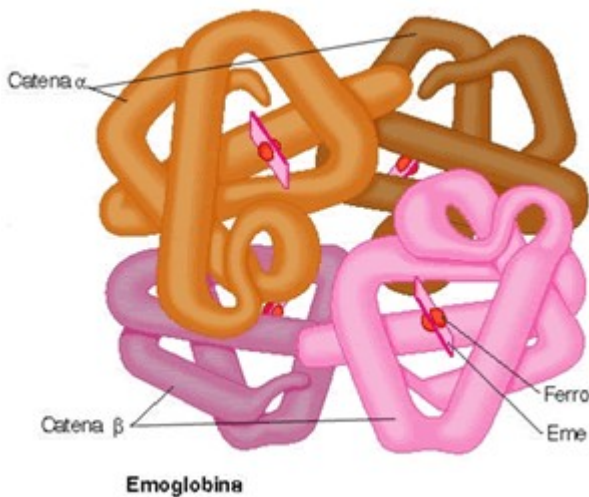
Dai ripiegamenti delle catene polipeptidiche si formano delle conformazioni spaziali a **struttura terziaria**, tipiche delle proteine globulari. Tale struttura è talvolta stabilizzata da ponti disolfuro. Nella struttura terziaria sono spesso evidenziabili delle zone (*domini*) in cui prevale la struttura α -elica o quella β a pieghe.

La **struttura quaternaria** di una proteina designa il modo in cui due o più catene polipeptidiche si associano tramite interazioni non covalenti o legami trasversali non covalenti.



L'emoglobina.

L'emoglobina è la proteina globulare necessaria al trasporto di ossigeno dai polmoni ai tessuti e di anidride carbonica dai tessuti ai polmoni. Un'altra proteina, invece, la mioglobina immagazzina O_2 nei tessuti fino a quando questo elemento non sarà utilizzato nel metabolismo. La Mb si trova in gran parte nelle cellule dei muscoli scheletrici e del muscolo cardiaco, il cui colore è in gran parte dovuto ad essa. Il sito che lega l'ossigeno è l'**eme**, ovvero un gruppo prostetico, nel senso che, anziché un polipeptide, è un cofattore strettamente legato alla parte proteica della mioglobina e sintetizzato, inoltre, indipendentemente dalla Mb. L'eme è costituito da un anello tetrapirrolico planare, la protoporfirina IX, che chela uno ione Fe^{2+} , cioè forma attorno ad esso una specie di gabbia. Sei bracci o ligandi, trattengono il Fe nel suo sito: 4 sono costituiti dagli atomi di azoto dell'anello porfirinico, il quinto è l'istidina e la sesta posizione è vacante nella deossimioglobina, mentre è occupata da un atomo di O_2 nella ossimioglobina.



L'emoglobina è costituita da quattro subunità (due α e due β), ciascuna delle quali assomiglia alla mioglobina. Lo ione Fe^{2+} all'interno dell'eme può legare:

- una molecola di acqua,
- una molecola di O_2 dando ossiemoglobina
- una molecola di CO dando carbossiemoglobina. Il legame con CO è 300 volte più stabile, pertanto rende l'eme non più disponibile a legare O_2 .

Il legame con O_2 e CO richiede che l'atomo di Fe sia presente in forma bivalente (Fe^{++}) o ferrosa, per distinguerlo dalla forma trivalente o ferrica (Fe^{+++}). Fe^{+++} non è in grado di legare né O_2 né CO e in questa forma l'Hb è detta metaemoglobina.

Il collagene.

È la proteina più abbondante nel mondo animale, rappresenta un esempio di proteina fibrosa ed è il principale costituente della matrice extracellulare. Le proteine fibrose offrono un sostegno meccanico alle singole cellule e all'intero organismo. I diversi tipi di collagene hanno funzioni e forme diverse, ad es. nelle strutture dure delle ossa e dei denti il collagene è duro come il cemento, mentre nella cornea è ordinato al punto da risultare quasi trasparente.

Il tropocollagene o collagene è costituito da tre catene polipeptidiche a elica sinistrorsa (non si tratta però di α -eliche) che si avvolgono l'una attorno all'altra, formando una superelica destrorsa. Il collagene ha un elevato contenuto di glicina e prolina, inoltre molti residui di prolina e lisina sono

modificati rispettivamente in 4-idrossiprolina e 5-idrossilisina. Un residuo di prolina è trasformato in idrossiprolina dall'enzima prolinidrossilasi in presenza di acido α -chetoglutarico e acido ascorbico (vitamina C). L'acido ascorbico è indispensabile per l'attività di entrambi gli enzimi, in quanto la sua mancanza impedisce il corretto assemblaggio delle fibre di collagene. Carenza di vitamina C è associata a fragilità capillare, emorragie gengivali, lesioni cutanee.

Gli enzimi.

Il termine significa “nel lievito”, in riferimento alla forma vivente in cui fu supposta la sua presenza. Si tratta di proteine con il compito di catalizzare le reazioni chimiche che avvengono negli organismi viventi. Essi si sono evoluti con la funzione di portare all'equilibrio le reazioni dell'organismo in tempi brevissimi. La loro regolazione permette all'organismo di selezionare quali reazioni devono essere accelerate, e quali invece rallentate o anche bloccate. Le reazioni catalizzate dagli enzimi si svolgono in un incavo della molecola enzimatica, il **sito attivo**, la cui conformazione e composizione chimica determinano la specificità della catalisi enzimatica. Perché una reazione enzimatica abbia luogo devono essere soddisfatti alcuni requisiti:

- i reagenti, chiamati **substrati**, devono entrare in collisione
- la collisione deve avvenire con un'orientazione corretta
- i reagenti devono avere un'energia sufficiente che viene chiamata **energia di attivazione**
- l'equilibrio della reazione non dev'essere modificato, ma solo la sua velocità
- gli enzimi non devono venir modificati dalla reazione stessa, in modo che al termine di una reazione possano subito essere disponibili per un nuovo ciclo.



L'enzima attivo è composto da una porzione proteica, l'apoenzima, e alle volte anche da una porzione non proteica chiamata **coenzima**, che può essere una molecola organica, spesso derivata dalle vitamine o uno **ione metallico** o entrambi. Il coenzima determina la specificità della reazione. Ricordiamo che tanto più un substrato è presente in scarsi quantitativi e tanto più specifica dovrà essere la reazione con l'enzima. Come tutte le proteine anche gli enzimi hanno un tempo di vita limitato, da qualche secondo a qualche ora, al termine del quale vengono degradati dai sistemi intracellulari di degradazione delle proteine (lisosomi e ubiquitina).

Classificazione internazionale degli enzimi.

1-ossidoreduttasi: reazioni di ossido-riduzione, con aggiunta o rimozione di atomi di idrogeno da molti gruppi chimici.

2- transferasi: trasferimento di gruppi chimici da una molecola ad un'altra. Le chinasi sono molecole specifiche adibite al trasferimento di un gruppo fosfato.

3-idrolasi: aggiunta di acqua ad un legame con contestuale rottura (reazioni di idrolisi)

4-liasi: reazioni di addizione a doppi legami, con aggiunta di acqua, ammoniaca, anidride carbonica ad un doppio legame.

5-isomerasi: reazioni di isomerizzazione (cis-trans, chetoenolica, aldoso-chetoso) o trasferimento intramolecolare di gruppi (mutasi).

6-ligasi: reazioni di formazione di nuovi legami con rottura di ATP in AMP e pirofosfato o ADP e Pi, formazione di legame covalente accoppiata alla rottura di un legame ad alto contenuto di energia di idrolisi (sintetasi).

Si definiscono **isoenzimi** quegli enzimi che catalizzano la stessa reazione, ma hanno strutture primarie diverse.

4. Bioenergetica.

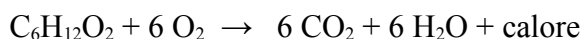
Con questo termine si intende lo studio delle reazioni che generano energia biologica. Gli enzimi portano le reazioni all'equilibrio, ma non sono in grado di farle avvenire se queste sono termodinamicamente sfavorevoli. La bioenergetica spiega perché, mentre alcune reazioni possono avvenire spontaneamente, altre richiedono invece il contemporaneo svolgimento di reazioni accoppiate destinate a consentire il loro completamento. Una reazione è termodinamicamente favorevole quando libera energia e si dice *esoergonica*. È invece termodinamicamente sfavorevole quando necessita di energia ed è *endoergonica*. Nella cellula la forma predominante di composti ad alta energia sono quelli che contengono fosfato, e la reazione termodinamicamente favorevole più frequente è quella di adenosin trifosfato o ATP, che funge da deposito e trasportatore di energia nella cellula. Nelle cellule eucariote esistono due vie distinte di produzione di ATP:

- le fosforilazioni a livello di substrato, ovvero reazioni che liberano energia sufficiente per sintetizzare direttamente una molecola di ATP da ADP e Pi.
- la fosforilazione ossidativa. L'ossidazione delle molecole biologiche fornisce composti ridotti che saranno utilizzati per formare energia biologica.

Strategia di conservazione dell'energia libera nelle cellule.

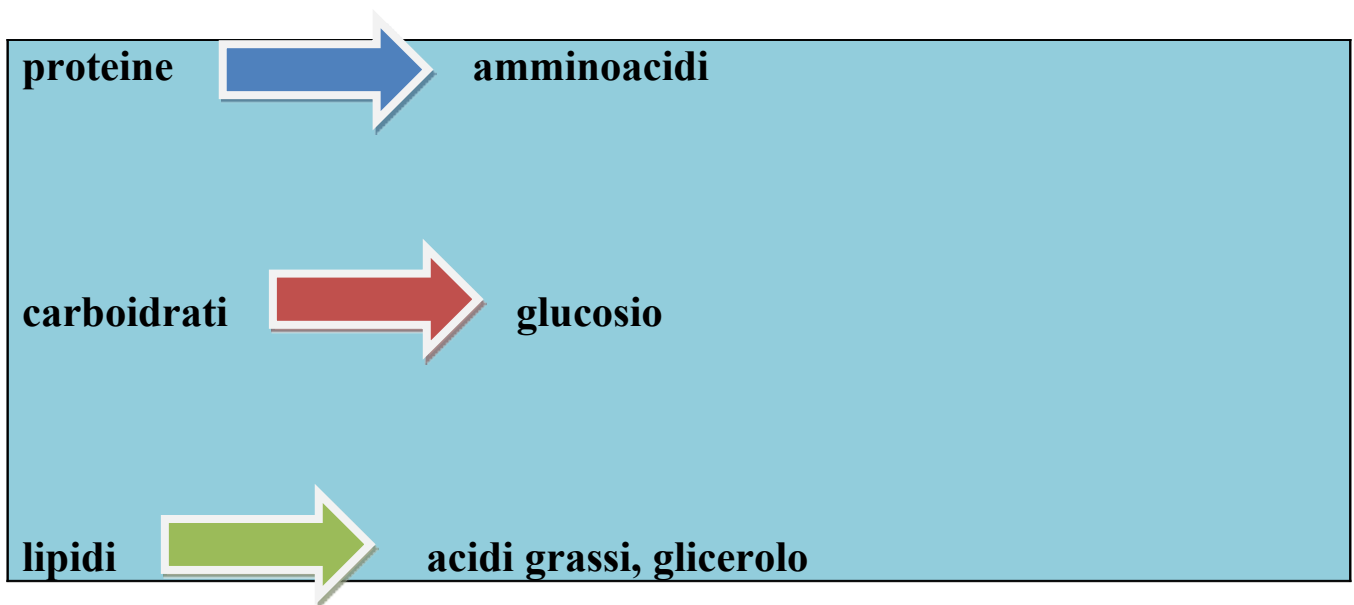
Nelle cellule animali, la fonte principale di energia biologica è l'ossidazione degli alimenti. Gli alimenti esistono in natura a diversi gradi di ossidazione. La molecola meno ossidata in assoluto è il metano CH₄ mentre quella più ossidata è l'anidride carbonica CO₂. Tra questi due estremi esiste una grande varietà di composti intermedi.

Il glucosio (C₆H₁₂O₆) è uno degli alimenti più diffusi sulla terra; la sua ossidazione completa libera 686 kcal/mol.



Se questa reazione avvenisse in maniera incontrollata l'energia sarebbe dissipata sotto forma di calore, rendendone impossibile l'utilizzo. Nelle cellule tale reazione si compie in maniera organizzata e graduale facendo in modo che una parte di energia sia recuperata sotto forma di ATP. Non tutta l'energia può essere recuperata e negli animali omeotermi il calore sviluppatosi serve al mantenimento della temperatura corporea. La resa energetica esprime il quantitativo di energia convertita in forma utile sul totale dell'energia fornita. Nell'uomo la resa tot. è 32-35 %. La resa dei motori diesel è del 12 %.

Gli alimenti ingeriti contengono molecole fortemente ridotte in grado di fornire notevole energia. La digestione ha il compito di scindere le molecole complesse in molecole più piccole:



In questo processo si modifica il grado di complessità della molecola, ma non il grado di ossidazione.

Il **catabolismo** è l'insieme di reazioni ossidative di degradazione degli alimenti, che producono ATP direttamente o mediante composti ridotti. I vari metabolismi cellulari hanno il compito di ossidare queste molecole a un solo composto finale: **acetil-CoA**.

L'**anabolismo** è invece l'insieme delle reazioni riduttive di sintesi, che producono molecole complesse utilizzando i composti ridotti e l'energia metabolica prodotti nel catabolismo.

L'acetil-CoA rappresenta il nodo su cui convergono tutti i metabolismi ossidativi della cellula, e da cui si dipartono i metabolismi riduttivi. È inoltre la molecola che può essere ossidata completamente a CO_2 e H_2O nei mitocondri.

Destino dell'acetil-CoA:

- servire come composto ossidabile per la produzione di energia alimentando il ciclo di Krebs. Questo ciclo forma NADH e FADH_2 , molecole ad alto potere riducente che nei mitocondri potranno produrre ATP mediante fosforilazione ossidativa e la catena di trasporto di e^- .
- servire come elemento di base per la costruzione di nuovi amminoacidi, acidi grassi e glicerolo, monosaccaridi che a loro volta saranno utilizzati per la costruzione di nuove proteine, lipidi e carboidrati. Quindi, le proteine, i lipidi e i carboidrati ingeriti con la dieta vengono prima degradati ad acetil-CoA e poi riassemblati a nuovi composti.

La principale caratteristica del ciclo di Krebs è di essere la via metabolica comune su cui convergono tutte le vie metaboliche della cellula.

ATP adenosin-5'-trifosfato è un adeninnucleotide che costituisce la moneta di scambio energetico. Viene prodotto dal catabolismo di molecole derivanti dagli alimenti e viene utilizzato nei processi cellulari che richiedono energia, quali la biosintesi, il trasporto attivo di sostanze attraverso le membrane cellulari, la motilità cellulare e la contrazione muscolare. L'ATP immagazzina energia libera nei suoi due legami fosfoanidridici e la trasferisce quando viene idrolizzato sia ad **adenosi-5'-difosfato** (ADP) e ortofosfato (P_i), sia ad **adenosin-5'-monofosfato** (AMP) e pirofosfato (PP_i).

Ognuno di questi nucleotidi adeninici ATP, ADP, AMP è costituito da 3 unità: una molecola di adenina, una molecola di ribosio, e uno o più gruppi fosfato.

NAD⁺ e NADP⁺. Le reazioni cataboliche portano, come risultato, all'ossidazione netta delle molecole derivanti dagli alimenti. L'ossidazione di una molecola è necessariamente accoppiato al trasferimento di elettroni su un'altra molecola (cioè alla riduzione di questa molecola). Una molecola che viene ridotta mediante una reazione di ossidazione diviene un agente ossidante, l'agente ossidante accetta elettroni e quindi viene ridotto durante la reazione di ossidoriduzione o redox. Gli e^- o gli atomi che si liberano nelle reazioni biologiche di ossidazione, sono spesso trasferiti per via enzimatica a uno o l'altro di due agenti ossidanti, il

nicotinammideadenindinucleotidofosfato (NADP⁺) o il **nicotinammideadenindinucleotide (NAD⁺)**. Quando NAD⁺ e NADP⁺ vengono ridotti accettano un anione idruro diventando NADH e NADPH.

Il NADH viene convertito in NAD con la contemporanea produzione di ATP nella fosforilazione ossidativa.

Il NADPH prodotto nelle ossidazioni della via dei pentoso fosfati fornisce gli ioni idruro utilizzati nelle reazioni di riduzione della maggior parte dei processi biosintetici, per es. nella sintesi degli acidi grassi, degli aminoacidi e dei nucleotidi.

Secondi messaggeri.

Molti ormoni o **primi messaggeri** non entrano mai nelle cellule alle quali inviano messaggi. Questi segnali vengono comunicati attraverso la membrana plasmatica da proteine integrali di membrana, che fungono da recettori e provocano la liberazione di **secondi messaggeri**, i quali a loro volta trasmettono i segnali ormonali a enzimi e altre molecole proteiche che si trovano all'interno della cellula. La trasmissione del segnale attraverso la membrana è noto come **trasduzione del segnale**.

Importanti secondi messaggeri sono il cAMP adenosinmonofosfato 3',5'-ciclico e le molecole derivate dal fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP₂).

5. Metabolismo dei carboidrati.

I carboidrati o zuccheri sono costituiti da carbonio, idrogeno e ossigeno nel rapporto 1:2:1. La loro formula empirica è (CH₂O)_n. Si dividono in:

- monosaccaridi: unità singole di carboidrati in cui n, il numero di atomi di carbonio può valere 3, 4, 5, 6 o 7. I più frequenti sono 3 e 6.
- disaccaridi: composti da due unità di monosaccaridi.
- oligosaccaridi: composti da poche unità di monosaccaridi.
- polisaccaridi: composti da migliaia di unità di monosaccaridi.

I disaccaridi sono formati dall'unione di due unità di monosaccaridi attraverso un legame chiamato *legame glicosidico*, che si forma dalla reazione fra il gruppo -OH di una delle unità con il C dell'altra. Il legame glicosidico è di natura covalente e piuttosto forte, e può essere scisso ad opera di enzimi specifici. Disaccaridi comuni: maltosio, lattosio, saccarosio.

Polisaccaridi noti:

- Amido: è il polisaccaride più abbondante in natura, nel regno vegetale. È formato da unità di glucosio legate fra loro in maniera lineare con legami α-1,4 (amilosio) o ramificato con legami α-1,6 (amilopectina).
- Cellulosa, costituita da unità di glu legate attraverso legame β-1,4 non idrolizzabili dall'uomo.
- Glicoproteine, di scarsa importanza nutrizionale, ma fondamentali per la comunicazione intracellulare.
- Mucopolisaccaridi, scarsamente nutrienti, con funzioni lubrificanti e di riempimento. Sono proteine legate a molte unità di zuccheri.

Digestione dei carboidrati.

Disaccaride	Enzima	Prodotto finale
Maltosio	Maltasi	2 molecole di glucosio
Saccarosio	Saccarasi	1 molecola di glucosio più 1 molecola di fruttosio
Lattosio	Lattasi	1 molecola di glucosio più 1 molecola di galattosio

Il glucosio è assorbito nelle membrane dei villi intestinali con il sistema di trasporto secondario che richiede Na^+ e ATP. Il glucosio entra nella cellula attraverso canali specifici e passivi, denominati GLUT, glucose transporters. La capacità dell'organismo di metabolizzare il glu dipende dalla velocità con cui entra nelle cellule. Una volta entrato nelle cellule il glucosio dovrà essere metabolizzato o convertito in glicogeno.

La glicolisi.

La **glicolisi** è la via del catabolismo del glucosio.

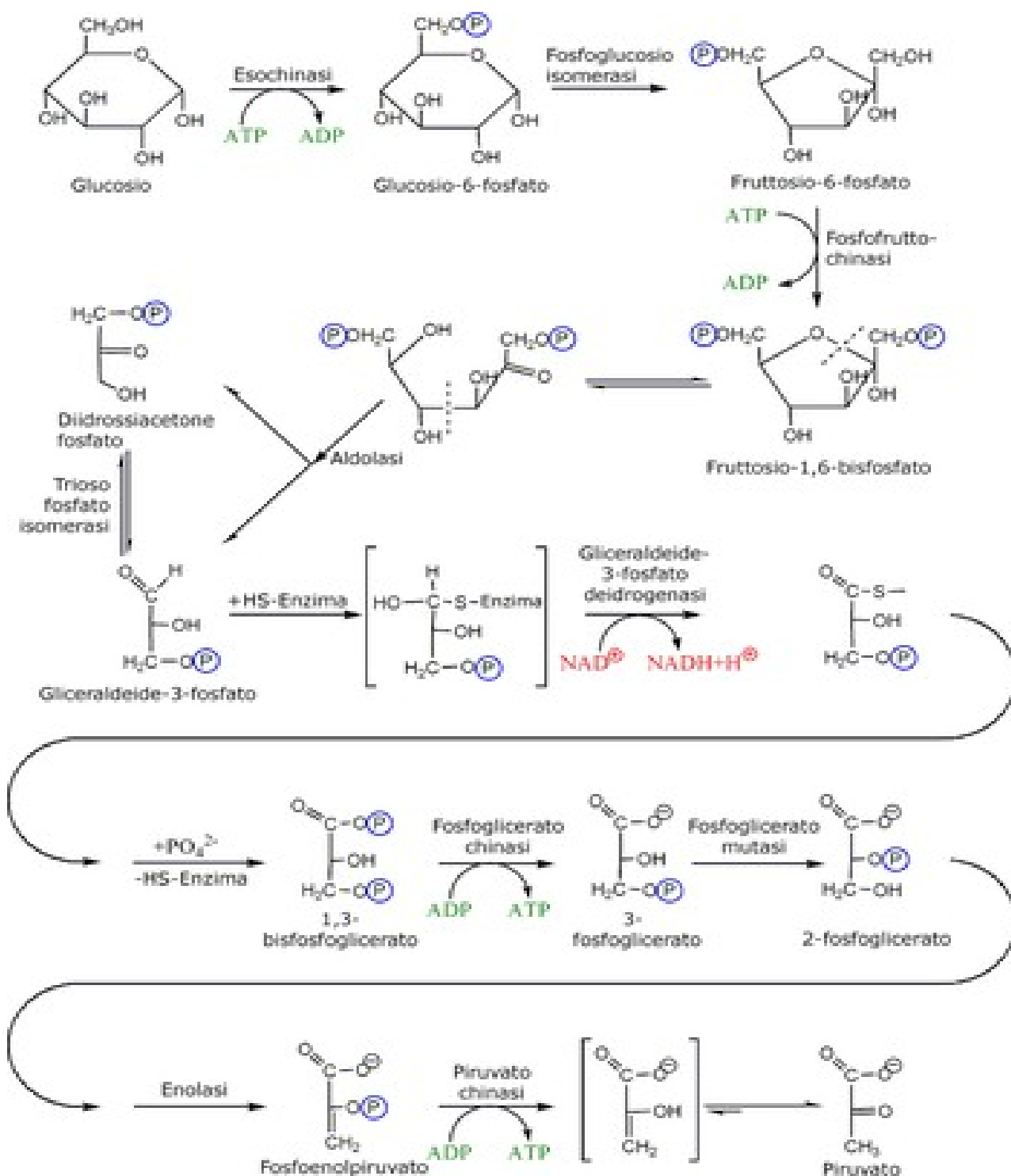
È una sequenza di 10 reazioni catalizzate da enzimi nella quale il glucosio viene trasformato in acido piruvico con formazione di 2 molecole di ATP. Si svolge nel citosol delle cellule e non richiede mitocondri. Si svolge in assenza di ossigeno.



La glicolisi è composta di due fasi, nella prima, o preparatoria, una molecola di glucosio è scissa in due molecole di *gliceraldeide-3-fosfato*, consumando 2 ATP.

Nella seconda fase ciascuna molecola di gliceraldeide-3-fosfato produce una molecola di *piruvato*.

La seconda fase, a differenza della prima è esoergonica perché fornisce 2 ATP e 1 NADH che potrà essere ossidato nella catena respiratoria



Il destino dell'acido piruvico.

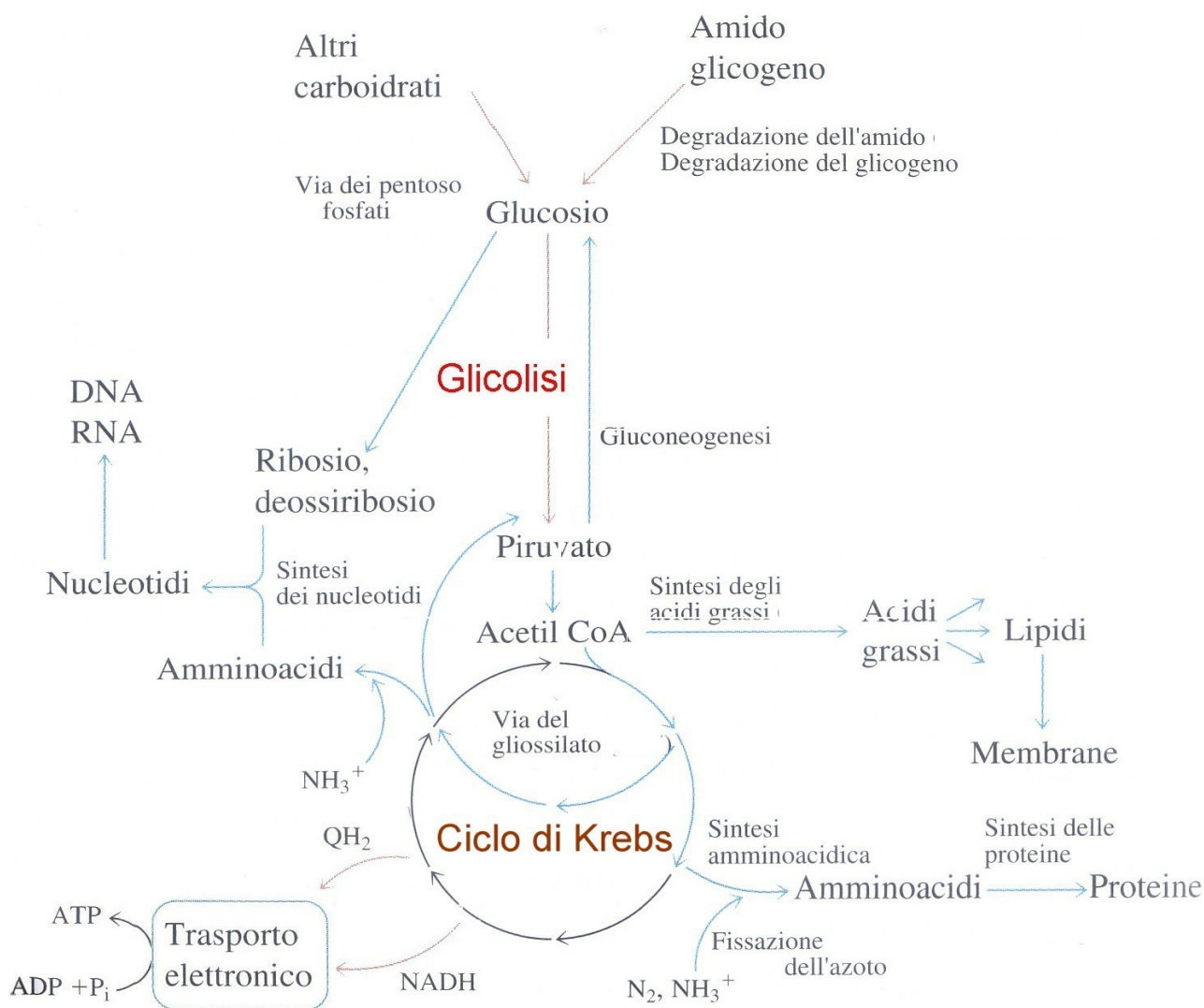
In condizioni **anaerobiche** l'acido piruvico viene trasformato in acido lattico (negli animali) o in alcool etilico (nei lieviti), con la contemporanea rigenerazione di NAD⁺, il che consente la prosecuzione della glicolisi in assenza di ossigeno.

Trasformazione anaerobica dell'acido piruvico in alcool etilico: si compie in due reazioni, nella prima la piruvicodecarbossilasi, enzima il cui cofattore è il tiaminpirofosfato (vit.B1), trasforma l'acido piruvico in acetaldeide. Nella seconda reazione l'alcooldeidrogenasi, un enzima NAD⁺ dipendente, riduce l'acetaldeide ad alcool etilico, rigenerando così il NAD⁺ indispensabile alla gliceraldeide-3-fosfatodeidrogenasi affinché la glicolisi possa continuare.

Trasformazione anaerobica dell'acido piruvico ad acido lattico: questa riduzione è catalizzata dalla latticodeidrogenasi NAD^+ dipendente. I muscoli scheletrici contraendosi rapidamente consumano in poco tempo la riserva di ossigeno disponibile nell'organismo. Nelle condizioni anaerobiche che così si instaurano l'acido piruvico viene ridotto ad acido lattico, un vero e proprio veleno muscolare. In condizione **aerobiche** l'acido piruvico penetra nella matrice dei mitocondri e viene trasformato in acetil-coenzima A (acetilCoA) preparando così il terreno per lo svolgersi di una sua ulteriore ossidazione, cosa che si compie nel **ciclo di Krebs** o **ciclo dell'acido citrico**.

Composizione della piruvicodeidrogenasi:

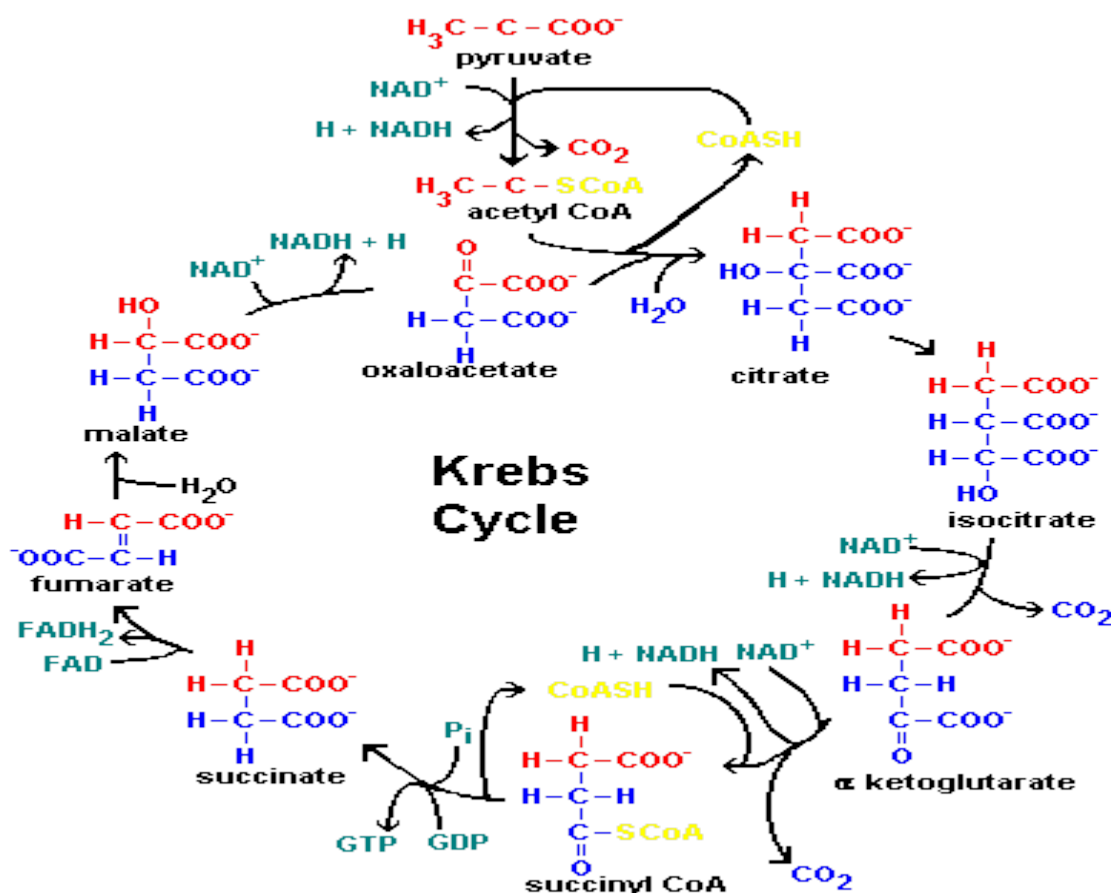
enzima	coenzima
piruvicodecarbossilasi	Tiaminpirofosfato
Diidrolipoammide-acetiltransferasi	Acido lipoico
Diidrolipoammide-deidrogenasi	FAD, NAD^+



Il ciclo di Krebs o dell'acido citrico.

Il **ciclo dell'acido citrico**, considerato il fulcro del metabolismo, consta di 8 reazioni enzimatiche e si svolge nella matrice mitocondriale delle cellule eucariotiche. È la via fondamentale del metabolismo aerobio, rappresentando la via ossidativa finale del catabolismo di carboidrati, acidi grassi e amminoacidi. Nella maggior parte delle cellule, l'azione accoppiata della glicolisi, del ciclo dell'acido citrico e della catena respiratoria di trasporto degli elettroni è responsabile della produzione di 38 molecole di ATP. Perché l'acido piruvico possa continuare la via ossidativa deve essere trasformato ad acetil-CoA da un **complesso multienzimatico** conosciuto come **piruvicodeidrogenasi**.

I complessi multienzimatici sono aggregati di enzimi differenti sul piano strutturale e funzionale, che catalizzano tappe successive di una via metabolica e sono uniti da legami non covalenti. I prodotti formatisi all'interno del complesso multienzimatico non abbandonano il complesso, ma diventano immediatamente il substrato del componente successivo.



Il gruppo acetilico dell'acetilCoA entra nel ciclo dell'acido citrico grazie alla citricosintetasi, che catalizza la sintesi dell'acido citrico a partire dall'acido ossalacetico e dall'acetilCoA.

Ad ogni rivoluzione del ciclo, l'ossidazione del citrato a ossalacetato genera una molecola di GTP per fosforilazione a livello di substrato (la maggior parte di GTP si converte in seguito a ATP).

Inoltre esso genera 3 molecole di NADH e una molecola di FADH₂, che in seguito saranno riossimate a NAD⁺ e FAD nella fosforilazione ossidativa, generando altre molecole di ATP.

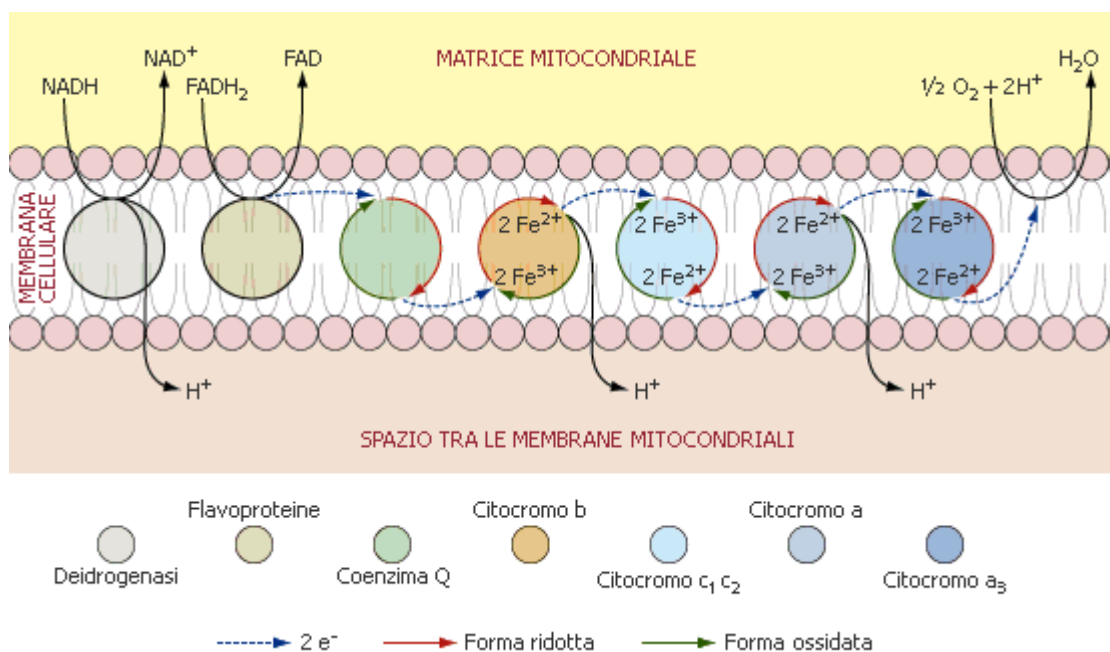
Anche il ciclo di Krebs, come tutte le altre vie metaboliche, è soggetto a regolazione. Gli enzimi regolatori più importanti sono *citrato sintetasi*, *isocitrato deidrogenasi* e *α-chetoglutarato deidrogenasi*. I meccanismi di regolazione sono per lo più meccanismi retroattivi originati dalla disponibilità del substrato (soprattutto acetil-CoA e ossalacetato) e all'inibizione dovuta ad eccesso di prodotto (soprattutto NADH).

La fosforilazione ossidativa.

Nel corso del processo della glicolisi si libera soltanto una frazione dell'energia chimica potenzialmente disponibile nella molecola del glucosio: quando una molecola di glucosio viene trasformata in acido lattico si producono 2 ATP. In condizioni aerobiche, comunque, l'ossidazione controllata del glucosio libera una grande quantità di energia: per ogni molecola di glucosio ossidata ad anidride carbonica ed acqua vengono prodotte fino a 38 molecole di ATP, la maggior parte delle quali si forma nel processo della **fosforilazione ossidativa**.

La fosforilazione ossidativa consta di due fenomeni strettamente accoppiati:

- 1) il NADH e il FADH₂, prodotti dalla glicolisi, dal ciclo dell'acido citrico e dall'ossidazione degli acidi grassi, vengono ossidati nella **catena respiratoria di trasporto degli elettroni**, lungo la quale gli e⁻ vengono trasferiti dal NADH e dal FADH₂ all'ossigeno molecolare. La catena respiratoria di trasporto degli elettroni è un sistema di complessi proteici, localizzati nella membrana mitocondriale interna; tre di questi sistemi sono **ossidoriduttasi che pompano protoni** generando un gradiente di protoni attraverso la membrana mitocondriale interna.
- 2) Questo gradiente di protoni è una fonte di energia libera, che viene dissipata quando i protoni ripassano attraverso la membrana mitocondriale interna tramite l'ATP-sintetasi, una proteina integrale di membrana. In questo processo l'ADP viene fosforilato e si forma ATP.



Al momento attuale non si conosce esattamente il modo in cui il gradiente di protoni sia accoppiato alla sintesi di ATP. Sono sconosciuti anche il meccanismo d'azione dei componenti della catena di

trasporto degli e^- e dell'ATP-sintetasi. Di fatto comunque per ogni molecola di NADH che viene ossidata vengono prodotte 3 ATP, invece, per ogni $FADH_2$ si producono 2 ATP.

Gli elettroni vengono trasportati dal NADH all'ossigeno molecolare da tre complessi multiproteici della catena di trasporto degli e^- : la NADH-ubichinoneriduttasi o NADH-deidrogenasi trasferisce gli elettroni dal NADH all'ubichinone; l'ubichinolo-citocromo- c riduttasi catalizza il trasferimento degli elettroni dall'ubichinolo (forma ridotta dell'ubichinone) al citocromo c; infine, la citocromo c-ossidasi catalizza il trasferimento degli e^- dal citocromo c all'ossigeno molecolare.

Il trasferimento degli e^- dal $FADH_2$ all'ubichinone è catalizzato dalla succinicubichinoneriduttasi, scavalcando così l'azione catalitica della NADH-ubichinoneriduttasi.

Il metabolismo del glicogeno.

Il metabolismo del glucosio è indispensabile per la produzione di energia nella cellula, pertanto è fondamentale che le concentrazioni di questo zucchero siano mantenute a livelli sufficienti, condizione che si realizza attraverso la sintesi del glicogeno. Il glicogeno è un polisaccaride di riserva intracellulare, presente nel fegato e nei muscoli sotto forma di granuli, composto da residui di glucosio legati fra loro da legami glucosidici α -1,4 e da legami α -1,6 nei punti di ramificazione. Il glucosio può avere origine anche da precursori non glucidici attraverso la gluconeogenesi.

Glicogenolisi: consiste nella degradazione del glicogeno. Inizia grazie ad una *fosforilasi* che attacca sequenzialmente le unità di glucosio poste ad una delle estremità libere del glicogeno. Questa reazione continua fino ad un punto di ramificazione, su cui interverranno altri due enzimi, una *transferasi* e un *enzima deramificante*, che consentiranno la trasformazione della ramificazione in una struttura lineare suscettibile all'attacco di glicogeno fosforilasi.

Sintesi del glicogeno: utilizza l'aggiunta non di unità di glucosio, ma di un complesso fra glucosio e uridindifosfato (UDP-glucosio). Successivamente, l'UDP-glucosio è aggiunto sequenzialmente al glicogeno preformato tramite l'azione della *glicogeno sintetasi*.

Sia la glicogeno fosforilasi che la sintetasi agiscono sotto controllo ormonale: l'insulina stimola la glicogeno sintetasi e inibisce la fosforilasi, il glucagone stimola la fosforilasi e inibisce la sintetasi e così adrenalina.

Le unità di glucosio mobilitate dal glicogeno come glucosio-1-fosfato subiscono la reazione della *fosfoglucomutasi* trasformandosi in glucosio-6-fosfato. A seconda dell'organo in cui la reazione avviene, i destini di glucosio-6-fosfato sono diversi: nel muscolo subisce la glicolisi e si produce piruvato e ATP, nel fegato invece la glucosio-6-fosfatasi libera glucosio che potrà uscire dalla cellula epatica, essere riversato nel sangue ed essere utilizzato da altri organi.

Gluconeogenesi.

Processo di sintesi del glucosio da precursori non glucidici, per es. alcuni amminoacidi, l'acido lattico e il glicerolo. Il 90 % si svolge nelle cellule epatiche, il resto nelle cellule renali.

Alcuni organi come cervello, muscoli, globuli rossi, corteccia surrenale utilizzano quasi esclusivamente glucosio per il loro metabolismo e hanno pertanto una forte dipendenza dal glucosio. Durante i periodi di digiuno occorre che il glucosio sia sintetizzato a partire da altre molecole. Il fegato espleta tale funzione formando glucosio dal glicogeno e producendo glucosio tramite la gluconeogenesi.

La gluconeogenesi trasforma il piruvato in glucosio (l'inverso della glicolisi) attraverso l'azione di 4 enzimi:

- 1) la piruvicocarbossilasi trasforma l'ac. piruvico in ac. Ossalacetico.
- 2) La fosfoenolpiruvicocarbossichinasi trasforma l'ac. Ossalacetico in ac. Fosfoenolpiruvico (PEP)
- 3) La fruttosio-1,6- bifosfatasi trasforma il fruttosio-1,6-bifosfato in fruttosio-6-fosfato
- 4) La glucosio-6-fosfatasi trasforma il G6P in glucosio.

La piruvicocarbossilasi è un tetramero in cui ciascuna subunità contiene una molecola di biotina. La sua attività è regolata dalla concentrazione dell'acetilCoA presente nel mitocondrio. Se l'acetilCoA è presente in quantitativi limitati, viene utilizzato per produrre acido citrico, la cui completa ossidazione è accoppiata alla sintesi di ATP. Se, invece, è presente in eccesso, allora può attivare la piruvicocarbossilasi e l'acido piruvico viene trasformato in acido ossalacetico. In queste condizioni l'acido ossalacetico appena prodotto può essere trasformato in glucosio attraverso la gluconeogenesi.

La via dei pentoso-fosfati.

Il glucosio può essere ossidato anche da una via metabolica che non fa uso di mitocondri e non è finalizzata alla produzione di ATP.

Via metabolica di ossidazione del glucosio filogeneticamente più antica del ciclo di Krebs. Non fa uso di mitocondri e non produce ATP.

Si producono:

NADPH (molecola a forte potere RIDUCENTE, utilizzata per la sintesi di macromolecole, acidi grassi, steroidi. A differenza di NADH (rigenerato dai mitocondri), NADPH è utilizzato nelle vie anaboliche di sintesi.

NADPH è il substrato del GLUTATIONE REDUTTASI.

Si produce RIBOSIO-5-FOSFATO, zucchero chiave per la biosintesi dei nucleotidi (ribosilazione).

I tessuti che principalmente utilizzano questa via sono:

fegato (per la sintesi dei glucuronidi), tessuto adiposo, ghiandola mammaria in allattamento, prostata, tiroide, testicoli, corticale del surrene, barriera ematoencefalica, vasi arteriosi e venosi, glia, cartilagine, epidermide.

La via dei pentoso-fosfati o dell'esoso monofosfato può essere suddivisa in due stadi, uno ossidativo e uno non ossidativo. Nel primo stadio il glucosio-6-fosfato, che è il primo prodotto intermedio della glicolisi, viene trasformato in ribulosio-5-fosfato con la contemporanea produzione di NADPH. Nello stadio non ossidativo, il ribulosio-5-fosfato viene trasformato in ribosio-5-fosfato e in xilulosio-5-fosfato, che può a sua volta essere trasformato in gliceraldeide-3-fosfato e in fruttosio-6-fosfato, due prodotti intermedi della glicolisi. La *glucosio-6-fosfatodeidrogenasi* è l'enzima chiave che regola la via dei pentoso-fosfati. Il NADPH è un potente inibitore della glucosio-6-fosfatodeidrogenasi: un suo lieve aumento nella concentrazione cellulare deprime fortemente la velocità delle reazioni della via dei pentoso-fosfati. La biosintesi degli acidi grassi consuma NADPH e di conseguenza la glucosio-6-fosfatodeidrogenasi diventa più attiva.

6. Metabolismo dei lipidi.

I lipidi rappresentano la maggior fonte di energia nell'organismo umano perché il loro valore calorico (9 kcal/mol) è molto superiore a quello di proteine e carboidrati (4 kcal/mol). I lipidi rappresentano inoltre la maggior riserva di energia nell'organismo. Oltre all'importanza bioenergetica i lipidi rappresentano un fattore critico nella protezione termica (tessuto adiposo sottocutaneo), elettrica (guaina delle fibre nervose) e meccanica (cuscinetti). I lipidi sono anche i costituenti delle membrane biologiche, del surfattante alveolare e degli ormoni steroidei; quelli di maggior interesse sono gli acidi grassi, i fosfolipidi, i trigliceridi e il colesterolo.

La formula generale degli acidi grassi è $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$. La maggior parte dei grassi presenti nella dieta degli animali è costituita da triacilgliceroli, detti anche trigliceridi, e in misura minore da fosfolipidi. Un triacilglicerolo consta di glicerolo esterificato con tre catene di acidi grassi che possono essere sature o insature. La sua molecola è elettricamente neutra. Un fosfolipide, al contrario, consta di due catene di acidi grassi e di un alcool legati al glicerolo-3- fosfato. La sua è una molecola ionica.

La β -ossidazione.

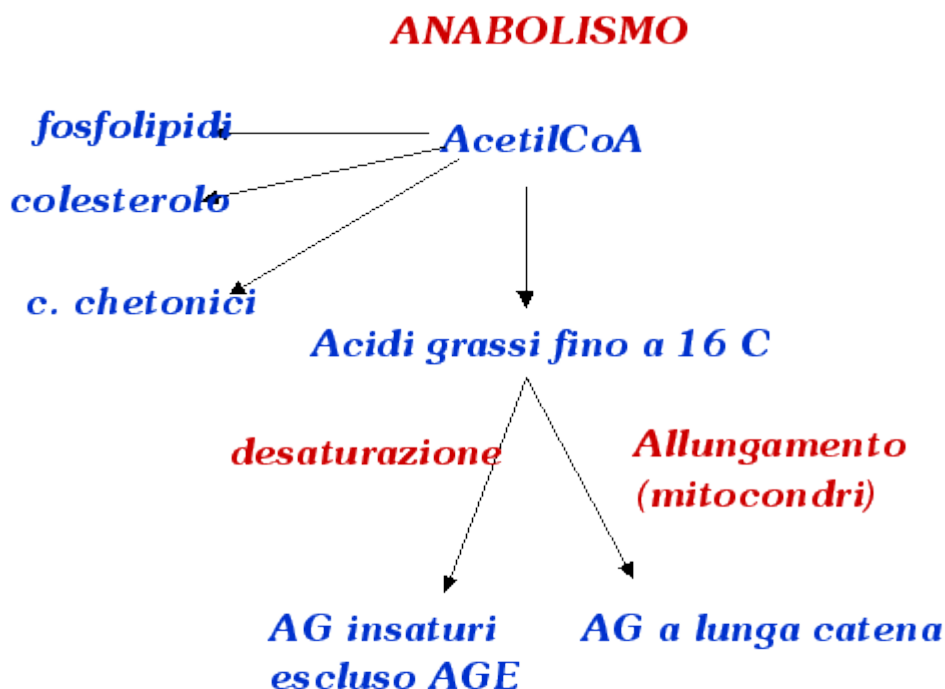
Gli acidi grassi sono degradati mediante β -ossidazione.

Avviene in parte nel citoplasma e in parte nei mitocondri, produce un'elevata quantità di composti ridotti (NADH e FADH_2) che sono poi riossidati nella catena di trasporto degli e^- producendo ATP.

Gli acidi grassi liberi per poter essere ossidati devono venir attivati mediante condensazione con il coenzima A in una reazione catalizzata da *acilCoA-sintetasi*.

La reazione di ingresso degli acidi grassi nella β -ossidazione è fortemente endoergonica e comporta la perdita di 2 ATP. Successivamente acilCoA è trasportato nel mitocondrio da un trasportatore specifico, carnitina, aminoacido sintetizzato nel fegato e da qui trasportato a tutti i tessuti che seguono la β -ossidazione. Nel mitocondrio, dopo aver rilasciato la carnitina, acil-CoA subisce il distacco sequenziale di unità di acetil-CoA (che corrisponde a unità composte da 2 atomi di C) mediante una serie di reazioni che producono, per ogni acetil-CoA rilasciato, una molecola di NADH e una di FADH_2 .

La β -ossidazione può avvenire in tutte le cellule eccetto eritrociti, privi di mitocondri e cellule nervose, che utilizzano solo glucosio, ha una resa del 68 %, ma è strettamente dipendente dall'ossigeno.



Sintesi AG in tutte le cellule
 Sintesi trigliceridi solo in
 Intestino, fegato, t. Adiposo
 gh. mammaria

Biosintesi degli acidi grassi.

La lipogenesi non è, come per quasi tutti gli altri processi metabolici, l'inverso della loro ossidazione, ma utilizza un gruppo di enzimi specifici completamente diverso, ed avviene nel citoplasma e non nei mitocondri.

Il primo passaggio prevede la reazione di carbossilazione di acetil-CoA, catalizzata da *acetil-CoA carbossilasi*, in cui viene aggiunto un atomo di C sotto forma di CO₂ a formare malonil-CoA, con 3 atomi di carbonio, reazione che richiede la biotina. Successivamente a malonil-CoA sono aggiunte unità di acetil-CoA mediante una serie di reazioni complesse catalizzate da acido grasso sintetasi, un complesso multienzimatico con 7 attività enzimatiche diverse, che richiede la vitamina acido pantotenico come cofattore. Questo meccanismo ha la funzione di immagazzinare l'eccesso di substrati ossidabili (specialmente glucosio) in preparazione a periodi di carenza alimentare. Il controllo della lipogenesi è affidato allo stato nutrizionale, al livello di ATP e citrato, al contenuto di zuccheri, alla presenza di insulina (fattori di attivazione).

Metabolismo dei corpi chetonici.

In alcune condizioni fisiologiche e patologiche, la velocità della β -ossidazione aumenta più della velocità di assorbimento di acetil-CoA nel ciclo di Krebs. Di conseguenza, acetil-CoA tende ad accumularsi nella cellula con formazione di *acetoacetato*, *β -idrossibutirrato* e *acetone*, collettivamente noti come corpi chetonici. Questi possono avere due destini:

- utilizzabili come substrati per la sintesi di acetil-CoA nei muscoli
- eliminati da rene e polmoni.

Biosintesi del colesterolo.

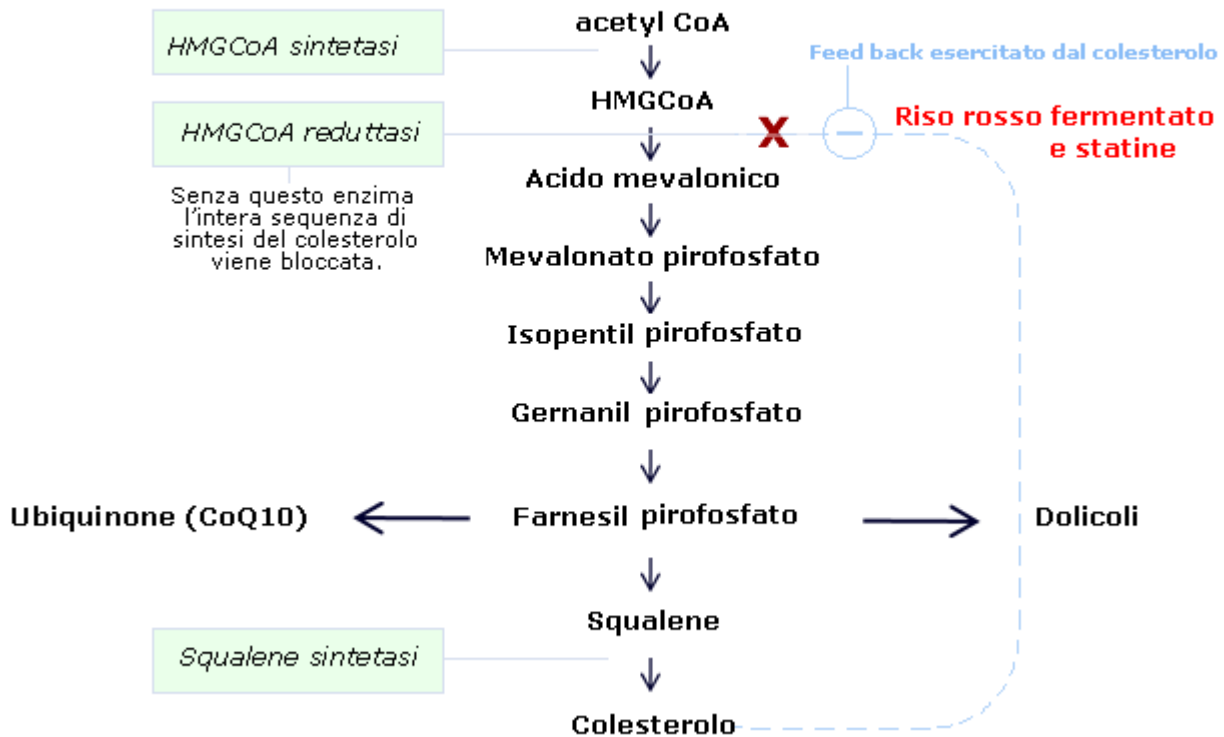
Il colesterolo, un componente essenziale delle membrane delle cellule animali appartiene a una grande famiglia di lipidi, gli **steroidi**, ed è il precursore degli ormoni steroidei, della vitamina D e degli acidi biliari. La sua biosintesi avviene principalmente nel citosol delle cellule epatiche.

La biosintesi si compie in più fasi. L'enzima chiave è *idrossi-metilglutaril-CoA reduttasi (HMG-CoA reduttasi)*. L'acetilCoA che è il precursore del colesterolo, viene trasformato in acido mevalonico in una sequenza di tre reazioni che coinvolgono 3 enzimi, una *tiolasi*, l'*HMG-CoA-sintetasi* e *HMG-CoA-riduttasi*. Le successive reazioni di trasferimento dei gruppi isopentenilici trasformano l'acido mevalonico in squalene. Lo squalene viene quindi trasformato in lanosterolo e da quest'ultimo, attraverso una sequenza di 20 reazioni, si forma il colesterolo.

Dal colesterolo derivano gli **ormoni steroidei**: i progestinici, i corticosteroidi (mineralcorticoidi e glucocorticoidi) e gli ormoni sessuali. La sintesi si compie nei mitocondri.

Il destino metabolico del colesterolo non è tanto la sua trasformazione in ormoni steroidei quanto la sua degradazione in **acidi biliari**. Il colesterolo è degradato ad acido colico e da questo si formano acido taurocolico e glicocolico.

BIOSINTESI DEL COLESTEROLO



7. Metabolismo delle proteine.

Le proteine rappresentano un notevole contributo, non tanto in termini energetici, ma soprattutto per l'apporto di amminoacidi e azoto necessari per il ricambio del patrimonio proteico. Il fabbisogno minimo giornaliero di proteine nella popolazione sana è di circa 0,8-1 g/Kg di peso corporeo. La loro digestione inizia nello stomaco, dove il pH fortemente acido ne permette la denaturazione. Le cellule dello stomaco secernono oltre H^+ anche pepsinogeno, precursore della pepsina, un enzima in grado di idrolizzare il legame peptidico delle proteine. Tale conversione è attivata a pH acido, in presenza di gastrina, che segnala la presenza di cibo nello stomaco. L'azione combinata di H^+ e pepsina riduce le proteine alimentari a grossi peptidi, che saranno ulteriormente idrolizzati nell'intestino. Nell'intestino, caratterizzato da un pH relativamente alcalino rispetto a quello dello stomaco (7-9) l'attività della pepsina cessa. La presenza di cibo nel duodeno è segnalata dalla secretina che regola la sintesi di altri enzimi digestivi, il tripsinogeno, chimotripsinogeno, procarbossipeptidasi, proelastasi, che si convertiranno nei rispettivi enzimi attivi: tripsina, chimotripsina, carbossipeptidasi e elastasi. L'azione combinata di questi enzimi idrolizza i peptidi rilasciati dallo stomaco in peptidi sempre più piccoli e in amminoacidi singoli. Solo gli amminoacidi potranno essere assorbiti a livello dei villi intestinali. A differenza di carboidrati e lipidi, nell'organismo non esistono riserve di azoto. Dato il rapido turn over delle proteine (ore), deficit alimentari di proteine si riflettono rapidamente in disfunzioni patologiche. Il **bilancio azotato** si esprime come differenza tra N ingerito (N_{in}) e N escreto (N_{out}) in feci, urine, sudore. Tutte le proteine sono soggette a ricambio e a ricostruzione: il 75-80% degli aa provenienti dalla degradazione viene riutilizzato, il 20-25% viene metabolizzato e deve essere rimpiazzato con aa provenienti dalla dieta. L'escrezione di N determina un problema biologico in quanto l'ammoniaca (NH_3) è tossica per l'organismo, specialmente per i centri nervosi. Pertanto i tessuti extraepatici eliminano N sotto forma di aa non tossici (specialmente glutammina e alanina). Il fegato utilizza alanina per la formazione di urea, mentre il rene può immettere una frazione di N nell'urina come NH_3 o urea. Tutti gli aa devono essere deaminati in un qualche punto del loro catabolismo, ossia i loro gruppi amminici devono essere rimossi. La rimozione avviene per lo più ad opera di **transaminasi** che trasformano gli α -amminoacidi in α -chetoacidi e viceversa, oppure un altro importante meccanismo di rimozione del gruppo amminico quale la **deaminazione ossidativa** dell'acido glutammico. La maggior parte delle transaminasi utilizza l'acido α -chetoglutarico come α -chetoacido accettore. L'acido glutammico prodotto in queste transaminazioni è di fatto il principale donatore di gruppi amminici nella biosintesi degli amminoacidi, pertanto la coppia acido α -chetoglutarico e acido glutammico ha un ruolo fondamentale nel metabolismo di queste molecole. Le transaminasi sono piridossalfosfato dipendenti (vit. B₆).

Esempio: transaminazione

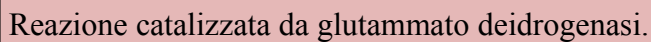
aminoacido + α -chetoglutarato $\rightarrow$ α -chetoacido + glutammato

reazione catalizzata da GOT, glutammato transaminasi

Aminoacido + piruvato $\rightarrow$ α -chetoacido + alanina

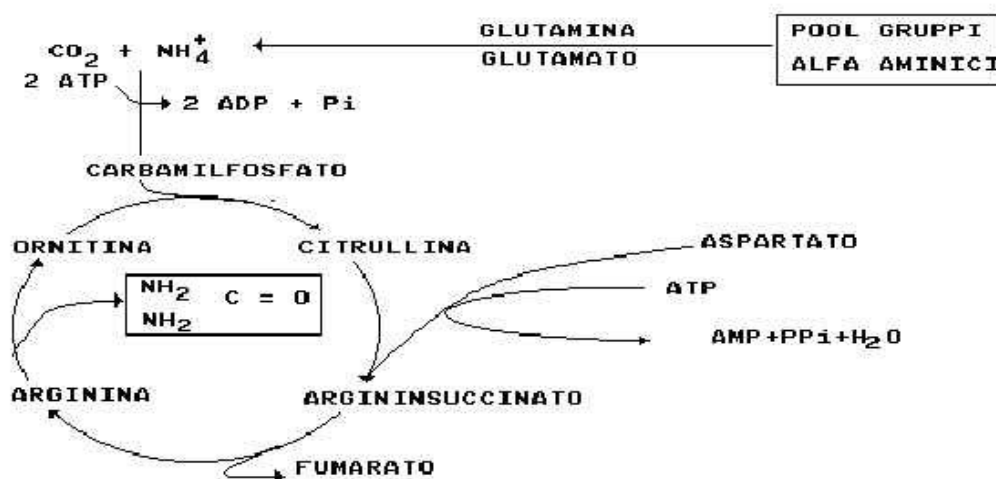
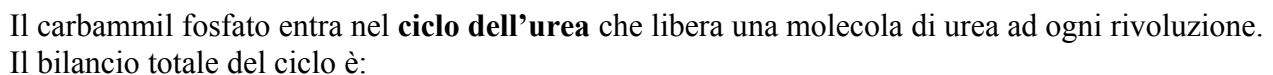
Reazione catalizzata da ALT, alanina transaminasi

Mentre la transaminazione trasferisce un gruppo $-NH_2$ da un amminoacido a un chetoacido, la deaminazione ossidativa procede alla rimozione di $-NH_2$ dall'amminoacido glutammato



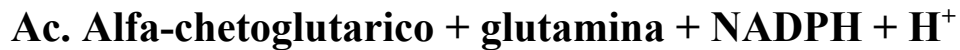
Il ciclo dell'urea.

L'**urea** ($\text{NH}_2\text{-CO-NH}_2$) è una forma non tossica di trasporto di N nel sangue ed è responsabile dell'80 % dell'escrezione di N dall'organismo. Il ciclo avviene principalmente nel fegato ed utilizza enzimi citoplasmatici e mitocondriali. La prima reazione avviene nel mitocondrio e porta alla formazione di carbammil fosfato:



27

Per la sintesi delle proteine occorrono 20 amminoacidi, l'uomo è in grado di sintetizzarne 11 (aa non essenziali) a partire da N. l'ammoniaca viene direttamente incorporata nell'acido glutammico e nella glutammina, che a loro volta sono poi utilizzati come fonte di N in molte vie biosintetiche: la maggior parte degli aa riceve il gruppo amminico dall'acido glutammico attraverso reazioni di transaminazione; la glutammina fornisce l'N nella sintesi di molti metaboliti, compresi parecchi aa. Quando la concentrazione di ammoniaca è elevata la glutammicodeidrogenasi NAD(P)H-dip. catalizza l'incorporazione di NH_3 nell'acido glutammico.



↓ **Glutammicosintetasi**



La glutamminsintetasi ATP-dip. Catalizza l'incorporazione dell' NH_3 nell'acido glutammico per formare glutammina.

8. Metabolismo dei nucleotidi.



Nelle cellule eucariotiche i nucleotidi sono i precursori delle basi che costituiscono le unità di DNA e RNA e sono parte integrante di ATP e GTP, i noti composti ad alta energia. Inoltre, essi sono precursori di numerose molecole fra cui i mediatori della risposta ormonale (cAMP, cGMP) e coenzimi (CoA, NADH, FADH₂). Alcuni nucleotidi sono utilizzati per attivare piccole molecole, per es. il glucosio (UDP-glucosio). Un nucleotide è costituito da un residuo di zucchero, una base azotata e da almeno un gruppo fosfato. Nei ribonucleotidi lo zucchero è il D-ribosio, nei deossiribonucleotidi è il 2'-deossiribosio. Le basi azotate appartengono a due famiglie: le **purine** e le **pirimidine**. Le purine più importanti sono *adenina* e *guanina*, le pirimidine sono *citosina*, *timina*, *uracile*. Una base azotata unita al ribosio o al desossiribosio costituisce un **nucleoside**. I nucleosidifosfati sono i nucleotidi.

I **nucleotidi purinici** sono sintetizzati *ex novo* lungo una serie di 10 reazioni che richiedono l'intervento di numerosi enzimi, substrati e ATP. Il precursore è (PRPP) il 5-fosforibosil-pirofosfato, che si forma a partire dal ribosio-5'-fosfato, derivato dalla via dei pentoso fosfati.

Degradazione dei nucleotidi purinici. La maggior parte dei cibi contiene quantità variabili di acidi nucleici che in genere resistono all'ambiente acido gastrico per venire poi degradati nel duodeno. Numerosi enzimi degradano acidi nucleici (nucleasi) e nucleotidi purinici (nucleotidasi) secondo varie vie metaboliche che convergono quasi esclusivamente su ipoxantina e xantina. L'enzima xantina ossidasi converte ipoxantina a xantina, e xantina a urato, che rappresenta il metabolita terminale, non metabolizzabile nella specie umana, del catabolismo delle purine.

I **nucleotidi pirimidinici** vengono sintetizzati nel corso di 6 reazioni. Quattro atomi della pirimidina derivano dall'acido aspartico, gli altri due dal carbammilfosfato. Il PRPP fornisce il ribosiofosfato per la biosintesi dei nucleotidi pirimidinici. A differenza di quanto avviene nella sintesi dei nucleotidi purinici, la formazione dei nucleotidi pirimidinici inizia con la costruzione della pirimidina, seguita poi dall'aggiunta del ribosiofosfato alla base.

Degradazione dei nucleotidi pirimidinici. Sono degradati ad acetil-CoA e succinil-CoA.

All'interno delle cellule l'informazione necessaria per la duplicazione risiede nel materiale genetico sotto forma di **acido desossiribonucleico** o DNA. Nei sistemi biologici l'informazione contenuta nel DNA viene copiata in una molecola affine, l'**acido ribonucleico** o RNA, nel processo di **trascrizione**. L'informazione trascritta nell'RNA viene poi tradotta in una proteina. La subunità ripetitiva di base del DNA è un nucleotide contenente un residuo di zucchero (2-desossi-D-ribosio), un gruppo fosfato e un residuo di una delle quattro possibili basi azotate eterocicliche. Due sono purine, l'adenina (A) e la guanina (G), mentre le altre la timina (T) e la citosina (C) sono pirimidine. Il DNA è un polimero di residui 2'-desossiribonucleotidici, uniti da legami fosfodiesteri 5'-3', e che contiene solo quattro diversi tipi di residui: dA, dT, dG, dC, così come dG e dC, sono presenti in quantità equimolecolari. Il DNA è una doppia elica e ciascuno dei suoi due filamenti è avvolto attorno a un asse centrale normalmente come elica destrorsa. Ciascun residuo di adenina su un filamento forma legami H con un residuo di timina dell'altro filamento, così come ciascun residuo di guanina con uno di citosina.

L'**acido ribonucleico** RNA consiste in un polimero lineare di unità ribonucleotidiche unite da legami fosfodiesteri 5'-3'. Differisce dal DNA per 3 aspetti:

- 1) lo zucchero dell'RNA è ribosio, non 2'-desossiribosio
- 2) una delle 4 basi, la timina è sostituita da uracile
- 3) le molecole di RNA constano normalmente di un filamento singolo.

Esistono diversi tipi di RNA:

- **RNA messaggero (mRNA)**, trasporta l'informazione genetica dal DNA ai ribosomi
- **RNA ribosomale (rRNA)** è parte integrante dei ribosomi.
- **RNA di trasporto (tRNA)** trasporta i residui amminoacidici che vengono aggiunti alla catena peptidica in accrescimento durante la sintesi proteica.

Duplicazione del DNA

La duplicazione del DNA è semiconservativa. Ciascun filamento della molecola parentale serve come stampo per la sintesi di una molecola figlia complementare. Dopo ogni duplicazione ciascuna molecola figlia contiene un filamento parentale e un filamento neosintetizzato. L'allungamento della molecola avviene ad opera della DNA-polimerasi, che catalizza la formazione di legami fosfodiesteri tra un deossiribonucleotide -5'-trifosfato attivato e la catena nascente di DNA. La DNA-polimerasi ha bisogno per funzionare di un gruppo ossidrilico 3' libero; tutte catalizzano l'allungamento della catena in direzione 5'→3'. L'allungamento differisce per i due filamenti di DNA in corrispondenza della forcella di duplicazione. Un nuovo filamento, definito filamento guida, viene sintetizzato continuamente in direzione 5'→3'. L'altro nuovo filamento, definito filamento lento viene sintetizzato in maniera discontinua producendo dei frammenti oligonucleotidici, i frammenti di Okazaki. La sintesi del filamento guida e di quello lento sono strettamente correlate in vivo e possono essere effettuate simultaneamente nella forcella di duplicazione da parte di un singolo, grosso complesso, il replisoma. Il replisoma contiene elicasi per aprire la doppia elica di DNA, la primasi per sintetizzare gli RNA innesci nel filamento lento e due DNA-polimerasi.

