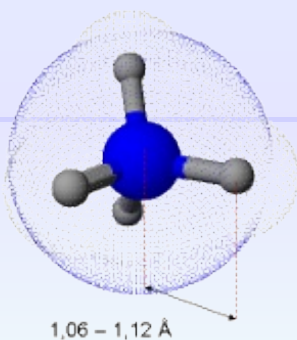
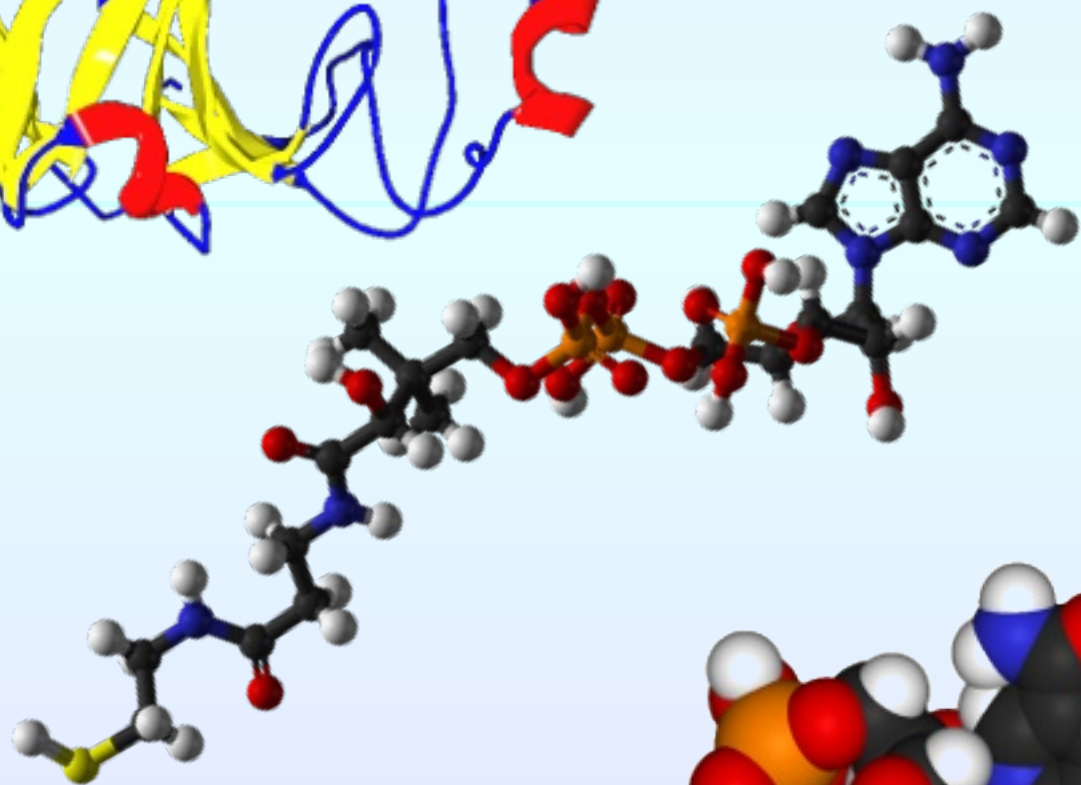
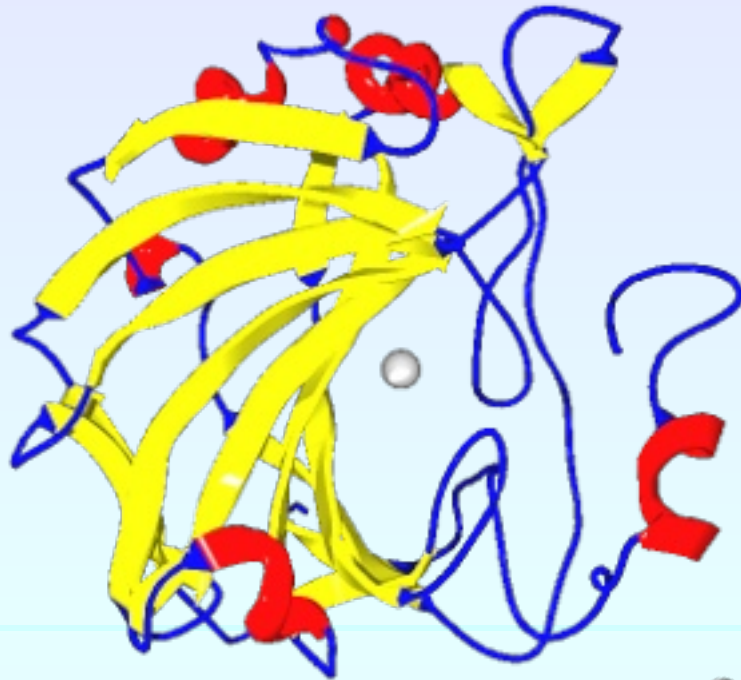


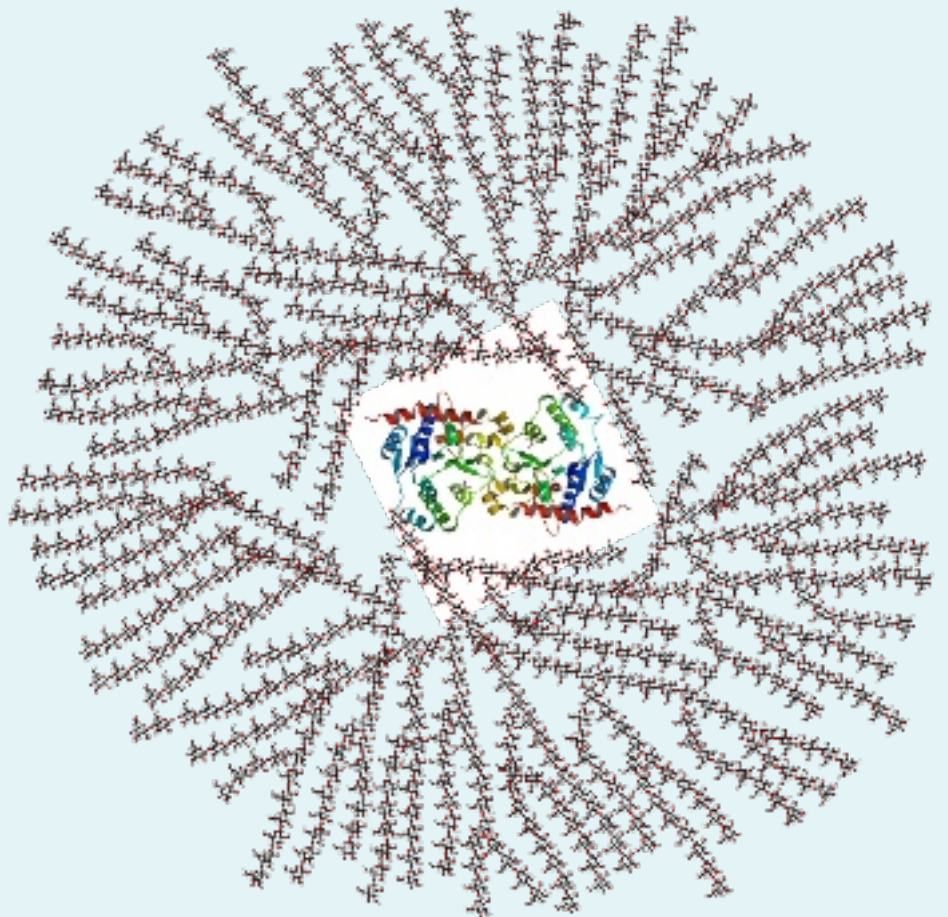
APPUNTI DI BIOCHIMICA E BIOCHIMICA NUTRIZIONALE

aa 2008/2009
Giordano Perin



1

BIOCHIMICA GENERALE



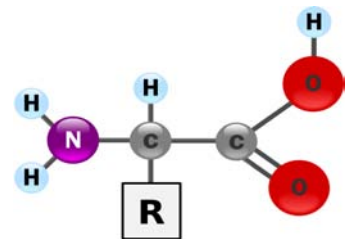
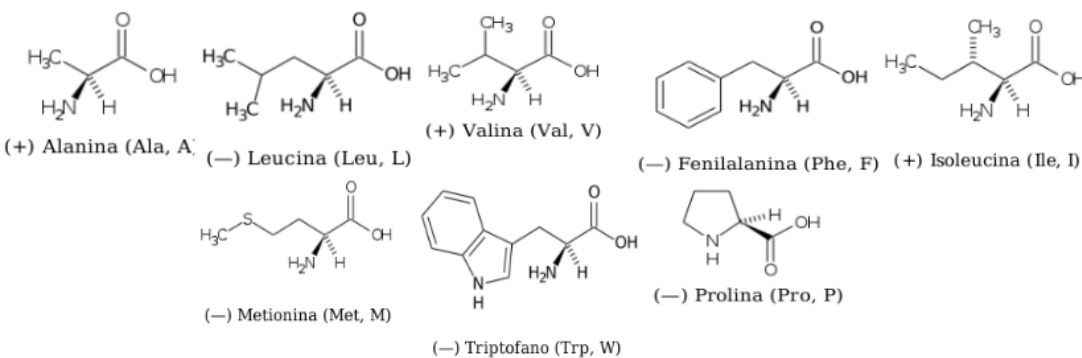
LE PROTEINE:

Le proteine sono delle macromolecole costituite di amminoacidi legati fra loro tramite legame peptidico.

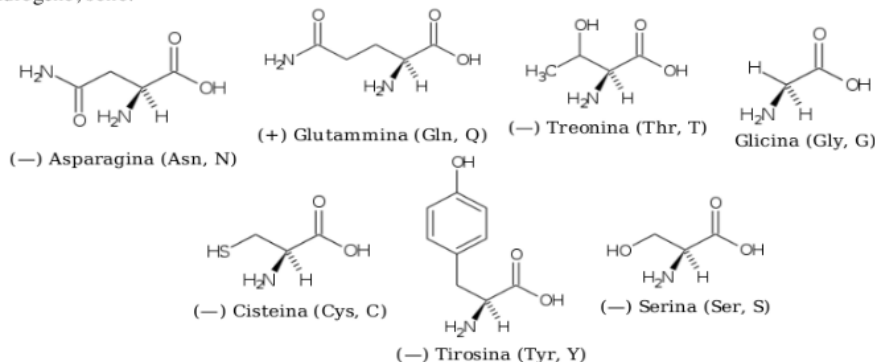
IL LEGAME PEPTIDICO E GLI AMMINOACIDI:

gli amminoacidi sono delle molecole caratterizzate alla presenza di due gruppi funzionali: il gruppo amminico e il gruppo carbossilico, in linea generale si tratterebbe quindi di composti bifunzionali, tuttavia è importante sottolineare il fatto che gli amminoacidi più diffusi in natura sono gli alfa amminoacidi, amminoacidi cioè che presentano il gruppo funzionale carbossilico e quello amminico legati al medesimo atomo di carbonio. Gli amminoacidi che di fatto compongono le proteine sono tutti amminoacidi alfa e sono solamente venti, la struttura generale di tali molecole è schematizzabile in questo modo:

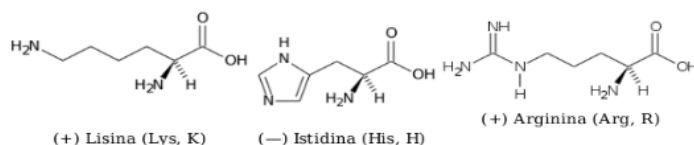
AMMINOACIDI IDROFOBICI: sono tipicamente apolari e non possono partecipare alla formazione di legami ad idrogeno, questi sono:



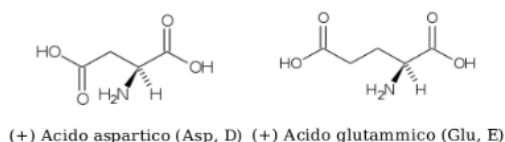
AMMINOACIDI NEUTRI APOLARI: sono amminoacidi che, pur non presentandosi in forma ionizzata normale, presentano una polarità tale da rendere possibile la formazione di legami ad idrogeno; sono:



AMMINOACIDI BASICI: sono amminoacidi caratterizzati dalla presenza di una catena laterale tipicamente basica, sono molto presenti ed essenziali in quanto partecipano, in particolare la PROLINA, alla formazione di sistemi tampone proteici ematici:



AMMINOACIDI ACIDI: sono amminoacidi caratterizzati dalla presenza di una catena laterale acida, in particolare:

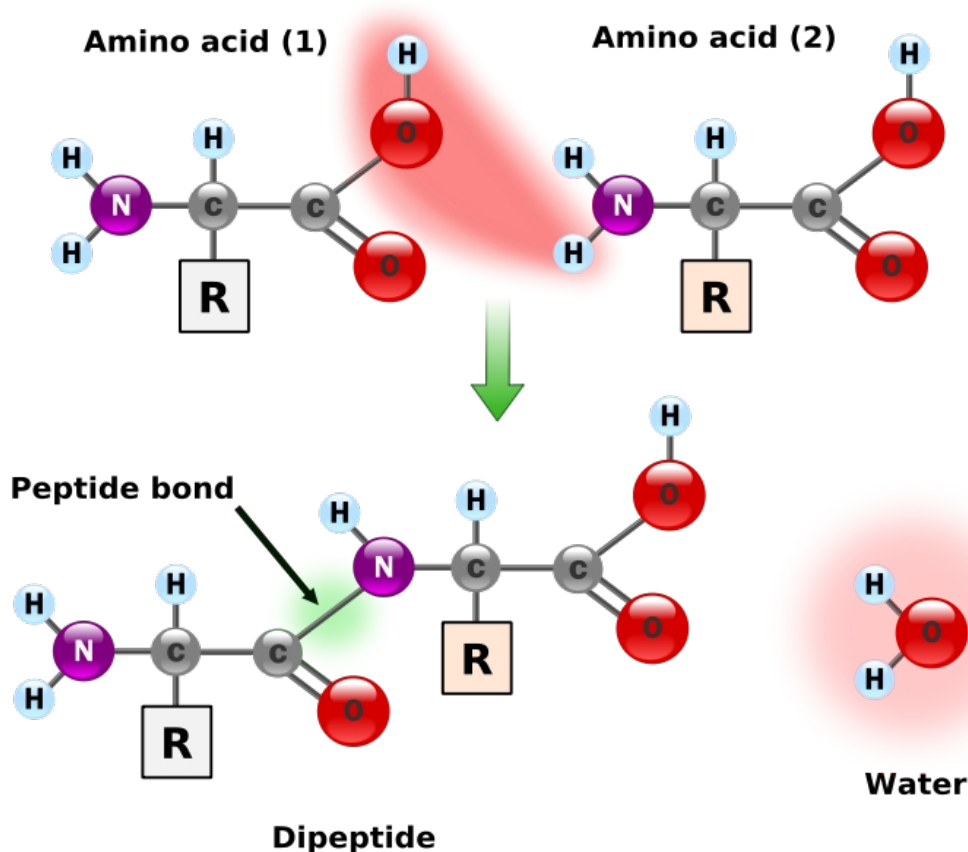


I venti amminoacidi, qui riportati nella loro formula e struttura, nonostante siano accomunati da una medesima struttura generale, sono molto diversi uno dall'altro: si distinguono amminoacidi dotati di catena laterale neutra, polare, acida e basica. Ogni amminoacido presenta quindi almeno due equilibri di dissociazione, uno per il carbossile, uno per il gruppo amminico (e un eventuale terzo

equilibrio che dipende dalla presenza di un gruppo funzionale notevole nella catena R). Come già in precedenza sottolineato queste molecole, strutturate in proteine, sono coinvolte nei sistemi tampone che garantiscono il mantenimento del nostro pH fisiologico. Gli amminoacidi sono legati fra loro a formare proteine tramite un legame che viene definito peptidico, ma che potrebbe essere definito tranquillamente AMMIDICO: si tratta di un legame che, formalmente, si instaura fra i gruppi funzionali amminico e carbossilico con l'uscita di una molecola di acqua.

Il legame peptidico presenta delle caratteristiche molto particolari che influenzano anche la polimerizzazione che porta alla formazione della struttura proteica: come un qualsiasi legame ammidico il legame peptidico È SOGGETTO AD UN FENOMENO DI RISONANZA che coinvolge gli atomi di carbonio azoto e ossigeno coinvolti nel legame stesso; questo provoca alcune conseguenze fondamentali per quanto riguarda la struttura delle molecole proteiche:

1. è inibita la rotazione fra i legami coinvolti nel fenomeno di risonanza: i legami che vengono ad instaurarsi presentano un carattere parzialmente di doppio legame, non è quindi possibile in alcun modo la rotazione.
2. L'unico modo per far stare tutti e tre gli atomi sul medesimo piano è la creazione di un rettangolo planare rigido nel quale si collocano tutti gli atomi posti fra due diversi carboni alfa.



Come conseguenza abbiamo una situazione di questo tipo: una proteina sarà costituita di tanti piani rettangolari più o meno identici come dimensioni, concatenati fra loro a formare

una macromolecola dalla struttura generalmente molto regolare. L'unico grado di libertà possibile è quello garantito dalla rotazione dei legami intorno ai carboni alfa, questi si posizioneranno in modo da raggiungere il livello di conformazione energeticamente più stabile.

FUNZIONE DELLE PROTEINE: le proteine presenti nel nostro organismo appartengono a numerose categorie e tipologie e hanno numerose funzioni diverse:

- Proteine di trasporto, in particolare emoglobina e mioglobina per l'ossigeno, ferritina e transferrina per il ferro.
- Contrazione e movimento come actina e miosina, che sono presenti in tutte le cellule contrattili e motili.
- Funzione difensiva, in particolare naturalmente gli anticorpi ma anche le proteine del complemento (adiponectina).
- Trasmissione degli impulsi nervosi come la rodopsina.
- Controllo della crescita e differenziamento.
- Sostegno strutturale, in particolare collagene.
- Catalisi enzimatica.
- Funzione ormonale.

LA STRUTTURA DELLE PROTEINE: per poter descrivere una proteina, che altro non è se non un aggregato di amminoacidi uniti fra loro tramite legame peptidico, è necessario creare, vista la complessità delle strutture che si possono creare, una gerarchia descrittiva rigorosa e precisa, in particolare si ricordano:

- **STRUTTURA PRIMARIA:** la struttura primaria di una proteina altro non è che la sequenza degli amminoacidi che la costituiscono, in particolare deve dare le seguenti informazioni:
 - quanti sono gli amminoacidi coinvolti.
 - Che tipo di amminoacidi sono.
 - Il loro ordine nella molecola.

Da questa struttura derivano poi tutte le altre: la struttura tridimensionale di una proteina dipende in modo molto stretto dalla sua composizione in amminoacidi (in particolare per la forte influenza delle catene R).

- **STRUTTURA SECONDARIA:** la struttura secondaria di una catena peptidica è una struttura tridimensionale ordinata, descrivibile, quindi, anche a livello numerico, che la catena peptidica stessa assume naturalmente in virtù delle relazioni che si instaurano fra gli amminoacidi che la compongono. La formazione di queste strutture è vincolata alla capacità rotazionale che i legami fra carboni alfa consentono e quindi, di fatto, al livello energetico che la molecola stessa assume. Le strutture secondarie note sono numerose, tuttavia quelle tipicamente presenti in natura a riguardo sono due:
 - **ALFA ELICA:** si tratta di una struttura che si realizza sovente in natura ed è di fatto un'elica di amminoacidi legati fra loro e stabilizzati dalla presenza di legami ad idrogeno fra gruppi N-H₂ e COOH. Questa struttura si forma in modo particolare quando gli amminoacidi coinvolti presentano una inclinazione fra i loro piani dell'ordine di grandezza di circa 100°; in questa situazione:

- si instaurano dei legami ad idrogeno fra le molecole amminoacidiche, questi legami ad idrogeno insistono esattamente fra il carbossile di un amminoacido e il gruppo amminico presente sul quarto amminoacido successivo.
- La struttura si stabilizza in un'elica che presenta catene R orientate verso l'esterno dell'elica stessa.
- L'elica presenta un passo di 5,4Å.

Una struttura di questo tipo, la prima individuata e una delle più comuni in natura, si forma tipicamente in presenza di amminoacidi come:

- GLUTAMMATO.
- METIONINA.
- ALANINA.
- LEUCINA.

Ed è di solito sfavorita dalla presenza di PROLINA che, essendo un amminoacido completamente rigido, inibisce la formazione dell'alfa elica.

- FOGLIETTO BETA: gli amminoacidi coinvolti in questo tipo di strutture sono generalmente diversi da quelli coinvolti nella formazione della struttura ad alfa elica, in particolare la struttura in questione è formata di amminoacidi legati fra loro a formare filamenti distribuiti linearmente nello spazio; è assente qualsiasi forma di avvolgimento. Filamenti lineari diversi possono affiancarsi uno all'altro formando delle strutture più complesse, note appunto come beta foglietto, e stabilizzate a livello strutturale dalla presenza di legame ad idrogeno fra gruppi carbossilici di una fila e gruppi amminici dell'altra. I due filamenti possono essere:
 - PARALLELI: le due catene peptidiche sono affiancate parallelamente quando estremità uguali (amminiche o carbossiliche) delle due diverse catene si trovano al medesimo capo della struttura; ovviamente le due catene devono essere fra loro separate per poter arrivare ad una situazione come quella sopra descritta. In un caso come questo nelle due sequenze di amminoacidi gruppi funzionali uguali si trovano in posizione esattamente coincidente nelle due catene, non risulta quindi possibile creare dei legami ad idrogeno paralleli all'asse della struttura stessa; la forza di questi legami risulterà quindi indebolita.
 - ANTIPARALLELE: in questo caso estremità diverse delle due catene si trovano al medesimo capo della struttura, i gruppi funzionali uguali delle due catene antiparallele si posizionano in modo sfalsato uno rispetto all'altro, si possono quindi instaurare dei legami ad idrogeno più corti e più resistenti a livello strutturale. In un caso come questo inoltre è possibile che l'intera struttura sia costituita da un unico peptide che, grazie alla formazione di un ansa (beta turn), si ripiega su se stesso, oppure da due peptidi affiancati.

Nel caso in cui le catene siano antiparallele e legate tramite un'ansa, la distanza lungo la sequenza fra i due amminoacidi che sono coinvolti nella formazione di un legame ad idrogeno è notevole.

Amminoacidi propensi alla formazione di una struttura come questa sono:

1. VALINA.
2. ISOLEUCINA.
3. FENILALANINA.
4. TIROSINA.
5. TRIPTOFANO.
6. TREONINA.

É inoltre importante sottolineare che le catene laterali degli amminoacidi sporgono sopra e sotto la struttura. Naturalmente gli angoli di legame sono estremamente diversi rispetto a quelli descritti nella struttura ad alfa elica.

- **STRUTTURA TERZIARIA:** si tratta della conformazione spaziale che una catena peptidica assume una volta posta nel suo ambiente funzionale, una struttura complessa che di fatto è formata dalla combinazione di diverse strutture secondarie e di interazioni di vario genere che si instaurano fra catene laterali degli amminoacidi. Le interazioni che partecipano di fatto alla formazione di questa struttura ineriscono unicamente con le caratteristiche delle catene laterali e sono:
 - **PONTI DISOLFURO:** si tratta degli unici legami covalenti che interessano questo tipo di struttura: un amminoacido particolare, la CISTEINA, presenta all'estremità della struttura un gruppo tiolico, quando due gruppi di questo tipo si affiancano, per ossidazione dei due atomi di zolfo ($-2 \rightarrow -1$) si crea una relazione covalente che instaura una relazione fra due diversi amminoacidi:
$$R-SH + R-SH \rightarrow R-S-S-R + H_2$$
 - **INTERAZIONI IONICHE:** si tratta di interazioni che si instaurano fra amminoacidi con catene laterali ionizzabili, possono essere repulsive o attrattive a seconda delle combinazioni.
 - **INTERAZIONI APOLARI:** si instaurano in particolare fra amminoacidi dotati di catena laterale aromatica, ma non solo, si tratta di forze di van de waals; possono essere dei dipoli istantanei o indotti dalla presenza di ioni vicini. Sono interazioni di natura idrofobica.
- **STRUTTURA QUATERNARIA:** struttura caratteristica di proteine oligomeriche, si tratta di proteine che per poter funzionare necessitano la formazione e quindi l'assemblaggio di diverse subunità peptidiche fra loro. In caso di non corretto assemblaggio della struttura la proteina non può funzionare.

PROTEINE FIBROSE E GLOBULARI: una prima classificazione delle proteine si può definire già a partire dalle strutture di natura terziaria:

1. **PROTEINE FIBROSE:** si tratta di proteine caratterizzate dalla presenza di una struttura particolarmente sviluppata in senso longitudinale, sono sostanzialmente delle strutture peptidiche ad alfa elica che intessono fra loro delle relazioni fino a formare una struttura compatta e solida.
 1. Generalmente sono α cheratine.
 2. Formano strutture come capelli, lana, piume, unghie, artigli, squame, corna.
 3. La loro solidità è generalmente data dalla presenza di ponti disolfuro in quantità variabili. Come qualsiasi tipo di proteina anche le cheratine alfa subiscono processi di denaturazione (vedi i capelli e la permanente) e rinaturazione.

4. Le transizioni dalla struttura di tipo alfa alla struttura di tipo beta sono generalmente possibili, ma implicano:

1. perdita di funzione (denaturazione).
2. Sono spesso irreversibili perché è difficile ottenere una struttura identica a quella denaturata in precedenza (questo discorso è molto variabile in relazione al tipo e alla struttura di ciascuna proteina).

DI FATTO PONTI SOLFURO E LEGAMI DI NATURA POLARE SONO I PRINCIPALI RESPONSABILI DELLA FORMAZIONE E DELLE CARATTERISTICHE DI QUESTO TIPO DI STRUTTURA.

2. **PROTEINE GLOBULARI:** sono proteine caratterizzate da una struttura di tipo sferoidale o globulare che dir si voglia. Rispetto alle proteine fibrose, queste proteine presentano una forma estremamente diversa, tuttavia le interazioni coinvolte nella formazione e nel mantenimento delle due strutture sono le medesime. Una proteina raggiunge la sua conformazione nativa unicamente posta nel suo ambiente funzionale che, generalmente, è il sangue, un ambiente tipicamente polare, quindi, immersa in esso la proteina assume una conformazione di questo tipo:

1. **AMMINOACIDI IDROFILI** si collocano in contatto con l'ambiente acquoso e intessono relazioni con esso.
2. **AMMINOACIDI IDROFOBICI**, tramite un adeguato ripiegamento della struttura, si collocano il più possibile lontani dall'ambiente polare esterno intessendo delle relazioni deboli fra loro.

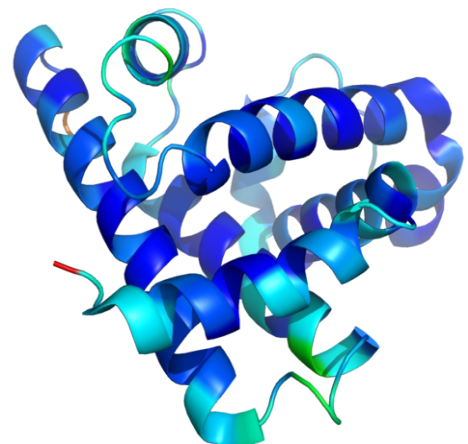
In questo modo si ottiene una molecola tipicamente ripiegata su se stessa a formare un globo.

DI FATTO I LEGAMI DI NATURA IDROFOBICA SONO I PRINCIPALI RESPONSABILI DELLA FORMAZIONE DI QUESTO TIPO DI STRUTTURA.

LA MIOGLOBINA: la mioglobina è una proteina globulare caratteristica di cellule muscolari e di cellule in generale dotate della capacità di contrarsi e di muoversi, ma non solo, svolge un ruolo importante anche nella respirazione cellulare. A prescindere da questo la mioglobina è una proteina tipicamente globulare:

- è costituita di circa 150 amminoacidi, la composizione sarà diversa fra specie e specie, ma, essendo la funzione sempre la medesima, non vi sarà molta differenza.
- Composizione a livello polare mista: sono presenti amminoacidi polari e amminoacidi apolari.
- Molti amminoacidi sono dotati di capacità di dare struttura ad alfa elica, in particolare si formano ben 8 segmenti ad alfa elica fra i quali si frappongono delle proline, definite critiche, che, impedendo la formazione dell'alfa elica, portano alla formazione di ben 7 anse.

Grazie alla presenza di un certo numero di interazioni idrofobiche la molecola si chiude in senso globulare e da un effetto in acqua detto **EFFETTO TYNDALL**: si tratta di



un effetto che si verifica in caso di immersione di una macroioni in acqua, lo ione viene solvatato, ma esiste come tale in soluzione circondato interamente da molecole d'acqua senza subire dissociazione.

Ma la struttura sicuramente più interessante a livello molecolare è la struttura dell'EME: si tratta di una parte non proteica della molecola capace di legare l'ossigeno e conservarlo come tale fino al momento del suo utilizzo.

TRASPORTO DELL'OSSIGENO: si tratta di un processo molto delicato in quanto deve tenere conto di numerosi fattori:

1. la molecola di ossigeno deve entrare nella struttura proteica e ad essa legarsi in modo da poter essere trasportata.
2. La molecola di ossigeno non deve MAI E IN ALCUN MODO entrare in contatto con agenti riducenti: essendo un forte ossidante, la molecola di ossigeno deve essere isolata nel circolo sanguifero per impedire che entri in contatto con agenti riducenti (sarebbe sufficiente un contatto con molecole di acqua).

A rendere possibile tale processo è il gruppo EME: si tratta di una struttura caratterizzata da:

- NUCLEO costituito da una molecola di ferro.
- UNA STRUTTURA costituita di ben 4 anelli pirrolici uniti fra loro da ponti definiti metilici (atomi di carbonio).
- UNA SERIE DI SOSTITUENTI che nella specie umana sono:
 - 1,3,5,8 tetrametil.
 - 2,4 divinil.
 - 6,7 propanoil.

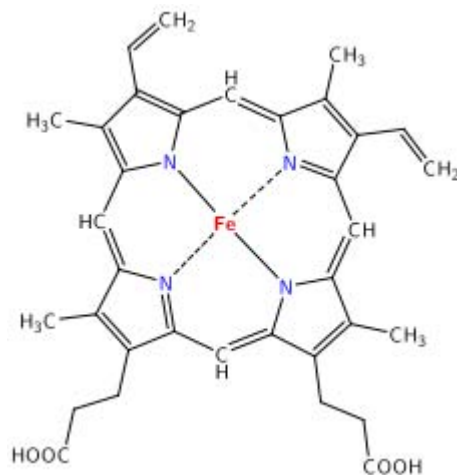
Queste componenti sono legate fra loro, alla struttura proteica e, in alcuni casi, alla molecola di ossigeno in questo modo: la molecola di Fe^{++} è un forte elettroneattrattore, risulta quindi avere elevata affinità con i quattro atomi di azoto che lo circondano, inoltre IL FERRO, elemento di transizione, SUBISCE UNA FORMA DI IBRIDIZZAZIONE DETTA d^2sp^3 TALE PER CUI PRESENTA 6 ORBITALI DISPONIBILI E ISOENERGETICI, di questi:

- 4 sono impegnati nei legami ferro-azoto (due legami di tipo covalente e due di tipo dativo) e giacciono sul medesimo piano.
- 1 viene utilizzato per legare la catena peptidica soprastante, in particolare si lega con l'atomo di azoto della ISTIDINA 93.
- 1 viene utilizzato per legare l'ossigeno quando necessario.

Questi ultimi due orbitali si collocano ai vertici di una struttura tridimensionale e sono uno al di sopra e uno al di sotto del piano formato dal quadrilatero degli azoti.

La funzione dell'eme si estrinseca in questo modo:

nel momento in cui una molecola di ossigeno si lega al ferro questo, rispetto al piano descritto dalle molecole di azoto, si sposta verso il basso trainando con se anche la struttura proteica della mioglobina (alla quale è legato tramite l'istidina 93); questo provoca una deformazione molto significativa dell'intera molecola che consente la penetrazione del gruppo EME in una sacca idrofobica che lo isola completamente dall'ambiente polare esterno impedendone la riduzione. La struttura del gruppo eme:

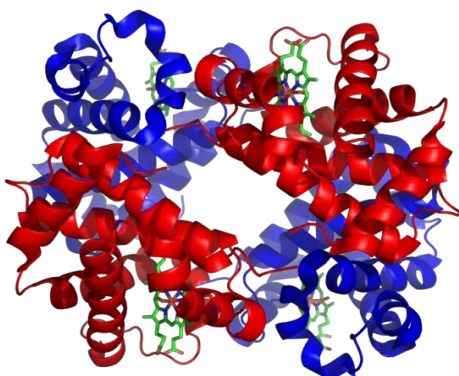


EME = ferroprotoporfirina IX; si tratta di una delle possibili forme della ferroprotoporfirina. Nel caso in cui il ferro venga ossidato a Fe^{+++} il gruppo assume il nome di EMINA o FERROPROTOPORFIRINA che perde la capacità di legare l'ossigeno; questa trasformazione avviene spontaneamente in presenza di acqua; l'isolamento dell'eme è quindi essenziale anche alla conservazione della sua funzionalità, non solo di quella dell'ossigeno. La parte proteica della molecola ha anche un'altra funzione: regola e soprattutto diminuisce l'affinità eme-ossigeno, in assenza di essa l'ossigeno non si separerebbe dal ferro.

FUNZIONE CELLULARE GENERALE DELLA MIOGLOBINA: trasferire l'ossigeno dall'emoglobina alla citocromo ossidasi, ultimo complesso della catena respiratoria mitocondriale, questo è possibile unicamente grazie alla regolazione dell'affinità con l'ossigeno fra le tre molecole:

EMOGLOBINA < MIOGLOBINA < CITOCROMO OSSIDASI

L'EMOGLOBINA: l'emoglobina è una struttura proteica tetramerica, costituita cioè da quattro subunità peptidiche complementari a livello funzionale e molto simili alla mioglobina. Nell'uomo adulto le quattro subunità sono due alfa e due beta e ciascuna di esse è caratterizzata dalla presenza di un gruppo eme. Come per qualsiasi struttura quaternaria il tetramero si chiude nella sua forma globulare grazie alle interazioni fra le catene laterali degli amminoacidi. La sua efficacia è tale da portare la concentrazione di ossigeno nel sangue dai 5ml che sarebbero presenti per semplice solubilizzazione del gas a ben 250ml al litro.



A livello strutturale la molecola dell'emoglobina si assembla in questo modo:

- due subunità differenti si associano fra loro in modo molto stretto, l'affinità fra di esse è infatti molto elevata, maggiore di quella che ci sarebbe fra due subunità del

medesimo tipo che anzi tendono a respingersi.

- Le due metà si associano fra loro in modo non speculare (subunità differenti combaciano), questo avviene perchè a livello funzionale è necessario che vi sia una determinata distanza fra le due metà della molecola.

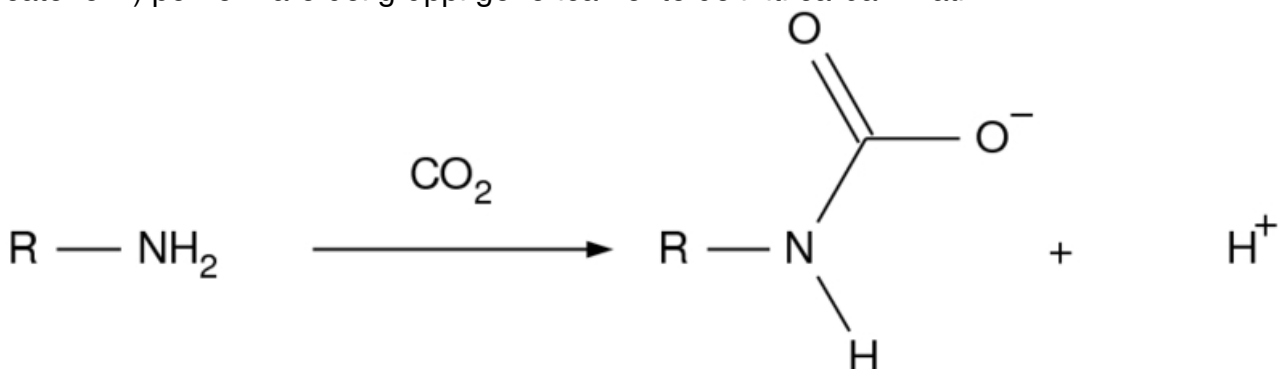
Naturalmente la struttura è organizzata in questo modo per GARANTIRE LA MASSIMA FUNZIONALITÀ STRUTTURALE.

FUNZIONAMENTO: la molecola dell'ossigeno, O₂, è naturalmente, in quanto apolare, poco solubile nel torrente sanguigno, per questo motivo è necessario utilizzare, per soddisfare le esigenze del corpo umano, un trasportatore come L'EMOGLOBINA; l'emoglobina stessa, inoltre, si occupa, almeno parzialmente, della eliminazione dei prodotti delle ossidazioni del nostro organismo (CO₂). A livello organizzativo:

- OSSIGENO: viene prelevato dagli alveoli polmonari dalla emoglobina che lo porta intatto fino ai tessuti, qui deve essere mantenuto nel suo stato naturale fino all'utilizzo, e per questo viene ceduto alla MIOGLOBINA che lo cederà al momento opportuno alla citocromo ossidasi.
- ANIDRIDE CARBONICA: prodotto dell'ossidazione di molecole carboniose l'anidride carbonica viene legata alla componente proteica della molecola e trasportata quindi all'esterno tramite il circolo sanguifero e gli alveoli polmonari.

Il legame covalente in questione si forma in questo modo:

sfrutta i gruppi amminici terminali non ionizzabili (per esempio di gruppi ammidici delle catene R) per formare dei gruppi genericamente definiti carbammati.



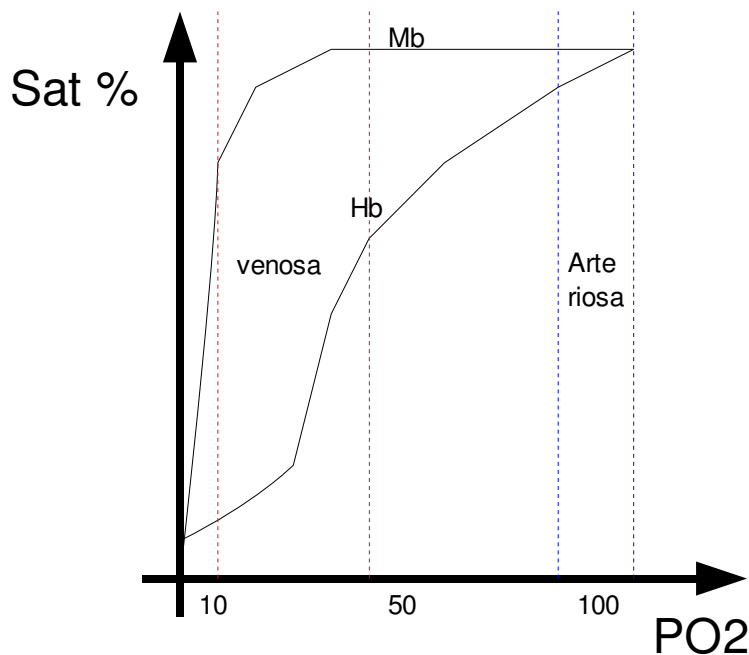
Nei tessuti infatti:

O₂ → RIDUZIONE → H₂O 0 → -2

C → OSSIDAZIONE → CO₂ x → -4

I fattori che influenzano il successo e lo svolgimento di questo processo sono numerosi:

- ➔ PERCENTUALE DI SATURAZIONE: emoglobina e mioglobina svolgono due ruoli profondamente diversi una dall'altra: la prima preleva e trasporta l'ossigeno, la seconda invece lo preserva da deterioramento fino al suo utilizzo nella cellula. Le due molecole presentano di fatto curve di saturazione molto diverse:



In generale: più è alta la pressione parziale di

un gas su una miscela gassosa più è elevata la sua concentrazione in essa $C_i = K \cdot P_i$ (legge di Henry)

MIOGLOBINA: presenta una curva di saturazione molto ripida, anche a pressioni parziali molto basse la mioglobina risulta saldamente legata alla molecola di ossigeno.

P50% = 1mmHg

EMOGLOBINA: presenta invece una curva di saturazione molto meno ripida, risulta saturata unicamente a pressioni parziali di ossigeno molto elevate.

P50% = 26mmHg

Questo grafico mostra molto bene la differenza a livello funzionale fra le due proteine: a livello venoso e capillare, dove la pressione parziale dell'ossigeno è molto bassa (da una pressione parziale in un muscolo attivo di 10mmHg a una di 40 tipica del tessuto adiposo), l'emoglobina avrà difficoltà a trattenere l'ossigeno nella sua struttura, mentre la mioglobina, che già a 15mmHg risulta completamente saturata, ci riuscirà perfettamente; per questo motivo l'ossigeno a livello tissutale viene trattenuto dalla mioglobina che lo riceve spontaneamente dalla emoglobina, d'altro canto a livello alveolare sarebbe impossibile per la mioglobina soddisfare le esigenze dell'organismo così come avrebbe difficoltà a separarsi dalla molecola di ossigeno a livello tissutale.

La curva di saturazione della emoglobina è comprensibile completamente unicamente prendendo in considerazione il modo in cui il legame con l'ossigeno modifichi la molecola:

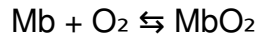
- **PRIMO LEGAME:** risulta piuttosto difficile, la affinità con la molecola di ossigeno è piuttosto scarsa, infatti la saturazione della emoglobina comincia a diventare significativa unicamente a livelli di pressione parziale dell'ossigeno piuttosto elevate.
- **SECONDO LEGAME:** il primo legame con la molecola di ossigeno porta alla saturazione del primo dei quattro gruppi eme, come nel caso della mioglobina il legame influenza tutta la struttura peptidica, ma nel caso della emoglobina la deformazione della catena va ad interessare anche la subunità vicina (sul medesimo piano della molecola) che espone maggiormente il suo gruppo eme facilitando il legame con una ulteriore molecola di ossigeno.
- **TERZO E QUARTO LEGAME:** la deformazione di una metà della molecola finisce per influenzare inevitabilmente anche l'altra metà così da portare alla maggiore esposizione di entrambi i gruppi eme rimanenti e aumentando considerevolmente le probabilità di legame con le molecole di ossigeno.

IN POCHE PAROLE PIÙ UNA MOLECOLA DI EMOGLOBINA LEGA OSSIGENO, PIÙ AUMENTA LA SUA AFFINITÀ PER L'OSSIGENO STESSO (fino a saturazione

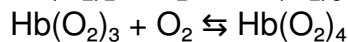
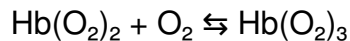
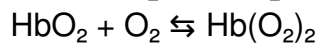
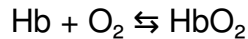
ovviamente). Si tratta di una cooperazione fra le quattro subunità che facilita moltissimo la formazione di legami con l'ossigeno.

Gli equilibri coinvolti in questo tipo di reazione sono quindi:

PER LA MIOGLOBINA:



PER L'EMOGLOBINA:

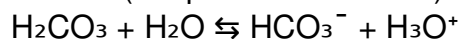


Quindi di fatto a condizionare il trasporto dell'ossigeno è la pressione parziale dell'ossigeno stesso e quindi la sua concentrazione, infatti:

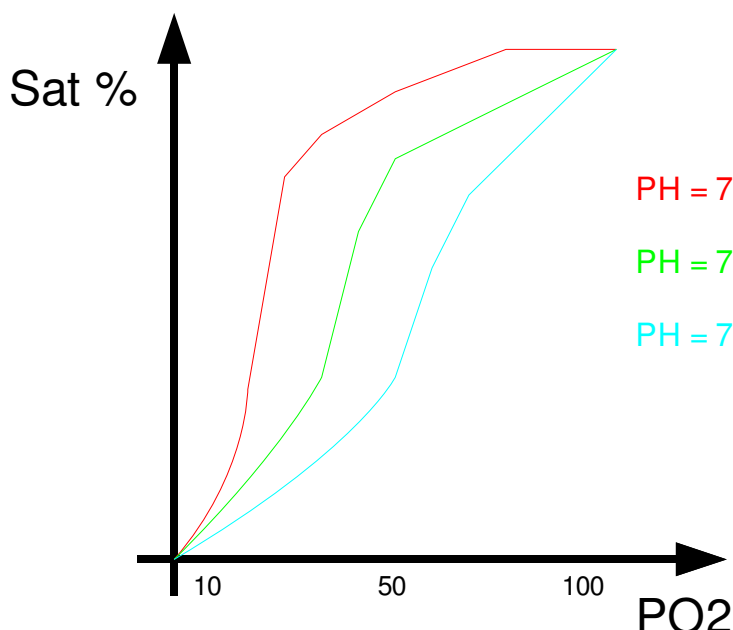
- ALVEOLI = alta concentrazione di ossigeno → reazione spostata verso destra.
- TESSUTI = bassa concentrazione di ossigeno → reazione spostata verso sinistra.

Ma il livello della pressione parziale dell'ossigeno è solo uno degli aspetti che condiziona il trasporto dell'ossigeno; fra questi ricordiamo:

- ACIDITÀ DELL'AMBIENTE: a livello cellulare vengono prodotti per ossidazione di composti di natura organica anidride carbonica e acqua, in particolare l'anidride carbonica viaggia per buona parte (80%) disciolta nel circolo sanguigno coinvolta nell'equilibrio dell'acido carbonico (tampone bicarbonato):



quindi a livello cellulare il pH si presenta più acido rispetto al livello alveolare dove invece l'anidride carbonica e l'acqua si riformano dall'acido carbonico per essere liberate all'esterno; alla aumentata acidità delle aree tissutali contribuisce in generale tutto il metabolismo che produce acidi di vario tipo. Ma la emoglobina può legare, grazie alla presenza di residui di ISTIDINA che contribuiscono al mantenimento del pH fisiologico (unico amminoacido con catena laterale ionizzabile dotata di pK_r compatibile con pH fisiologico), anche dei protoni liberi in soluzione, questo muta però la conformazione della molecola che presenta quindi una diversa affinità per l'ossigeno; i casi sono tre fondamentalmente:



ALCALOSI: la saturazione in percentuale aumenta, quindi la molecola è satura prima, ma difficilmente a pressioni parziali di ossigeno basse rilascia la molecola.

ACIDOSI: la molecola si comporta in modo opposto, la sua saturazione diminuisce, la molecola tende a non acquisire ossigeno e a rilasciarlo più facilmente.

PH FISIOLOGICO: il livello di saturazione è normale, funziona in ogni caso.

Tutto questo, come già detto, è dovuto alla diversa conformazione delle catene della molecola dopo il legame con il protone ed è funzionale a garantire un migliore funzionamento complessivo:

- **LIVELLO ALVEOLARE:** l'anidride carbonica rilasciata alleggerisce l'acidità della soluzione portando il pH a livelli più alti aumentando quindi l'affinità con l'ossigeno che viene legato e trasportato ai tessuti.
- **A LIVELLO TISSUTALE:** l'anidride carbonica con l'acqua forma in soluzione acido carbonico, questo produce protoni che in soluzione diminuiscono il pH diminuendo così l'affinità della molecola con l'ossigeno che viene rilasciato e accolto dalla mioglobina più facilmente.

Per questo in caso di alcalosi o acidosi del sangue un paziente può mostrare evidenti segni di insufficienza respiratoria.

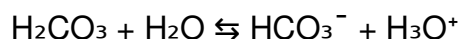
→ **LEGAME CON ANIDRIDE CARBONICA:** ovviamente per garantire la funzionalità dell'eritrocita come trasportatore di sostanze di scarto oltre che di ossigeno è necessario che l'emoglobina sia in grado di legare anche l'anidride carbonica e, in relazione a questo legame, di diminuire la sua affinità per l'ossigeno (che potrebbe altrimenti essere trasportato di nuovo agli alveoli). Complessivamente la anidride carbonica viene trasportata nel sangue in questo modo:

- 15 % legata all'EMOGLOBINA in questo modo: anidride carbonica reagisce con un gruppo amminico caratteristico di una catena laterale non ionizzabile, per esempio un gruppo ammidico, a formare una struttura che convenzionalmente viene definita CARBAMMATO:



Attraverso questo equilibrio l'anidride carbonica viene trasportata agli alveoli e rilasciata quindi nell'ambiente esterno.

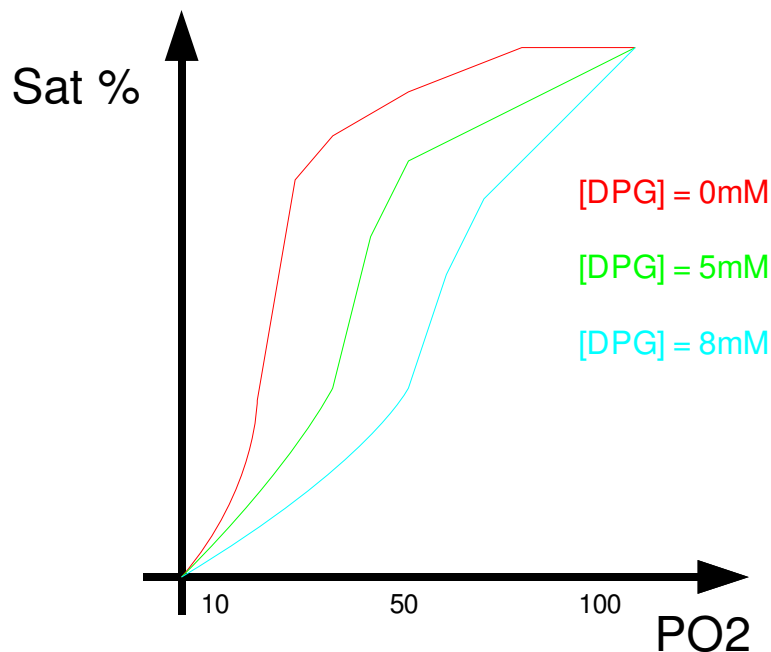
- 5% viaggia libera nel sangue.
- 80% contribuisce alla formazione del sistema tampone bicarbonato nell'equilibrio:



L'effetto combinato di ANIDRIDE CARBONICA e PROTONI sulla struttura della emoglobina viene definito EFFETTO BOHR; come si è visto infatti i due fenomeni sono strettamente legati uno all'altro.

→ **2,3 DIFOSFOGLICERATO:** si tratta di un composto molto particolare che contribuisce al corretto funzionamento della molecola proteica garantendone l'integrità strutturale necessaria. Un eritrocita non presenta a livello citoplasmatico mitocondri e per mantenere il suo metabolismo utilizza un metodo di glicolisi molto semplice, uno degli intermedi di questo processo è proprio l' 1,3 difosfoglicerato (un glicerolo trisostituito a partire dal carbonio uno con un carbossile fosforilato e un gruppo fosfato in posizione tre → a pH fisiologico è un polianione con cinque cariche negative = carbossile più quattro protoni dei fosfati dissociati); da questo composto grazie alla azione di una mutasi si ricava il 2,3difosfoglicerato. QUESTA MOLECOLA REGOLA LA DISTANZA FRA LE DUE COPPIE DI SUBUNITÀ DELLA EMOGLOBINA che così mantengono una conformazione corretta; nel caso in cui la

concentrazione del 2,3difosfoglicerato non sia corretta le conseguenze possono essere varie:



Come si può notare da questo grafico il livello di saturazione dell'emoglobina varia sensibilmente in base alla concentrazione del DPG:

- $[DPG] > 5 \rightarrow$ la saturazione diminuisce molto, è più difficile per l'emoglobina caricare l'ossigeno ma più facile rilasciarlo a livello alveolare.
- $DPG < 5 \rightarrow$ la saturazione aumenta sensibilmente, l'emoglobina carica l'ossigeno ma non riesce poi a rilasciarlo a livello alveolare.

Due esempi tipici di come una bassa concentrazione di DPG possa essere deleteria per il corretto funzionamento della molecola:

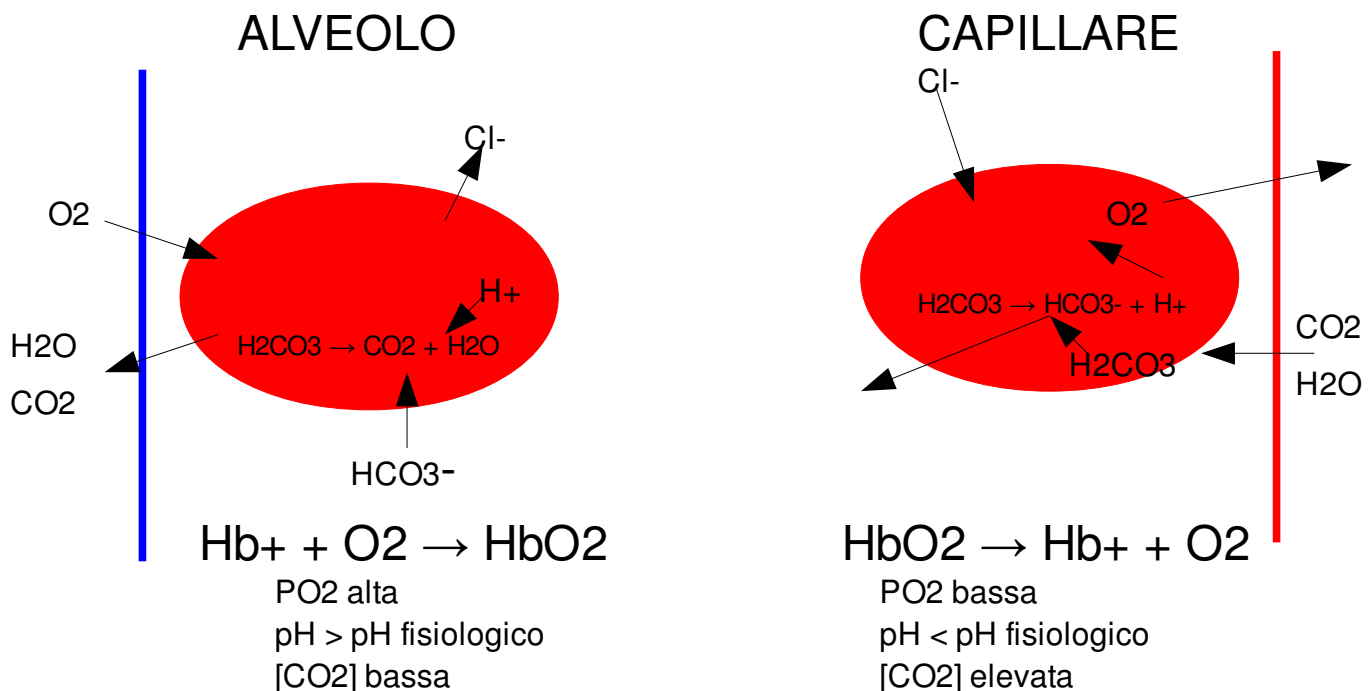
1. Nella conservazione delle sacche di sangue il 2,3difosfoglicerato non si conserva oltre un certo limite, dopo un certo periodo degrada per rottura dei legami fosfoesterei; è capitato in passato, prima che si venisse a conoscenza dell'esistenza di tale molecola, che pazienti siano andati incontro a insufficienze respiratorie gravi per trasfusioni di sangue carente in DPG: l'emoglobina si satura molto velocemente a livello alveolare, ma non rilascia più l'ossigeno a livello tissutale (perché l'affinità è troppo elevata) portando così ad ipossia.
2. In montagna la pressione parziale dell'ossigeno è inferiore rispetto a livelli presenti ad altitudini normali, quindi l'emoglobina presenta una maggiore difficoltà a saturare. Normalmente la emoglobina rilascia a livello tissutale il 40% dell'ossigeno da essa raccolto a livello alveolare, ovviamente in presenza di pressioni parziali inferiori, come in montagna, questa percentuale, pur restando invariata in rapporto, diminuisce in quantità: viene rilasciato meno ossigeno in quanto meno ne viene raccolto. Per supplire a questa mancanza l'eritrocita RIDUCE LA CONCENTRAZIONE CITOPLASMATICA DI 2,3DIFOSFO GLICERATO in questo modo:
 1. A LIVELLO ALVEOLARE, essendo la affinità comunque elevata in quanto le pressioni parziali non subiscono variazioni così consistenti, non muta considerevolmente la quantità di ossigeno assorbita.
 2. A LIVELLO TISSUTALE invece, essendo la affinità per l'ossigeno diminuita, la emoglobina rilascia una quantità maggiore di ossigeno garantendo la

alimentazione del metabolismo ossidativo.

In caso di iperconcentrazione rispetto ai livelli normali l'effetto si percepisce, ma una parte di ossigeno arriva comunque ai tessuti garantendone la sussistenza (meno pericoloso).

- **TEMPERATURA:** l'affinità dell'emoglobina per l'ossigeno è inversamente proporzionale alla temperatura, quindi a livello alveolare, dove la temperatura è inferiore, saturerà prima, mentre a livello tissutale, dove la temperatura è più alta, tenderà a rilasciare l'ossigeno.

QUINDI: possiamo riassumere l'intero processo in uno schema di questo tipo:



il processo in questione è facilitato dalla presenza a livello eritrocitario di un enzima che è responsabile del corretto funzionamento del processo di equilibrio fra anidride carbonica e acido carbonico: L'ANIDRASI CARBONICA, questo enzima è fondamentale per garantire soprattutto la velocità dei processi in questione:

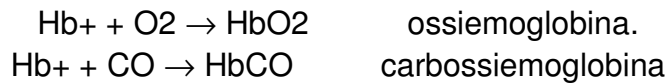
- a livello alveolare deve smantellare l'acido carbonico (ricostruito nell'eritrocita stesso per dissociazione del protone legato alla istidina) ad anidride carbonica e acqua.
- A livello tissutale deve garantire che l'acido carbonico si formi a partire da anidride carbonica e acqua (che sono residuo ossidato del processo di respirazione).

Entrambi i processi sono ovviamente favoriti dai livelli di concentrazione dei reagenti e dei prodotti.

Tutti i processi relativi all'anidride carbonica e all'acido carbonico sono ANIDRICI, non prevedono cioè variazioni sensibili di pH nel sangue: i protoni vengono immediatamente assorbiti dai residui istidinici della emoglobina.

L'EMOGLOBINA, oltre ad ossigeno e anidride carbonica e protoni, può legare diversi tipi di molecole, una delle più importanti e potenzialmente pericolose è il MONOSSIDO DI CARBONIO: si tratta di una molecola piccola (=CO) la cui pericolosità è dovuta alla sua

estrema affinità con il gruppo eme che è ben 200 volte più elevata rispetto a quella dell'ossigeno molecolare. In caso di esposizione a tale agente chimico a livello alveolare saranno coinvolti due equilibri:



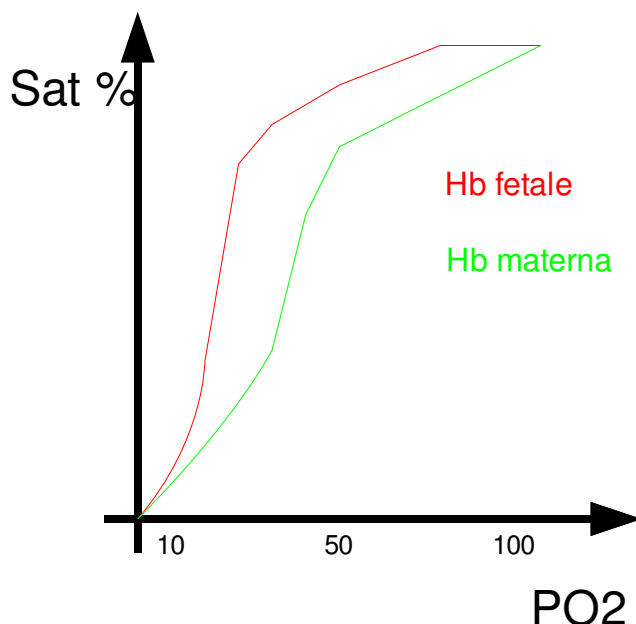
Ovviamente in presenza di monossido di carbonio e di ossigeno l'emoglobina sarà legata prevalentemente al monossido: in una situazione del genere chiaramente il processo di respirazione risulta impossibile. Il metodo utilizzato per debellare il problema sfrutta proprio la presenza del reagente in comune fra le due reazioni di equilibrio: si fa respirare il paziente in una atmosfera quasi di solo ossigeno, questo spinge al consumo di emoglobina che stimola quindi la reazione inversa a quella di formazione della carbossi-emoglobina che gradualmente sparisce lasciando posto alla ossiemoglobina (in pratica spostato l'equilibrio della prima reazione verso destra aggiungendo un reagente (ossigeno) e contemporaneamente spingo l'equilibrio della seconda reazione verso sinistra sottraendo un reagente(emoglobina)).

TRASPORTO DI OSSIGENO MADRE-FETO: per il processo di respirazione il feto dipende, ovviamente, dalla madre dalla quale riceve ossigeno tramite i vasi ombelicali. L'emoglobina fetale è diversa da quella adulta e quindi da quella della madre che di fatto fornisce l'ossigeno al feto:

EMOGLOBINA ADULTA = $\alpha_2\beta_2$

EMOGLOBINA FETALE = $\alpha_2\gamma_2$

si tratta quindi di due molecole che differiscono per la composizione amminoacidica, questa differenza si ripercuote in una forte differenza a livello di affinità per l'ossigeno:



La curva di saturazione della emoglobina fetale è molto più ripida rispetto a quella materna e la sua affinità per l'ossigeno decisamente più elevata; questo è funzionale a garantire il passaggio dell'ossigeno attraverso i villi coriali e quindi nella circolazione fetale.

La motivazione di questa diversità si giustifica per questo motivo: L'EMOGLOBINA FETALE NON CONTIENE DIFOSFOGLICERATO, questo si lega infatti alle subunità beta che nella emoglobina fetale non esistono.

DIFETTI PATOLOGICI DELL'EMOGLOBINA:

1. **ANEMIA FALCIFORME:** si tratta di una patologia che porta alla deformazione della struttura dei globuli rossi circolanti:

1. Hb $\rightarrow$ val-his-leu-thr-pro-GLU-glu-lys

2. Hs → val-his-leu-thr-pro-VAL-glu-lys

Si tratta di una mutazione puntiforme GAG → GTG, la mutazione porta alla inserzione di una valina, amminoacido apolare, al posto di una molecola di acido glutammico; le conseguenze sono:

1. nel momento in cui viene scaricato l'ossigeno si assiste a precipitazione della emoglobina che non mantiene la sua corretta conformazione tridimensionale, questo provoca una reazione di **RIPIEGAMENTO DELL'ERITROCITA SU SE STESSO** e, conseguentemente, l'acquisizione di una forma a **FALCE**.
 2. Il sito EME perde parte della sua funzionalità, la molecola non è quindi più efficiente al 100%.
 3. L'eritrocita perde la capacità di viaggiare agevolmente fra i vasi che a volte addirittura arriva ad occludere.
 4. L'eritrocita perde stabilità strutturale.
2. **ALTERAZIONI SUPERFICIALI**: si tratta di alterazioni che nella maggior parte dei casi sono innocue, la mutazione di un amminoacido superficiale difficilmente compromette la funzionalità dell'emoglobina.
3. **ALTERAZIONI DEL SITO ATTIVO**: si ha mancato trasporto di ossigeno che non irrorerà più i tessuti, si va in **CIANOSI**.
4. **ALTERAZIONI DELLA STRUTTURA TERZIARIA**: modificazioni della struttura delle catene coinvolte nel tetramero, si tratta di mutazioni che interessano tutta la struttura in questione influenzando spesso sulla funzionalità.
5. **ALTERAZIONI DELLA STRUTTURA QUATERNARIA**: si tratta di alterazioni conformazionali più o meno gravi.
L'influenza di questi ultimi fattori dipende sempre dalla casualità e dalla gravità della mutazione.
6. **TALASSEMIE**: si tratta di patologie genetiche che determinano assenza o difetto nella sintesi delle catene della emoglobina. Possono riguardare:
1. assenza del gene: non viene sintetizzata parte della proteina.
 2. Gene corrotto: viene sintetizzata una proteina mancante di una parte.
 3. Sistema di mRNA mal funzionante: la sintesi non avviene, causato da:
 1. errore di trascrizione o di splicing.
 2. Mancanza di RNA per problemi di silencing.
 3. Deformazione dell'RNA per aberrazioni della struttura.

Come posso evidenziare la presenza di un difetto a livello dell'emoglobina nel momento in cui ho un paziente con dei problemi respiratori?

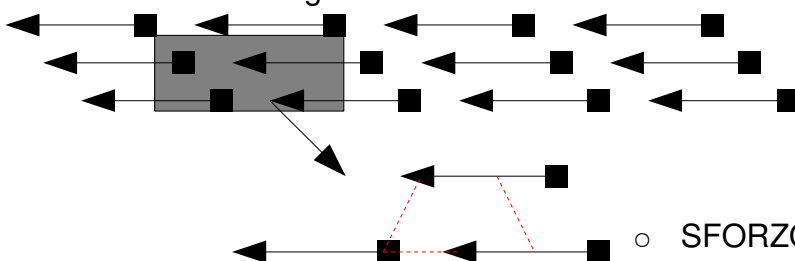
- Centrifugo il sangue e isolo i globuli rossi.
- Pongo in soluzione ipotonica il preparato ottenendo in questo modo una emolisi.
- Sottopongo ad elettroforesi la proteina isolata con una proteina di un paziente sano in forma di confronto.

Se l'emoglobina è deformata vedrò delle differenze nella corsa del gel, in particolare se la proteina è mancante di una parte la sua corsa sul gel sarà più lunga. Per garantire la migrazione della molecola nel gel pongo la soluzione in elettroforesi a pH estremi così da ottenere una completa dissociazione dei residui amminoacidici coinvolti e quindi una

carica netta da sfruttare nella elettroforesi stessa.

IL COLLAGENE: il collagene è la proteina in assoluto più espressa a livello del nostro organismo, si trova in molte parti del nostro corpo e si può presentare in ben 27 forme diverse. I primi 4 tipi di collagene sono sicuramente i più diffusi. In linea generale possiamo dire che esistono dei tipi di connettivo ad alto e a basso peso molecolare, dei tipi di collagene glicoproteici, dei tipi di collagene che vengono espressi unicamente in casi particolari.

- **FUNZIONE:** il collagene è una molecola che deve dare supporto strutturale al nostro corpo.
- **COMPOSIZIONE:** si tratta di una molecola composta generalmente:
 - 35% GLICINA.
 - 11% ALANINA.
 - **IDROSSIPROLINA:** si tratta di un amminoacido modificato dotato di nucleo pirrolico; il collagene è l'unica molecola del nostro corpo che contiene tale amminoacido in quantità notevoli.
 - **IDROSSILISINA:** altro amminoacido idrossilato.
- **STRUTTURA:** si tratta di una molecola costituita di tre catene associate fra loro ma sintetizzate separatamente una dall'altra nella cellula; ha carattere: **ELICOIDALE** ma non è una alfa elica, come sopra sottolineato la presenza della prolina infatti impedisce la formazione dell'alfa elica dando alla molecola una rigidità notevole. A livello strutturale si organizza in questo modo:
 - **UN SINGOLO FILAMENTO** viene sintetizzato nella cellula ed è costituito di 1000amminoacidi (100000uma circa) che si avvolgono in una **ELICA SINISTROSA** con un passo molto più ampio di quello della alfa elica canonica: 8,4Å.
 - **TRE FILAMENTI SINGOLI** si associano a formare la molecola di tropocollagene:
 - elica compatta e destrosa.
 - Inestensibile e incompressibile, il massimo della tensione viene raggiunto già con la formazione dell'elica del singolo filamento.
 - **PIÙ MOLECOLE DI TROPOCOLLAGENE** si avvicinano fra loro e si associano creando di fatto alla vista una struttura a bande: tale struttura è dovuta alla estrema regolarità della associazione molecolare che si forma:



La struttura è una e vera e propria fibra che varia in dimensione in relazione allo sforzo che deve compiere a livello strutturale, in particolare:

- **SFORZO ELEVATO** = fibra voluminosa
 - **SFORZO NON ELEVATO** = fibra ridotta, anche difficile da individuare.
- **SINTESI:** una cellula può sintetizzare diversi tipi di collagene, ma tutti vengono sintetizzati nel medesimo modo:

- sintesi di tre molecole separate grazie alla trascrizione di geni diversi o splicing alternativo del medesimo gene.
- A livello cellulare le tre subunità si riconoscono e intessono particolari relazioni (molto stabili come i ponti solfuro) alle estremità carbossiliche ed amminiche.
- All'estremo della struttura cellulare grazie ad alcuni enzimi di tipo idrolitico i telopeptidi vengono tagliati e si formano le FIBRILLE.

I legami che stabilizzano le interazioni fra le singole catene che costituiscono il tropocollagene sono numerose, in particolare si ricordano due legami che coinvolgono molecole di LISINA: la lisina è un amminoacido a 6 atomi di carbonio con catena laterale basica, il meccanismo che porta alla formazione del legame è il seguente:

- la LISIL OSSIDASI taglia la testa amminica della idrossilisina e trasforma l'ultimo carbonio in un gruppo aldeidico.
- Interviene un fenomeno di **CONDENSAZIONE ALDOLICA** per il quale le teste aldeidica e amminica delle due molecole si fondono insieme a formare una struttura intermedia, si tratta di una base di schiff.

Il numero di questi legami che si forma con la coesione dei peptidi deve essere controllato, in caso contrario:

- **ECCESSO DI LEGAMI**: struttura troppo rigida e eccessivamente fragile rispetto alle torsioni.
- **MANCANZA DI LEGAMI**: struttura troppo poco compatta, inutilizzabile.

Esiste un'altra modalità di legame fra i peptidi che compongono una molecola di collagene che coinvolge residui di lisina: si tratta di un anello piridinico che interessa ben tre residui amminoacidici e comporta una compattazione della struttura molto più elevata. Questo tipo di struttura si trova unicamente nel collagene, la sua specificità è tale che viene ricercato nelle analisi del sangue per determinare lo stato di consunzione dell'osso (osteoporosi).

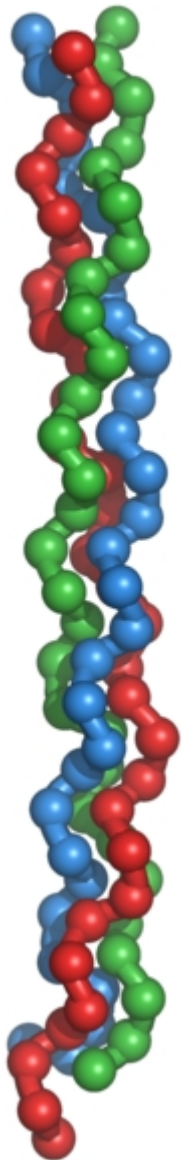
Le strutture in cui sono coinvolte le molecole di collagene sono numerose nel nostro corpo, in particolare:

- ➔ **OSSO**: Le componenti minerali ed organiche in una struttura come quella dell'osso sono fondamentali, il 98% della struttura ossea è costituita da collagene che partecipa principalmente alla costruzione dei **SISTEMI HAVERSIANI O OSTEONI**. La disposizione delle fibre collagene negli osteoni **VARIA IN BASE ALLO STRESS CHE LA STRUTTURA DEVE SOPPORTARE**:

- compressione: andamento delle fibre omogeneo di strato in strato e sempre longitudinale.
- Misto: andamento delle fibre alternato a supportare qualsiasi tipo di stress.
- Torsione: disposizione longitudinale delle fibre.

A FUNZIONE DIVERSA CORRISPONDE STRUTTURA DIVERSA.

- ➔ **CARTILAGINE**: anche in questo caso la struttura del collagene è funzionale a supportare stress specifici, in particolare l'organizzazione è la seguente:
 - **SUPERFICIE**: strutturate a rete, costituiscono una maglia fitta capace di



distribuire lo stress di compressione su tutta la struttura e impedirne il collasso.

- VERSO IL NUCLEO: strutturate ad archi in pratica che riempiono tutta la struttura e la dividono in zone all'interno delle quali si trovano i condroblasti.
- INTORNO ALLE CELLULE: si organizzano in lamelle a protezione delle singole cellule.

Le cellule della cartilagine sono MECCANONSENSIBILI, reagiscono sintetizzando collagene e indirizzando il suo posizionamento in funzione dello stress che ricevono dall'esterno.

PROTEINE IN SOLUZIONE: le proteine solubili poste in soluzione acquosa generalmente si presentano in strutture più o meno globulari a costituire delle soluzioni di tipo colloidale nelle quali le catene laterali degli amminoacidi polarizzate o ionizzate, prendono rapporto con l'ambiente acquoso. In generale in un ambiente come quello sanguigno le caratteristiche saranno le seguenti:

- pH 7,4: quindi la proteina presenterà sicuramente delle cariche negative e positive dovute alla dissociazione o associazione di gruppi rispettivamente carbossilici e amminici, tuttavia nell'ambiente sanguigno non si riscontra la presenza di una carica netta, anzi, l'ambiente risulta, almeno a livello polare, neutro. Una proteina deve presentare in ogni caso una polarità, in caso contrario non potrebbe in alcun modo prendere rapporto con l'ambiente acquoso (polare), di conseguenza la neutralità della soluzione non è dovuta alla saturazione delle cariche delle proteine. Ad una analisi dei composti presenti ci rendiamo conto che **UNA PROTEINA NEL SANGUE È ACCOMPAGNATA DA UN NUMERO DI IONI SUFFICIENTE A CONTROBILANCIARE IL DISLIVELLO DI CARICHE DA ESSA GENERATO.**
- Pressione osmotica: per ottenere un corretto funzionamento delle strutture del nostro corpo è necessario che queste operino in condizioni di pressioni osmotiche controllate, una variazione eccessiva e non controllabile può portare non solo al malfunzionamento, ma anche alla morte della cellula interessata:
 - IPERTONICITÀ dell'ambiente: per controbilanciare l'eccessiva concentrazione presente all'esterno la cellula perde liquido e diviene incapace di svolgere le sue funzioni.
 - IPOTONICITÀ dell'ambiente: la mancanza di solvente all'interno della cellula comporta l'ingresso tramite la membrana del solvente stesso che gonfia la cellula fino a farla scoppiare.

Per far sì che il corpo umano sia in condizioni perfette devo quindi mantenere una pressione osmotica ideale, questa dipende da due fattori sostanzialmente per quanto riguarda il circolo sanguifero:

- la quantità di proteine presenti.
- La carica delle proteine presenti e, quindi, il numero degli ioni che le accompagnano.

Una patologia tipicamente correlata a questo tipo di problema è l'edema: nel momento in cui la concentrazione delle proteine a livello sanguigno diminuisce i fluidi tendono ad uscire dai vasi per fluire nei tessuti ove la concentrazione di soluto è minore (può essere dovuto a problemi di riassorbimento renale con espulsione di

proteine del sangue con le urine).

Come posso valutare la quantità e la qualità delle proteine presenti in un campione di sangue?

DETERMINARE LA QUANTITÀ DI PROTEINE PRESENTI A LIVELLO DEL SANGUE: tre sono i metodi più utilizzati:

- valuto la presenza di azoto nel campione di sangue: so che le proteine sono composte per il 17% di azoto, ricavato il valore in questione posso facilmente risalire alla quantità di proteina presente nel campione stesso (operazione difficile e costosa).
- Reazione biuretica: si tratta di una reazione che sfrutta la presenza di un doppietto elettronico (anche se parzialmente impegnato) presente nell'atomo di azoto a livello di ogni legame peptidico:
 - metto il campione proteico in soluzione alcalina di modo da denaturare le proteine in esso presenti ed esporre tutti i legami peptidici.
 - Metto in soluzione una quantità nota di CuSO_4 , questo dissocia dando SO_4^{--} e Cu^{++} .
 - Cu^{++} tende a reagire con l'atomo di azoto esposto durante la denaturazione delle proteine per affinità forte con il doppietto elettronico.

In questo modo molto semplicemente la soluzione si colora di viola con una intensità direttamente proporzionale alla concentrazione delle proteine presenti in soluzione acquosa. Per dare un valore preciso ho bisogno però di avere una **CURVA DI TARATURA**: una curva che associa ad un livello di colorazione visualizzato con un fotometro un livello di concentrazione assoluto.

La reazione viene così definita perché il medesimo risultato si può ottenere sfruttando il legame che si forma in condizioni particolari fra due molecole di urea (= biurea) che è di fatto identico ad un legame peptidico.

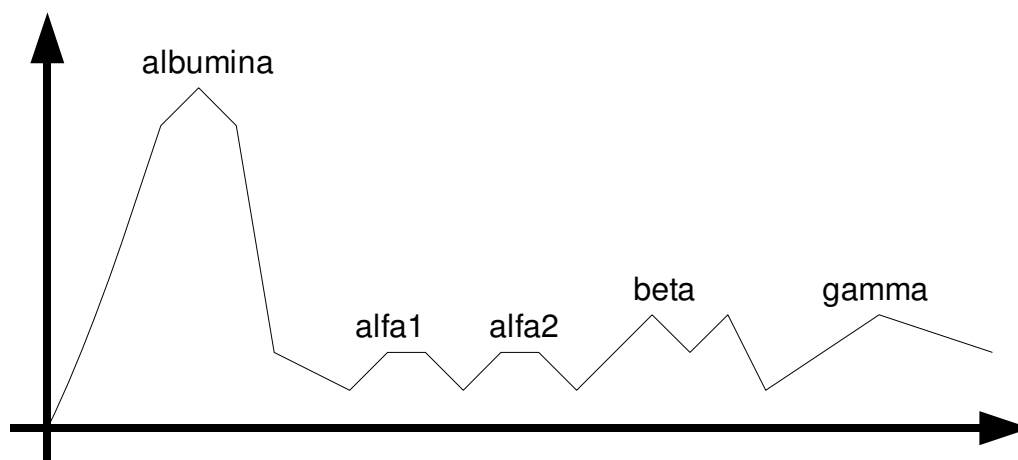
- Le catene laterali degli amminoacidi sono sovente aromatiche, queste catene riflettono i raggi UV che vengono rivolti su di esse; un metodo per valutare la presenza di proteine in un campione di sangue sfrutta proprio il livello di riflessione dei raggi UV del campione.

È importante sottolineare il fatto che test diversi danno risultati diversi e utilizzano quindi parametri diversi, non è quindi possibile fare un confronto fra le diverse tipologie di test sopra descritte.

TIPOLOGIA DELLE PROTEINE PRESENTI A LIVELLO DEL SANGUE: si utilizza generalmente una elettroforesi su gel:

- pongo il campione di sangue su un supporto di cellulosa o di materiale simile.
- pongo supporto in contatto, ma non immerso, in una soluzione alcalina così da provocare la dissociazione di numerosi gruppi delle catene laterali e garantire la presenza di una carica netta a livello di ogni proteina.
- Chiudo il circuito ai poli della soluzione alcalina così da provocare la migrazione delle molecole cariche.
- Attendo che la migrazione faccia effetto quindi inserisco un colorante nella piastra che consenta la visualizzazione delle proteine migrate.

In generale più piccola e carica è la proteina, più migra sul supporto; il risultato generalmente è una cosa di questo tipo:



Ovviamente per determinare la concentrazione di una proteina devo determinare l'area del picco che la descrive rispetto all'area complessiva della curva. Questo grafico può subire delle variazioni sensibili: in caso di infezione si avrà naturalmente un livello di gamma globuline molto elevato.

Quantità percentuali normali sono:

PROTEINA	CONCENTRAZIONE g/dl	CONCENTRAZIONE %
Albumina	3,8 – 5	61%
Alfa 1	0,2 – 0,4	3,2%
Alfa 2	0,6 – 0,9	10%
Beta	0,6 - 1	11,2%
Gamma	0,9 - 1,4	15%

GLI ENZIMI:

Gli enzimi sono generalmente delle proteine o dei peptidi che catalizzano reazioni che avvengono nel nostro organismo.

Possono essere:

- **PROTEINE SEMPLICI:** solo struttura proteica, priva di qualsiasi altra componente
- **PROTEINE COMPLESSE:** struttura mista, possono essere:
 - lipoproteine.
 - Glicoproteine.

Queste strutture richiedono spesso altri composti per funzionare come per esempio:

- ioni inorganici che rendono l'enzima attivo o più funzionale, si tratta molto spesso di ferro, calcio, magnesio e zinco.
- Coenzimi: molecole complesse organiche.

Queste sostanze hanno la capacità di incrementare la compatibilità dell'enzima per il substrato rendendo più veloce la reazione e spesso determinano la natura della reazione stessa.

OLOENZIMA: si tratta della struttura enzimatica completa che consente l'attivo funzionamento del complesso.

APOENZIMA: si tratta della molecola proteica.

GRUPPO PROSTETICO O COENZIMA: si tratta della struttura aggiuntiva, qualunque essa sia, alla parte proteica che consente il funzionamento corretto dell'enzima.

- **GRUPPO PROSTETICO:** si definisce così quando la parte non proteica è strettamente legata all'apoenzima.
- **COENZIMA:** quando il legame con l'apoenzima non è forte.

In generale:

APOENZIMA = SPECIFICITÀ DEL SUBSTRATO.

COENZIMA = SPECIFICITÀ DELLA REAZIONE.

Rispetto ai composti coinvolti nella catalisi inorganica gli enzimi presentano alcune caratteristiche fondamentali come:

- **MAGGIORE VELOCITÀ.**
- **SPECIFICITÀ** estrema, tanto che si parla generalmente di un enzima-una reazione.
- **REGOLABILITÀ** estremamente importante per la funzionalità dei meccanismi metabolici.

Gli enzimi vengono generalmente classificati in grandi categorie a seconda della funzione che svolgono in nelle reazioni a cui partecipano:

CATEGORIA	FUNZIONE
1 - OSSIDOREDUTTASI	Coinvolti in reazioni redox.
2- TRANSFERRASI	Si occupano del trasferimento di gruppi funzionali e non solo, sia fra diverse

	molecole sia all'interno di una stessa molecola.
3 - IDROLASI	Enzimi capaci di stimolare reazioni di idrolisi cioè la rottura di legami con il supporto di una molecola di acqua.
4 - LIASI	Si tratta di enzimi capaci di: ● rompere legami singoli per formare legami doppi. ● Formare ed aggiungere dei gruppi funzionali.
5 - ISOMERASI	Enzimi capaci di trasformare una molecola in un suo isomero.
6 - LIGASI	Consentono la formazione di legami come, mediante condensazione, per esempio C-C C-S C-O C-N.

Ciascun enzima è nel sistema di nomenclatura moderno classificato tramite l'utilizzo di quattro numeri indicanti in primo luogo la classe di appartenenza, quindi altre caratteristiche fino a giungere ad una definizione univoca.

Gli enzimi, tuttavia, possono essere delle molecole molto diverse fra loro, possono essere delle molecole super specifiche come delle molecole estremamente aspecifiche; nell'ambito di enzimi proteolitici ricordiamo:

- SUBTILISINA: veleno dei serpenti che è capace di idrolizzare qualsiasi legame peptidico che incontra.
- TRIPSINA: enzima digestivo che rompe legami peptidici cui partecipino estremità carbossiliche di lisina o arginina
- TROMBINA: si tratta di un enzima utilizzato nel sistema della coagulazione, apre un unico legame: quello fra il carbossile della arginina e il gruppo amminico della glicina. Per il corretto funzionamento della coagulazione l'organismo necessita di una specificità estrema, che non ammetta errori.

Posso quindi passare da una specificità estrema ad una aspecificità estrema.

SITO ATTIVO DI UN ENZIMA: regione specifica della molecola enzimatica che interagisce specificamente con il substrato; questa struttura è generalmente:

1. TRIDIMENSIONALE: formata di più parti fra loro concatenate.
2. CAPACE DI INTERAZIONI DEBOLI: nella stragrande maggioranza dei casi le interazioni fra il substrato e l'enzima avvengono tramite interazioni di tipo debole.
3. ISOLATO A LIVELLO DI CONTATTO CON L'ACQUA: questo avviene quasi sempre a meno che l'acqua non sia un reagente della reazione che l'enzima catalizza.

A livello strutturale riconosciamo alcuni amminoacidi notevoli coinvolti nel funzionamento del sito attivo:

- x DI CONTATTO, si tratta degli amminoacidi che mediano il contatto con il substrato.

- x CATALITICI: si tratta di amminoacidi che catalizzano la reazione attivamente.
- x POSIZIONANTI: amminoacidi che consentono il posizionamento corretto del sito attivo nella molecola.

Le possibilità di interazione fra le molecole dell'enzima e del substrato sono due fondamentalmente:

MODELLO CHIAVE-SERRATURA: le due strutture si incastrano perfettamente in una complementarità perfetta che implica, ovviamente, una specificità estrema.

ADATTAMENTO INDOTTO: si tratta di un processo che procede tramite due fasi:

1. contatto fra le due molecole, si instaura una relazione debole fra il sito attivo e la molecola di substrato che non è sufficiente a catalizzare la reazione.
2. Deformazione della molecola enzimatica che muta la sua struttura per permettere una adesione perfetta tra enzima e substrato.

EFFETTO DELL'ENZIMA: si tratta di un effetto identico a quello di un qualsiasi catalizzatore inorganico, ma con delle differenze: risulta efficace unicamente per reazioni organiche e il complesso attivato che genera, detto **COMPLESSO ENZIMA-SUBSTRATO**, è visibile chiaramente. L'effetto complessivo dell'enzima è di:

- abbassare l'energia di attivazione di una reazione.
- Velocizzare, quindi, la reazione:
 - a completamento: velocizza la trasformazione di reagenti in prodotti.
 - All'equilibrio: velocizza il raggiungimento della condizione di equilibrio.
- Non muta la condizione di equilibrio che si instaura con la reazione, mai, infatti, potrà modificare la K_{eq} .

Non esistono reazioni nel nostro organismo che non sfruttino la presenza di un enzima, questi sono tanto importanti che la concentrazione percentuale di un enzima può essere indice della presenza di dati tipi di patologie.

CINETICA DI UN ENZIMA: si tratta della velocità alla quale:

- diminuisce la concentrazione di uno dei reagenti.
- Aumenta la concentrazione di uno dei prodotti.

In generale: $E + S \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons P + E$

la velocità della reazione dipende ovviamente dallo stadio più lento dei due che generalmente è il secondo.

V_{max} di un enzima = velocità massima di trasformazione che l'enzima raggiunge, questa particolare situazione si realizza nel momento in cui **TUTTI I SITI ATTIVI DI UN ENZIMA VENGONO SATURATI**.

N.B.: per determinare la velocità di un enzima data una quantità di substrato devo misurare empiricamente la quantità di prodotto formato per unità di tempo (o la quantità di reagente consumato per unità di tempo) prima che la concentrazione del substrato muti sensibilmente per opera dell'enzima stesso. A livello empirico:

[E] fissa.

[S] variabile, comincio ad inserirlo in soluzione da basse quantità:

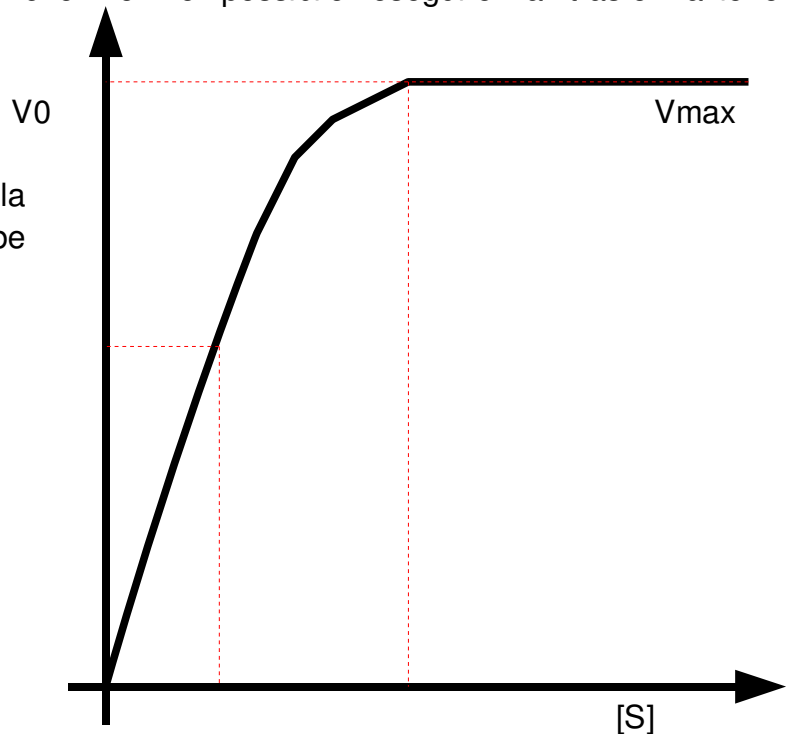
1. quantità basse: la velocità sarà piuttosto scarsa vista la quantità di substrato presente.
2. Quantità medie: la velocità della reazione aumenterà sensibilmente fino ad un

livello ottimale che viene raggiunto a concentrazioni anche piuttosto elevate.

3. Quantità elevate: assistiamo ad un fenomeno di questo tipo: la velocità della reazione non aumenta, anzi si stabilizza ad un livello difficilmente variabile e riconducibile ad un modello asintotico (tensione ad un livello limite che non viene mai raggiunto).

Tale fenomeno si può spiegare in questo modo: l'enzima ha, ad una data concentrazione, un dato livello di siti attivi disponibili, una volta saturati questi siti attivi, la velocità non può aumentare per il semplice fatto che non è possibile eseguire la trasformazione (saturazione da substrato).

Un grafico per un enzima tipo della cinetica in questione potrebbe essere questo:



FATTORI CHE POSSONO INFLUIRE SULLA VELOCITÀ DI UNA REAZIONE influenzando sia sulla qualità dell'enzima sia sulla REATTIVITÀ DEL SUBSTRATO, sono essenzialmente due:

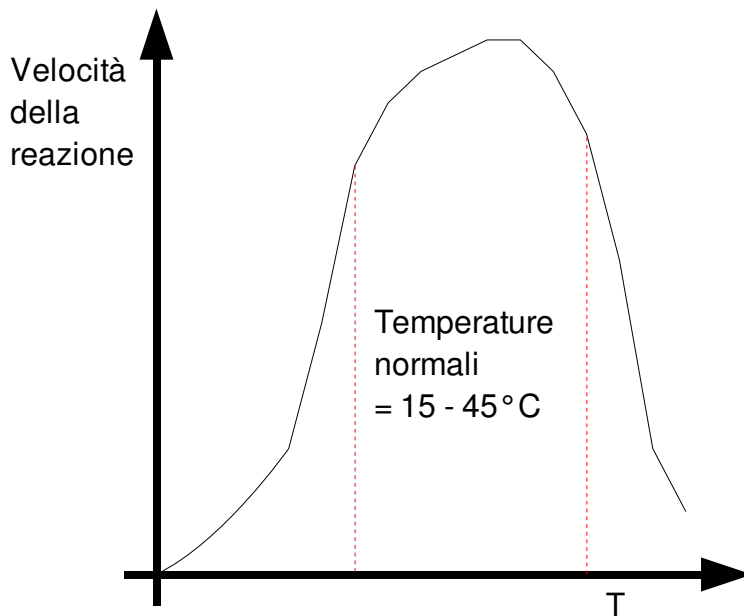
1. pH: il pH influisce a livello di una reazione enzimatica in due sensi:
 1. pH estremi ionizzano la proteina enzimatica provocando dissociazione o associazione di protoni ai gruppi funzionali, cambiamenti della struttura ionica di una proteina influiscono direttamente sulle sue strutture terziaria e quaternaria (ove presente) andando quindi ad intaccarne la funzionalità.
Per quanto riguarda l'enzima, quindi, avremo un valore di pH ideale al quale opererà al pieno delle sue potenzialità, è necessario in ogni caso prendere in considerazione due fattori:
 1. Il pH ideale non è sempre il pH fisiologico (7,4) anzi per enzimi diversi può subire variazioni consistenti:
 1. fosfatasi alcalina lavora a pH 8-9 in vivo e anche 10 in vitro.
 2. Enzimi lisosomiali lavorano invece a pH 5.
 2. A pH non idonei anche la molecola di substrato non si trova in condizioni ottimali per interagire con l'enzima, questo può avvenire per svariati motivi sia ionici sia

di sensibilità al pH.

È importante sottolineare che uno stesso enzima messo in contatto con substrati diversi avrà un pH di lavoro diverso.

2. TEMPERATURA: la temperatura è un fattore che muta molto la velocità di una reazione in due modi sostanzialmente:

1. una temperatura più elevata provocherà inevitabilmente un incremento della energia cinetica delle molecole e aumenterà quindi la quantità di collisioni efficaci fra le molecole.
2. Ogni enzima, essendo una proteina, ha un livello di temperatura ideale di lavoro, in particolare per un enzima-tipo possiamo immaginare una curva di questo tipo:



BASSE TEMPERATURE: il funzionamento dell'enzima è compromesso per due motivi: in primo luogo le collisioni sono troppo poche, inoltre la conformazione dell'enzima è mutata anche se minimamente.

TEMPERATURE ALTE: il funzionamento è compromesso dalla denaturazione della proteina che non è più in grado di mantenere un sito attivo funzionante.

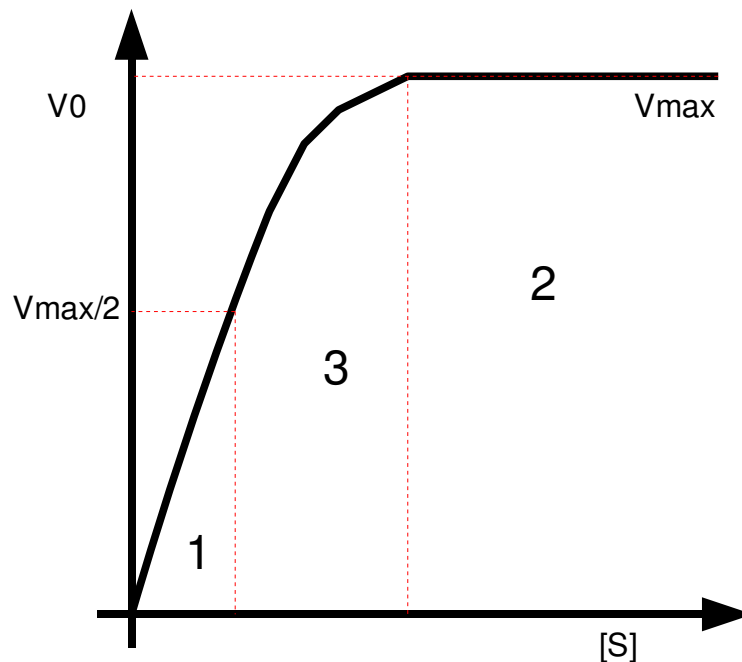
TEMPERATURE NORMALI: l'enzima lavora in modo normale sia grazie alla corretta conformazione della molecola, sia per il numero delle collisioni.

Naturalmente ogni enzima è caratterizzato da una temperatura ideale di lavoro alla quale la velocità è massima; questa è sì legata alla natura dell'enzima, ma anche alla natura e alla conformazione del substrato.

LA CINETICA DELL'ENZIMA, raffigurabile in una curva, è descrivibile matematicamente, almeno per degli enzimi che possiamo definire normali, tramite l'equazione di MICHAELIS MENTEN:

$$V = V_{\max} * [S] / K_m + [S]$$

dove K_m è la costante di Michaelis: si tratta della costante che emerge da TUTTI GLI EQUILIBRI DI REAZIONE COINVOLTI NEL PROCESSO DI TRASFORMAZIONE AL QUALE L'ENZIMA PARTECIPA.



Possiamo dividere la curva in tre grandi aree:

1. caso in cui $[S] \ll K_m$: in questo caso l'equazione si può ridurre in questo modo:
 $V = V_{max} * [S] / K_m$
 In quanto il valore di $[S]$ è trascurabile.
 In una situazione come questa la VELOCITÀ DELLA REAZIONE È DIRETTAMENTE PROPORZIONALE ALLA CONCENTRAZIONE DELL'ENZIMA:
 1. V_{max} = costante perché la concentrazione dell'enzima è costante.
 2. K_m = costante per definizione.
2. Caso in cui $[S] \gg K_m$: in questo caso la velocità della reazione coincide con la velocità massima, quindi la VELOCITÀ DELLA REAZIONE È COMPLETAMENTE SVINCOLATA DALLA CONCENTRAZIONE DEL SUBSTRATO; la equazione risulta infatti riducibile in questo modo:
 $V = V_{max} * S / S = V_{max}$.
3. Caso in cui $[S] = K_m$:
 $V = V_{max} * [S] / [S] + [S] \rightarrow V = V_{max} / 2$
 QUINDI LA K_m COINCIDE ESATTAMENTE CON LA CONCENTRAZIONE DEL SUBSTRATO ALLA QUALE LA VELOCITÀ DELLA REAZIONE È LA METÀ DELLA VELOCITÀ MASSIMA.

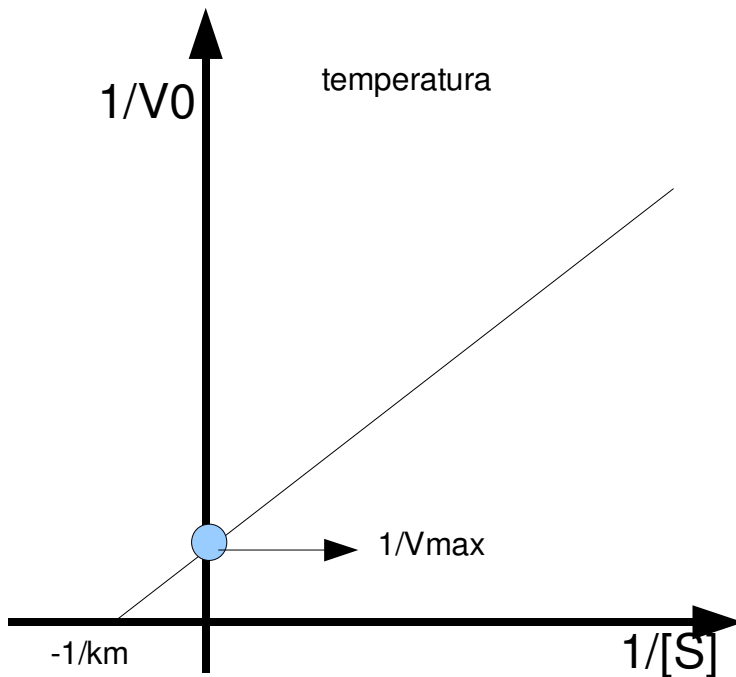
Come posso apprezzare K_m ? Per fare una cosa del genere posso utilizzare due metodi: o misuro la velocità massima e la dimezzo (devo però sempre considerare che la V_{max} è un valore asintotico, mai raggiunto di fatto) oppure trasformo l'equazione di Michaelis-Menten nell'equazione di LINEWEAVER-BURK (metodo dei doppi reciproci):

$$1/V_0 = [S] + K_m / V_{max} * [S]$$

$$1/V_0 = ([S]/V_{max} * [S]) + (K_m/V_{max} * [S])$$

$$1/V_0 = K_m / V_{max} * [S] + 1/V_{max}$$

si tratta di una equazione del tipo $y = ax + b$, quindi RAFFIGURABILE IN UNA RETTA COME QUESTA:



DOVE:

pendenza = K_m/V_{max}

intercetta sull'asse x = $1/V_{max}$

intercetta sulla asse y = $-1/k_m$

SARÀ QUINDI MOLTO PIÙ FACILE CALCOLARE K_m E V_{max} CHE CORRISPONDONO AD UN PUNTO.

Un altro fattore che può influenzare la funzionalità di un enzima è il livello di salinità di una soluzione, in particolare ricordiamo tre condizioni possibili:

- **INTERAZIONI POLARI** ioniche che influiscono sulla conformazione dell'enzima stesso, in particolare:
 - struttura secondaria: possono influire sui legami ad idrogeno.
 - Struttura terziaria: interferiscono con le condizioni ioniche presenti.
 - Struttura quaternaria (quando presente): interferiscono con le condizioni ioniche presenti.
- **SALI DI METALLI PESANTI** possono anche provocare la precipitazione dell'enzima stesso rendendolo inefficace (in particolare possono interagire con i gruppi tiolici presenti).
- **MUTAZIONI DEI RAPPORTI SOLUTO/SOLVENTE**: alcuni sali particolarmente idratibili, come per esempio $NH_4^+Cl^-$ (cloruro di ammonio), possono sottrarre acqua alla soluzione provocando una alterazione dei rapporti fra soluto e solvente e conseguente precipitazione del soluto (fenomeno alla base del salting out).

Una proteina reagisce quindi in modo diverso a diverse condizioni di tonicità, in particolare possiamo dire che in SITUAZIONI NORMALI LE PROTEINE SI AGGREGANO NEUTRALIZZANDO LE PROPRIE CARICHE DI SUPERFICIE E PRECIPITANDO. Per quanto riguarda fenomeni di alterazione della concentrazione salina di una soluzione in rapporto alla solubilità delle proteine stesse si parla di:

- SAULTING IN quando una aggiunta di sale aumenta la solubilità della proteina, in particolare possiamo dire che la presenza di ioni impedisce la interazione fra le cariche intramolecolari della proteina bloccandone la aggregazione e la precipitazione.
- SAULTING OUT quando una aggiunta di sale diminuisce invece la solubilità della proteina, in particolare possiamo dire che tale effetto si genera in presenza di una COMPETIZIONE fra il SALE e le altre componenti IN SOLUZIONE per l'acqua di solvatazione, questa viene strappata alla proteina portando alla sua precipitazione.

Naturalmente riportando i livelli di tonicità alla normalità l'enzima proteico recupera la sua funzionalità.

OPERATIVITÀ DI UN ENZIMA RISPETTO ALLA CONCENTRAZIONE DEL SUO SUBSTRATO: come visto in precedenza la concentrazione del substrato è strettamente legata alla velocità della reazione enzimatica, possiamo quindi in generale sottolineare che:

1. ENZIMI COINVOLTI IN PROCESSI MOLTO GRANDI come per esempio la fosforilazione di zuccheri a livello cellulare, lavoreranno con concentrazioni di substrato estremamente elevate, avranno quindi delle K_m MOLTO GRANDI.
2. ENZIMI COINVOLTI NELLA REGOLAZIONE DI PROCESSI CELLULARI lavoreranno con concentrazioni minime di substrato e soprattutto dovranno essere sensibili a concentrazioni di substrato MINIME, avranno quindi delle K_m ESTREMAMENTE BASSE.

APPLICAZIONI PRATICHE:

VALUTARE LA CONCENTRAZIONE DI SUBSTRATO IN UNA SOLUZIONE: posso valutare la presenza di substrato in una soluzione sfruttando le caratteristiche cinetiche dell'enzima interessato; per prima cosa devo costruire una curva di taratura:

- devo conoscere la concentrazione dell'enzima che pongo in soluzione, in particolare questo è possibile in due modi:
 - depuro l'enzima e misuro la quantità.
 - Prelevo una quantità di soluzione biologica che so contenere una data quantità dell'enzima, facendo attenzione a quelle che potrebbero essere le eventuali relazioni non previste fra substrato e sostanze presenti nella soluzione oltre all'enzima (eventualità molto rara).
- Preparo una quantità di provette con concentrazione diversa nota di substrato.
- Unisco le provette con una quantità fissa di enzima e quindi valuto la velocità della reazione per ciascun campione:
 - DIRETTAMENTE: utilizzando un colorante sensibile ad uno dei prodotti.
 - INDIRETTAMENTE: utilizzando un colorante sensibile ad uno dei reagenti.

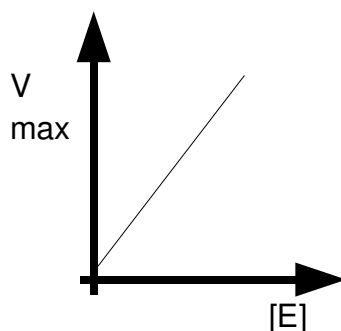
Ora posso costruire la curva; fatto questo il procedimento è molto semplice: metto in soluzione con la quantità di substrato ignota la quantità fissa di enzima prima utilizzata e valuto la velocità della reazione, questa sarà quindi correlata alla concentrazione del substrato dalla relazione che la curva precedentemente creata raffigura.

VALUTARE LA CONCENTRAZIONE DELL'ENZIMA IN UNA SOLUZIONE: per le caratteristiche tipiche di ciascun enzima (presenza di un numero limitato di siti attivi)

appare chiaro che all'aumentare della quantità di enzima aumenta anche la quantità di siti attivi presenti, e, di conseguenza, la velocità della reazione. Posso anche in questo caso sfruttare le caratteristiche cinetiche dell'enzima per valutare la sua concentrazione: misuro la diversa velocità di una reazione enzimatica a diverse concentrazioni di enzima mantenendo la concentrazione del substrato costante, mi rendo conto che ESISTE UNA RELAZIONE DIRETTA FRA LE CONCENTRAZIONI DI ENZIMA E LA VELOCITÀ MASSIMA RAGGIUNGIBILE IN UNA REAZIONE ENZIMATICA:

la velocità massima quindi è chiaramente correlata con la concentrazione dell'enzima, anzi possiamo dire che la velocità massima è una CARATTERISTICA DELL'ENZIMA (e varia con la sua concentrazione).

Nota questa relazione possiamo creare una curva di taratura per un qualsiasi enzima; fatto questo procedimento, valutarne la concentrazione è facile: è sufficiente inserire nella provetta



contenente la quantità che si vuole valutare di enzima e una quantità molto molto elevata di substrato ($100 \cdot K_m$), tale da essere certi della completa saturazione dell'enzima in questione; a questo punto è sufficiente misurare la velocità della reazione (che coincide con la velocità massima della reazione stessa), e quindi inserirla nella curva di taratura per determinare la concentrazione dell'enzima.

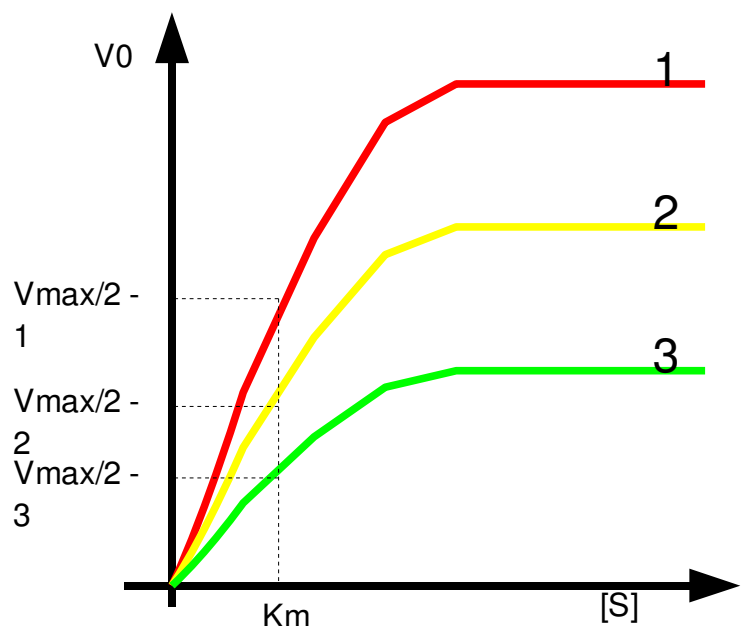
N.B: K_m non varia, al contrario di come potrebbe sembrare a prima vista, con la concentrazione dell'enzima, ma resta sempre costante: a concentrazioni di enzima diverse la velocità aumenta, ma la concentrazione di substrato alla quale la velocità della reazione è $V_{max}/2$ non cambia mai:

Questa curva raffigura le diverse velocità ottenute con un enzima in concentrazioni diverse a parità di tutte le altre condizioni, come si può

vedere non cambia mai K_m , a cambiare è la pendenza della curva nella sua parte iniziale.

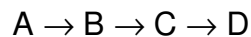
Quindi possiamo prendere in esame alcuni casi:

DUE ENZIMI CON MEDESIMA K_m : i due enzimi presentano carattere completamente diverso e praticamente in nessun caso avranno una cinetica coincidente, semplicemente al livello di concentrazione di K_m le velocità delle reazioni che i due enzimi svolgono sarà la metà delle rispettive velocità massime, ma la velocità di lavoro dei due enzimi sarà quasi certamente diversa.



DUE ENZIMI CON Km DIVERSA: i due enzimi a parità di concentrazione di substrati (che sono diversi) lavoreranno in modo molto diverso.

ENZIMI ALLOSTERICI: una sequenza di reazioni provoca la trasformazione di alcuni reagenti in prodotti, per ogni reazione coinvolta nella trasformazione dobbiamo ammettere l'esistenza di UN ENZIMA o di un complesso enzimatico polifunzionale capace di catalizzare varie reazioni della medesima trasformazione metabolica. Quando abbiamo a che fare con reazioni concatenate fra loro in modo da essere dipendenti una dall'altra possiamo parlare di VIA METABOLICA e sovente di ENZIMI ALLOSTERICI. Gli enzimi allosterici sono enzimi caratterizzati dalla presenza di un meccanismo di feedback che di fatto consente un controllo automatico della reazione in questione. Per una via metabolica del tipo:

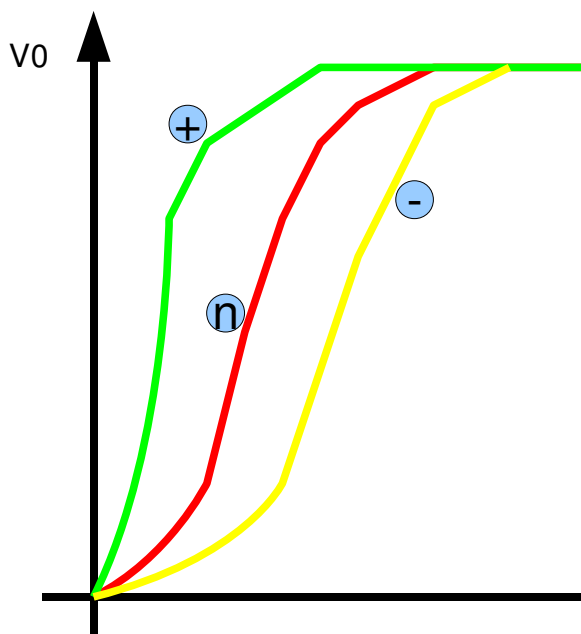


ogni trasformazione chimica richiede la presenza di un enzima diverso, il meccanismo di feedback funziona in questo modo: nel momento in cui viene prodotta una quantità sensibile di D (prodotto finale della via metabolica) questo va ad influire sulla operatività dell'enzima che trasforma A in B (reagente e prodotto iniziali della via metabolica) così da inibire la produzione quando non più necessaria. In pratica:

- $[D] < \text{NECESSARIO} \rightarrow$ la via metabolica si avvia e procede regolarmente.
- $[D] > \text{NECESSARIO} \rightarrow$ la via metabolica si arresta.

ATTRAVERSO LA CONCENTRAZIONE DEL PRODOTTO FINALE LA VIA METABOLICA SI AUTOREGOLA.

Si distinguono quindi degli effettori allosterici positivi e negativi che rispettivamente aumentano o diminuiscono l'attività dell'enzima. A livello della cinetica enzimatica l'azione di un attivatore o un repressore di un enzima allosterico si può raffigurare in questo modo:



NATURALMENTE UN ENZIMA DI NATURA ALLOSTERICA NON HA UNA CINETICA DESCRIVIBILE CON LE LEGGI DI MICHAELIS MENTEN, ma descrive nello spazio una sigmoide che varia in base alla presenza di fattori stimolanti o inibitori; quindi:

- in presenza di fattori diversi cambia anche la costante, che non è di Michaelis Menten, ma che semplicemente è il valore di $[S]$ al quale $V_0 = V_{\max}/2$.
- Posso avere dei fattori di natura:
 - inibitoria con spostamento della curva verso destra.
 - Stimolatoria con spostamento della curva verso sinistra.

La struttura sigmoide della curva, molto simile a quella dell'emoglobina è data anche dal fatto che questi enzimi sono capaci di dare EFFETTO COOPERATIVO.

LA SPECIFICITÀ DEGLI ENZIMI: gli enzimi sono delle molecole estremamente specifiche, in particolare parliamo di:

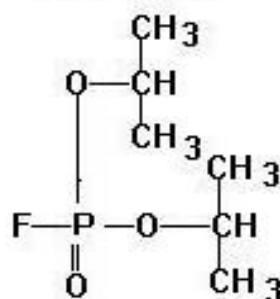
- **SPECIFICITÀ** che può essere:
 - assoluta.
 - Relativa.
- **STEREO SPECIFICITÀ:** riconoscono uno solo dei due stereoisomeri e agiscono unicamente su di esso.
- **SPECIFICITÀ GEOMETRICA:** riconoscono solo uno dei due isomeri geometrici.

Esistono inoltre degli enzimi detti **ISOENZIMI**, si tratta di enzimi esistenti in forme molecolari diverse ma catalizzanti la medesima reazione, generalmente sono presenti ed attivi in luoghi diversi del corpo.

INIBITORI DI ENZIMI: si tratta di sostanze capaci di bloccare un enzima inibendo la sua funzione, in particolare possiamo parlare di **INIBITORI REVERSIBILI O IRREVERSIBILI:**

- **INIBITORI IRREVERSIBILI:** possono portare al blocco totale e non reversibile della attività enzimatica, per fare tutto questo **DEVONO POSSEDERE LA CAPACITÀ DI CREARE DEI LEGAMI FORTI o COVALENTI** con il sito attivo dell'enzima; si ricordano:
 - **ACETILCOLINESTERASI:** enzima capace di idrolizzare l'acetilcolina, neurotrasmettitore estremamente diffuso, in acetile e colina, e quindi di renderla riutilizzabile; la struttura attiva dell'acetilcolina presenta una serina, amminoacido dotato di catena con residuo alcolico, che di fatto consente la reazione con il substrato. L'inibitore in questo caso è il **DIISOPROPIL FLUORURO FOSFATO** (aggressivo chimico utilizzato nella prima guerra mondiale per la sua capacità di bloccare l'azione neuro-muscolare e quindi respiratoria): l'estremità recante l'alogeno reagisce con il gruppo OH della serina della acetilcolinesterasi provocando uscita di acido fluoridrico e la formazione di un legame fosfoestereo che blocca l'attività enzimatica:

DFP (DIISOPROPIL-FLUORO-FOSFATO):



A lungo termine il legame covalente, essendo un legame di natura esterea, potrebbe idrolizzare, ma il processo sarebbe comunque troppo lento per impedire la morte della persona soggetta ad esposizione.

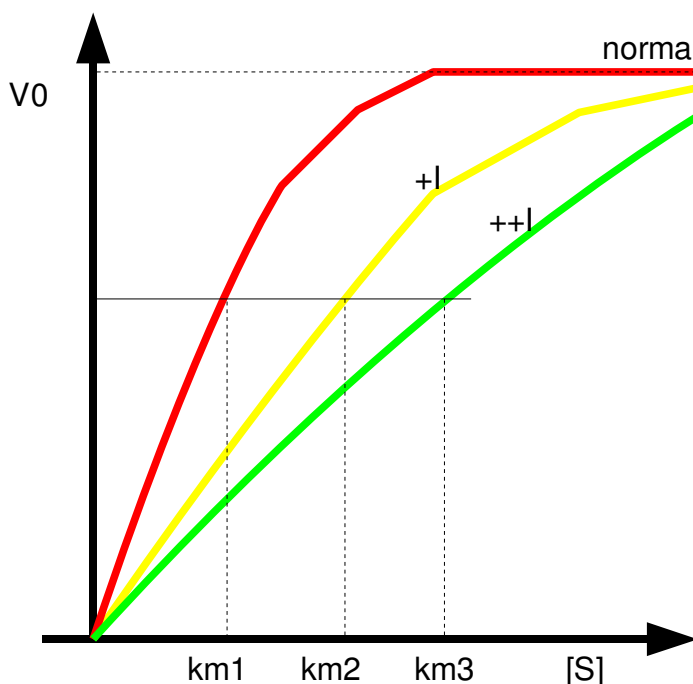
- **PROTEASI:** le proteasi sono degli enzimi caratterizzati dalla presenza a livello del sito attivo di un residuo di cisteina, il loro meccanismo di inattivazione sfrutta proprio questa caratteristica comune; l'inibitore in questo caso è la IODOACETAMMIDE che, di nuovo grazie alla estremità alogenata, provoca la nascita di un tioetere con uscita di acido iodidrico.

Questi meccanismi di natura inibitoria sono estremamente importanti a livello di protezione da forme tumorali che sono capaci di aggredire la struttura proteica della matrice extracellulare: riuscire ad inibire l'operato delle proteasi in vitro sicuramente aiuterebbe nella terapia di contenimento.

Questi inibitori possono essere utilizzati, in virtù della loro selettività, per determinare la presenza di un enzima in soluzione.

- **INIBITORI REVERSIBILI:** molto frequenti in vivo ed estremamente utilizzati per la loro sensibilità, sono capaci di inibire la reazione di loro competenza e di riattivarla in modo estremamente rapido. Si riconoscono inibitori reversibili di due tipi diversi:
 - × **COMPETITIVI:** si tratta di inibitori che si legano a livello del sito attivo dell'enzima occupandolo attivamente e impedendo la reazione con il substrato; perché un inibitore sia in grado di dare una reazione di questo tipo deve essere chimicamente molto simile al substrato, abbastanza da essere compatibile con il sito attivo, in questo caso si instaureranno a livello chimico due equilibri:
 - $E + S \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons E + P$ = una normale reazione enzimatica.
 - $E + I \rightleftharpoons EI$ = non succede nulla, l'enzima viene bloccato e non opera più.

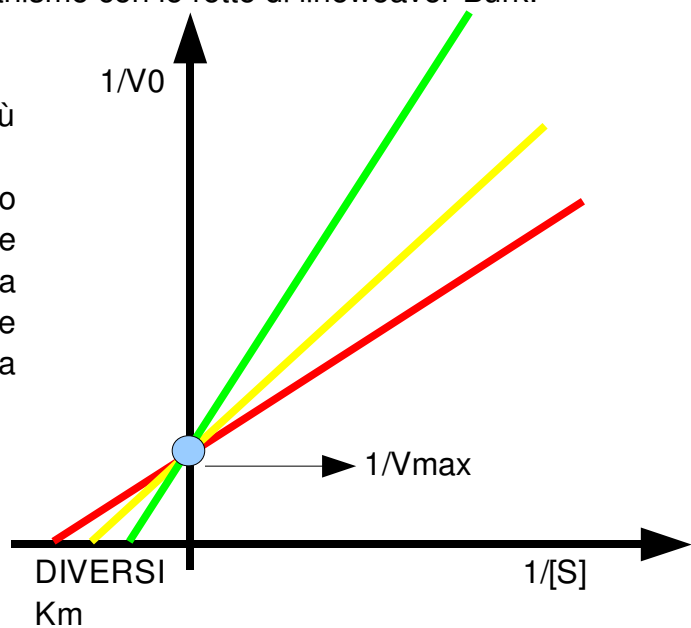
Posso riportare alla normalità la soluzione agendo a livello della legge delle azioni di massa: incremento la concentrazione di S che va a consumare E che quindi spinge verso sinistra il secondo equilibrio.



In una situazione come questa chiaramente l'inibitore, inserendosi nell'equilibrio, ne muta le condizioni → MUTA LA K_m ; questa differenza è apprezzabile a livello cinetico: chiaramente la presenza dell'inibitore si percepisce nella diversa velocità a parità di concentrazione, ma non solo, di fatto la presenza dell'inibitore influenza la K_m che in sua presenza aumenta: è necessaria una concentrazione più elevata di substrato per raggiungere $V_{max}/2$ che resta, invece, sempre uguale, viene semplicemente raggiunta con maggiori difficoltà.

Possiamo apprezzare il medesimo meccanismo con le rette di lineweaver-Burk:

Da questo grafico emerge ancor più chiaramente la variazione di K_m : più grande sarà la K_m , meno negativo risulterà essere $-1/K_m$ e maggiore sarà la pendenza della retta; allo stesso modo emerge molto bene il fatto che la V_{max} sia sempre la medesima.



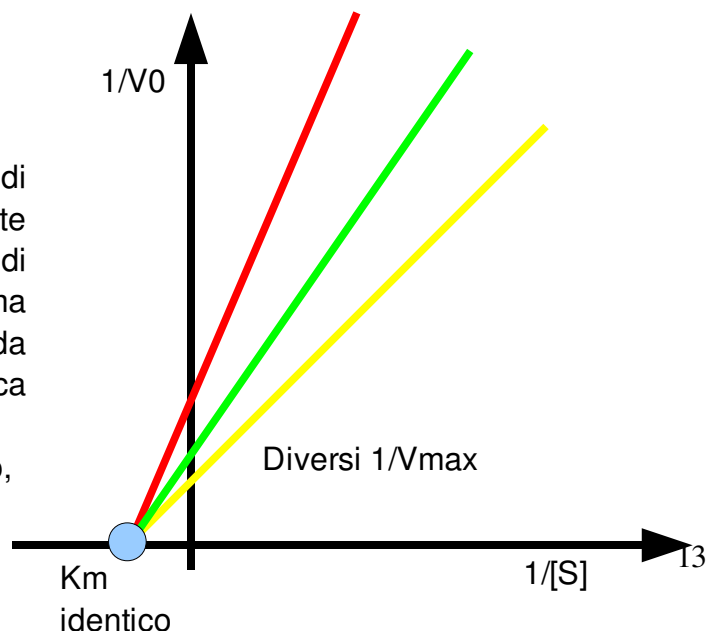
Altro possibile metodo per eliminare l'inibitore è una semplice diluizione dell'ambiente con conseguente diminuzione di concentrazione.

Esempio tipico di inibitore competitivo si ritrova nella reazione che coinvolge la SUCCINICO DEIDROGENASI: tale enzima è capace di trasformare il succinato in fumarato, e riconosce la molecola per la presenza dei due carbossili in essa presenti; due inibitori tipici di questo tipo di reazione sono MALONATO E ACIDO OSSALACETICO: possiedono infatti entrambi una struttura estremamente simile a quella del succinato, ma non subiscono alcuna alterazione una volta entrati in contatto con l'enzima.

x NON COMPETITIVI: si tratta di inibitori che non occupano il sito attivo occupato dal substrato, ma un sito diverso e proprio, non influiscono quindi sulla situazione di equilibrio che si crea, ma impediscono completamente l'azione dell'enzima. L'azione di inibitori di questo tipo si estrinseca tramite il legame con l'enzima e la conseguente trasformazione della sua struttura che diviene incompatibile con il substrato; sono quindi possibili due casi diversi:

- $E + I \rightleftharpoons EI$
- $ES + I \rightleftharpoons ESI$

L'azione di questo tipo di inibitori di fatto elimina parte dell'enzima presente, va quindi a mutare la velocità massima della reazione (che dipende da $[E]$) e quindi la cinetica dell'enzima; non tocca in alcun modo la situazione di equilibrio,



non muta quindi la K_m :

REGOLAZIONE DELL'ATTIVITÀ ENZIMATICA: la regolazione fisiologica dell'attività enzimatica sfrutta meccanismi di vario tipo:

1. **SINTESI DI ENZIMI IN FORMA DI PRECURSORI:** le cellule producono un precursore dell'enzima caratterizzato dalla presenza di una catena peptidica più lunga del necessario, e quindi inattivo, detto ZIMOGENO, che viene attivato nel momento giusto tramite l'azione di una peptidasi. Un enzima di natura proteolitica, per esempio come la TRIPSINA, deve agire unicamente nel suo ambiente funzionale (intestino tenue), in caso contrario devasterebbe con la sua azione la cellula e l'ambiente circostante; per ovviare a questo problema viene sintetizzato il TRIPSINOGENO che viene attivato a tripsina unicamente nel suo luogo d'azione.
2. **MODIFICAZIONI COVALENTI:** con aggiunta di gruppi funzionali al precursore o, molto di frequente, fosforilazione di catene laterali di amminoacidi (serina, tirosina e treonina). Un esempio tipico è quello dei meccanismi di catabolizzazione e anabolizzazione del glicogeno, un processo molto fine ed indispensabile al nostro corpo per ricavare energia, che viene regolato interamente tramite la fosforilazione di enzimi. In generale per quanto concerne attività metaboliche e cataboliche:
 1. **CATABOLISMO:** attivato da fosforilazione.
 2. **ANABOLISMO:** disattivato da fosforilazione.
3. **MODIFICAZIONI ALLOSTERICHE:** come già visto gli enzimi allosterici, grazie alla presenza di siti sensibili ad elementi prodotti dalla via metabolica nella quale lavorano, possono autoregolare la loro attività; un esempio tipico si ritrova nei meccanismi di respirazione cellulare:
$$\text{GLUCOSIO} \rightarrow (\text{glicolisi}) \rightarrow \text{ACETILCoA} \rightarrow (\text{Krebs}) \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{ATP}$$
dove la produzione di ATP va ad inibire i processi relativi al ciclo di Krebs e alla glicolisi.
4. **CONTROLLO ORMONALE:** si tratta di casi molto particolari nei quali l'interazione di un ormone influisce sulla funzionalità di un enzima non inibendola bensì mutandola: l'enzima, esposto a quel dato ormone, catalizza una reazione diversa. Esempio calzante è sicuramente quello della LATTOSO SINTETASI: normalmente l'enzima C esiste indipendentemente dall'ormone M e opera catalizzando questa reazione:
$$\text{GALATTOSIO} + \text{PROTEINE} \rightarrow \text{GLICOPROTEINE}$$
Al momento del parto il corpo femminile produce l'ormone M, questo reagisce legandosi all'enzima C e creando il complesso CM, questo catalizza la reazione:
$$\text{GALATTOSIO} + \text{GLUCOSIO} \rightarrow \text{LATTOSIO}$$
funzionale alla produzione di latte per il neonato.
5. **PROTEINE REGOLATRICI:** sono proteine che reagiscono a stimoli di natura ionica o simili e possono inibire di conseguenza o incrementare l'operatività di un enzima o direttamente o tramite vie che sovente includono l'azione di chinasi. Esempio tipico è sicuramente quello della calmodulina.

I COENZIMI: in una reazione enzimatica un coenzima svolge la funzione essenziale di determinare la SPECIFICITÀ DELL'AZIONE cioè che tipo di azione viene eseguita dall'enzima (e quindi subita dal substrato). Quasi sempre questi composti sono derivati di

VITAMINE: sostanze organiche complesse che vengono assimilate dall'esterno in quanto non sintetizzabili a livello cellulare. Il fabbisogno giornaliero per questi composti si aggira nell'ordine di μg o mg ; una avitaminosi specifica provoca la mancanza di un dato tipo di coenzima e quindi il blocco di una via metabolica → una malattia metabolica è spesso dovuta ad avitaminosi.

Le vitamine sono precursori dei coenzimi necessitano quindi, per divenire operative, di alcune modificazioni a livello chimico; in particolare le vitamine e i coenzimi da esse derivati sono classificabili in IDROSOLUBILI e LIPOSOLUBILI:

- **COENZIMI IDROSOLUBILI:** derivato di vitamine idrosolubili e particolarmente presenti e utilizzati nel nostro corpo:

VITAMINA	COENZIMA	REAZIONE
TIAMINA o B1	tiaminapirofosfato	DECARBOSSILAZIONE: eliminazione di un carbossile
RIBOFLAVINA B2	FMN e FAD	REDOX
ACIDO NICOTINICO PP o B3	NAD ⁺ e NADP ⁺	REDOX
ACIDO PANTOTENICO B5	CoA	TRASFERIMENTO DI ACILI: si occupa di reazioni di spostamento di acili da macromolecola a macromolecola.
PIRIDOSSINA o gruppo vitaminico B6	Piridossina fosfato	TRASFERIMENTO DI GRUPPI AMMINICI in particolare ad un accettore comune (eliminazione di azoto quindi di rischio di lisi e di intossicazione)
BIOTINA B8	biotina	CARBOSSILAZIONE DI SUBSTRATI.
ACIDO FOLICO M	tetraidrofolato	TRASFERIMENTO DI GRUPPI MONOCARBONIOSI.
ACIDO ASCORBICO C	ascorbato	IDROSSILAZIONE DI SUBSTRATI in particolare amminoacidi essenziali per la sintesi del collagene.

- **COENZIMI LIPOSOLUBILI:** derivati di vitamine liposolubili:

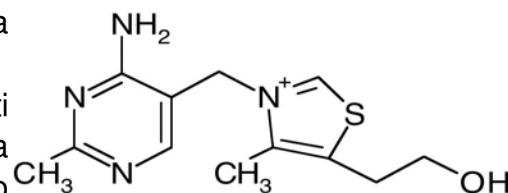
VITAMINA	ENZIMA	REAZIONE
COLECALCIFEROLO D	1-25 (OH) ₂ D ₃	Controllo della

		concentrazione di Ca^{++} nel sangue.
RETINOLO A	11cis retinale	MECCANISMO DELLA VISIONE in associazione con la rodopsina.
TOCOFEROLO E	tocoferolo	IN VARIE FORME È ESSENZIALE PER LO SMALTIMENTO DEI LIPIDI PEROSSIDATI.
NAFTOCHINONE K	Naftochinone assorbito come: fillochinone prodotto dalle piante. Menachinone prodotto da batteri della flora intestinale.	GAMMA CARBOSSILAZIONE DEL GLUTAMMATO.
ACIDO LIPOICO N	Lipoilamide con residuo di lisina	SINTESI DI ACETIL CoA A PARTIRE DA PIRUVATO.

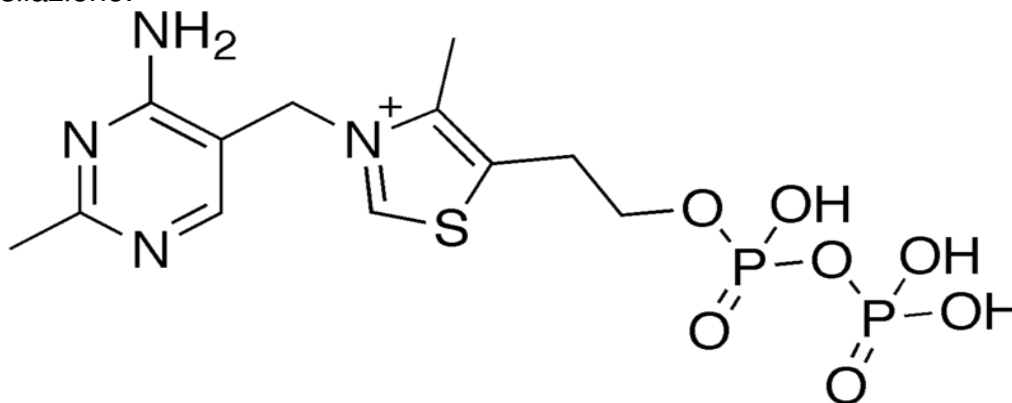
VITAMINE IDROSOLUBILI:

TIAMINA (0,5mg/1000Kcal; proporzionale a introito glucidico): è una vitamina essenziale per l'alimentazione, una sua carenza genera BERIBERI; il coenzima, cioè la TIAMINA PIROFOSFATO, è costituito di due parti:

- TIAMINA: struttura di due anelli aromatici, da sinistra pirimidinico e tioazolinico, con un ponte metilico a collegarli, che è la vera e propria vitamina:
- PIROFOSFATO: struttura costituita da due fosfati uniti fra loro tramite legame ANIDRICO e legati alla molecola tramite il gruppo OH presente sull'anello TIOAZOLINICO.



Il nucleo attivo della vitamina è l'atomo di carbonio in posizione 4 dell'anello tioazolinico, ad esso si lega l'intermedio della reazione di decarbossilazione.



La reazione tipicamente catalizzata da questo tipo di coenzima è la reazione di decarbossilazione del PIRUVATO in questo modo:

1. una molecola di piruvato perde il suo carbossile in forma di anidride carbonica:
 $\text{CH}_3\text{-CO-COOH} \rightarrow \text{CH}_3\text{-COH-} + \text{CO}_2$
2. Interviene quindi il coenzima, questo stabilizza l'intermedio tramite un legame con esso grazie alla sua parte tiazolinica:
La molecola decarbossilata si stabilizza quindi in forma alcolica e la molecola di tiamina pirofosfato diviene alfa idrossietil tiamina pirofosfato = alfa idrossietil TPP.
3. Infine assistiamo al distacco del composto decarbossilato dal coenzima, il composto assume quindi la sua forma definitiva di ACETALDEIDE: si rompe il legame tioazolinico-idrossietile e si riforma l'anello originale, mentre a livello della molecola alcolica abbiamo la formazione di un doppio legame fra carbonio e ossigeno a saturare la struttura (cioè la formazione di un carbonile).

Quindi riassumendo:

1. $\text{PIRUVATO} + \text{H}_2\text{O} + \text{TPP-E} \rightarrow \text{alfaidrossietilTPP-E} + \text{HCO}_3^-$
2. $\text{alfaidrossietilTPP-E} \rightarrow \text{acetaldeide} + \text{TPP-E}$

Naturalmente una qualsiasi reazione di decarbossilazione di questo genere può essere eseguita dal coenzima tiaminapirofosfato, l'identità del substrato è determinata dall'enzima con il quale la tiamina pirofosfato lavora.

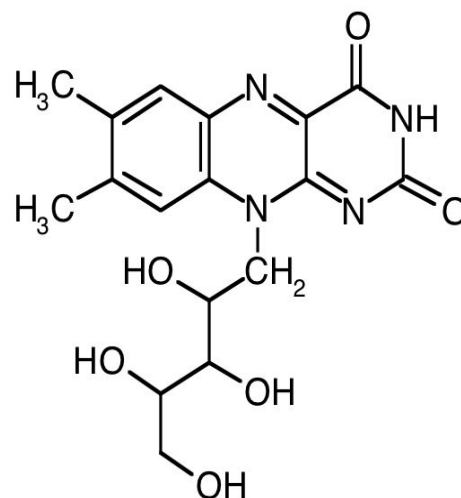
RIBOFLAVINA o B2(2mg/gg): si tratta di nuovo di una vitamina essenziale per il nostro organismo in quanto da essa derivano coenzimi importantissimi come flavina mononucleotide e la flavina adenina dinucleotide estremamente utilizzati nel nostro metabolismo. La struttura di base della molecola è la seguente:

La molecola vitaminica è costituita di due parti:

- ISOALLOSSANZINA: costituita di tre anelli aromatici affiancati dotati di numerosi sostituenti, in particolare è necessario precisare che:
 - la numerazione degli atomi parte dall'azoto dell'anello a destra e prosegue in senso antiorario saltando l'anello centrale e terminando con l'azoto posto nell'estremità superiore dell'anello centrale stesso (rivitolo legato a N9).
 - È la PARTE ATTIVA del coenzima, in particolare questa:
 - utilizza il sistema N10-N1 per le reazioni di ossidoriduzione che deve compiere.
 - Non utilizza mai i gruppi chetonici dell'anello aromatico per le reazioni di ossidoriduzione.
- RIVITOLO: si tratta di un polialcol legato all'azoto numero 9 della isoallossanzina.

I due coenzimi che derivano da questa vitamina sono:

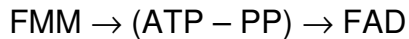
1. FLAVINMONONUCLEOTIDE o FMN: a livello strutturale reca un gruppo fosfato



legato al carbonio 5 del rivitolo della ribofavina.

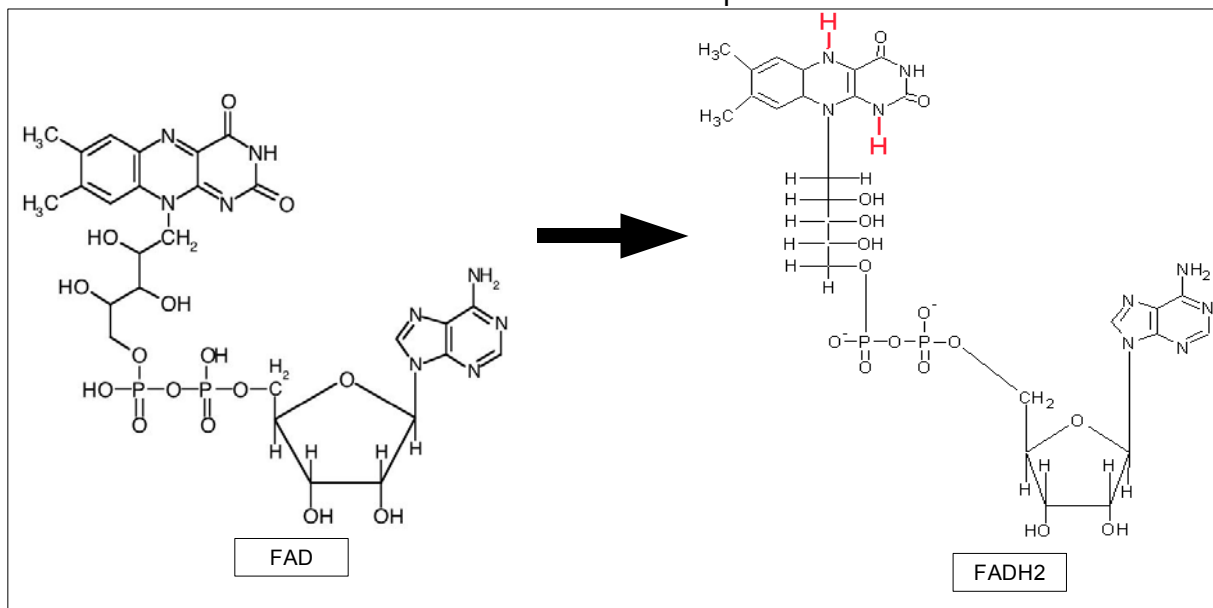
2. FLAVIN ADENINA DINUCLEOTIDE o FAD che invece è un vero e proprio dinucleotide ottenuto per somma della flavina mononucleotide con una molecola di ATP che si lega al fosfato già presente:

La reazione di formazione di può riassumere in questo modo:

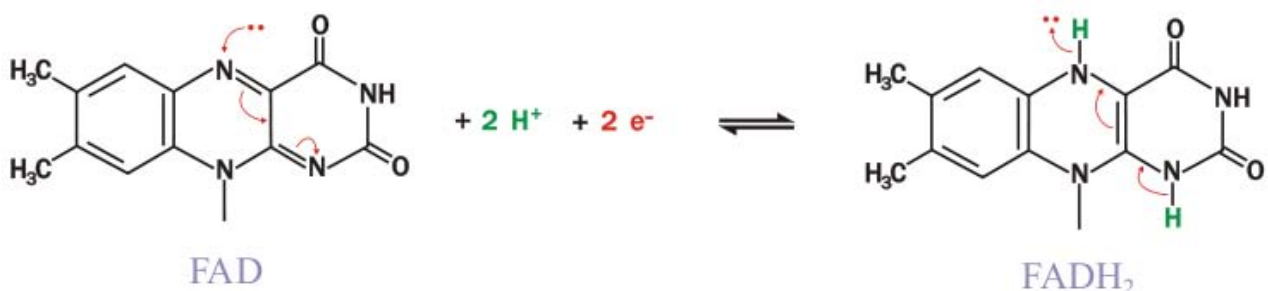


come in una qualsiasi reazione di condensazione fra nucleotidi si forma un legame di natura fosfoesterea con conseguente eliminazione di due gruppi fosfato.

come si può notare dall'immagine i siti attivi, come già detto, sono i due atomi di azoto, in particolare la reazione di ossidoriduzione avviene in questo modo:



Esistono quindi degli enzimi capaci di catalizzare reazioni redox di tipo FMN dipendenti e FAD dipendenti: la reazione sarà sempre la medesima e il coenzima avrà sempre il medesimo ruolo (accettore provvisorio di equivalenti riducenti), a cambiare sarà l'enzima ad esso associato e, di conseguenza, il substrato.

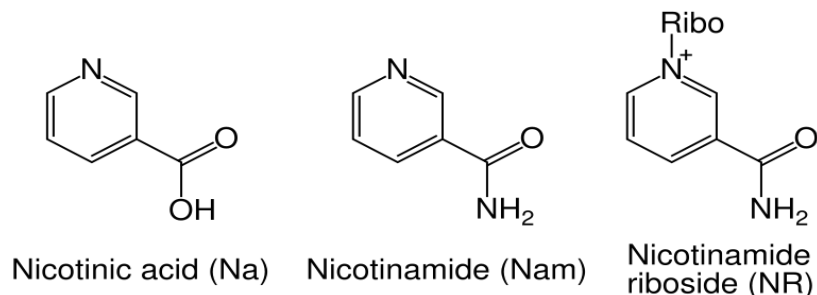


L'esistenza di due coenzimi così simili è dovuta alla necessità di avere dei composti capaci di dare reazioni redox con potenziali di riduzione diversi.

ACIDO NICOTINICO(20mg/gg): si tratta di un eterociclo sostituito con un gruppo carbossilico, è detto anche vitamina PP in quanto la sua presenza a livello dell'organismo impedisce l'insorgenza della pellagra. La molecola in questione si lega ad altre strutture

per divenire attiva solo dopo una reazione preliminare: ACIDO NICOTINICO + $\text{NH}_3 \rightarrow$ NICOTINAMMIDE. Nel nostro organismo questo composto da vita a due coenzimi lievemente diversi fra loro:

	NAD ⁺	NADP ⁺
ossidata	NAD ⁺	NADP ⁺
ridotta	NADH (H ⁺)	NADPH (H ⁺)

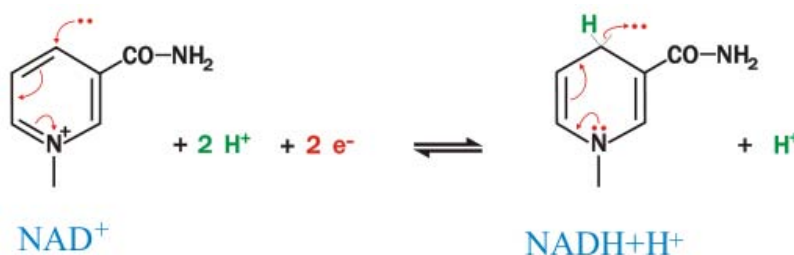


In entrambi i coenzimi la parte attiva è di fatto la nicotinammide: questa si lega covalentemente a strutture zuccherine tramite legame N glicosidico che porta all'acquisizione di una carica positiva per l'azoto che acquisisce così un potenziale redox.

I due coenzimi che vengono sintetizzati a partire dalla nicotinammide differiscono unicamente per la presenza di un fosfato al livello del ribosio legato alla adenosina:

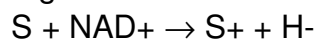
NAD = nicotinammideadeninadinucleotide.

NADP = nicotinammideadeninadinucleotide fosfato

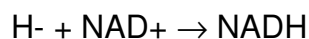


Naturalmente la reazione è la medesima sia che si tratti di NAD⁺ sia che si tratti di NADP⁺.

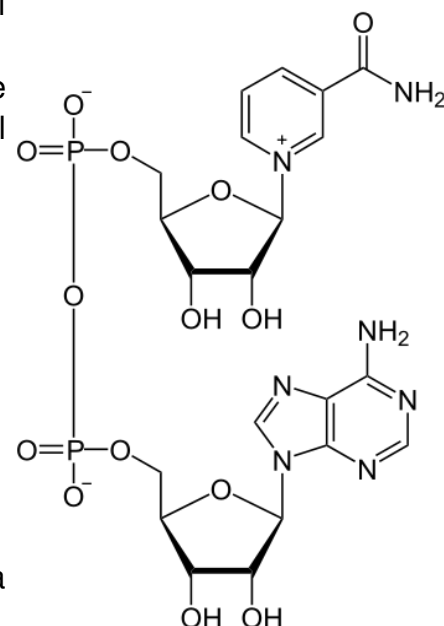
In realtà la reazione avviene in due stadi diversi uno dall'altro e non in unico stadio come emerge dall'immagine:



la presenza del coenzima NAD provoca una inusuale separazione del primo idrogeno dal substrato: esso esce in forma anionica.



L'idrogeno dissociato in forma anionica va a saturare il coenzima, sulla molecola di

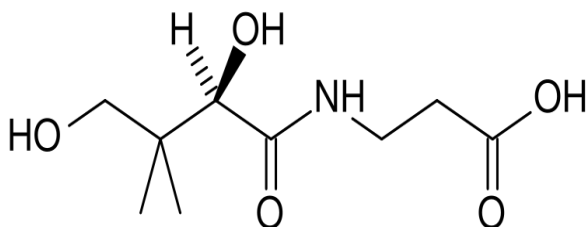


substrato si è creato quindi uno squilibrio di tipo ionico.



Per compensare tale squilibrio viene dissociato un protone che finisce libero in soluzione. Anche in questo caso sorge spontaneo chiedersi il perché della presenza di due coenzimi così simili; oltre che per il diverso potenziale di riduzione è importante sottolineare che i due coenzimi partecipano a due categorie di reazioni completamente diverse: NAD⁺ partecipa a reazioni di tipo CATABOLITICO = demolizione di molecole organiche. NADP⁺ partecipa a reazioni di tipo ANABOLITICO = costruzione di molecole organiche. Grazie a questa grande disponibilità di enzimi redox il nostro organismo è capace di catalizzare REAZIONI DI OSSIDORIDUZIONE DI QUALSIASI TIPO.

ACIDO PANTOTENICO (5-10mg/gg): si tratta di una vitamina molto particolare, è un dimero:



come si può vedere dall'immagine la molecola può essere divisa in due grandi parti:

BETA ALANINA: amminoacido non convenzionale.

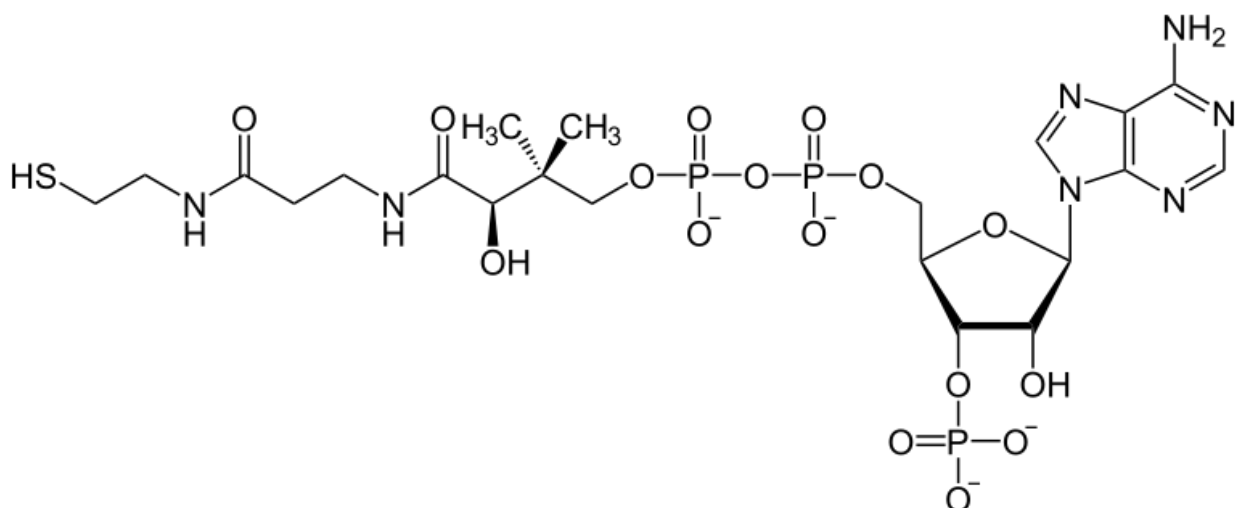
ACIDO BUTANOICO dotato di numerosi sostituenti.

Questa vitamina si trova in moltissimi alimenti ed è rarissimo trovare casi di avitaminosi legati a mancanza di acido pantotenico.

Questo coenzima realizza acilazioni ATP dipendenti, che richiedono cioè energia per funzionare, e la sua forma attiva è il COENZIMA A:

CoA = acido pantotenico + ADP + beta tioetanolammina

La struttura del coenzima è quindi particolarmente complessa; è importante sottolineare che il sito operativo del coenzima è parte della beta mercaptoetilammina (o tioetanolammina):



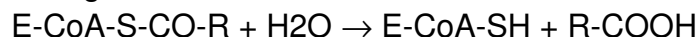
La funzione di questa molecola è di FARE DA TRAMITE PER IL TRASFERIMENTO DI ACILI: durante una reazione il coenzimaA lega al gruppo tiolico della tioetanolammina un acile e lo sposta su un accettore; la reazione avviene in più stadi:

Il substrato entra in contatto con il coenzima tramite l'enzima, il substrato perde l'acile che

viene legato al coenzima A che diviene così ACIL-COENZIMA A:



Una volta staccato dal substrato l'acile forma un legame di natura tioesterea con il coenzima, si tratta di un legame facilmente idrolizzabile:



Questa reazione ha una energia libera standard che si aggira intorno a -7 kcal/mol.

Questo tipo di procedimento viene utilizzato in modo particolare nella degradazione di acidi grassi.

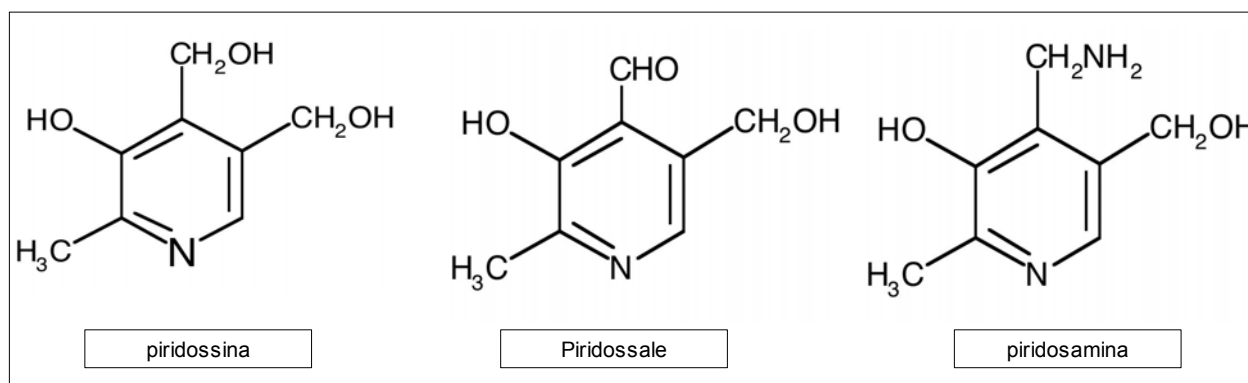
COMPLESSO VITAMINICO B6(2mg/gg proporzionale all'introito proteico): si tratta di un vero e proprio complesso vitaminico composto di tre molecole lievemente diverse fra loro; richiede per divenire operativo delle modificazioni minime:

Come già sottolineato il complesso vitaminico è formato di tre composti:

PIRIDOSSINA: qui riportata, si tratta di un derivato della piridina sostituito con gruppi metilici ed alcolici.

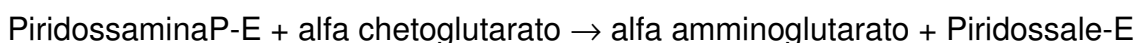
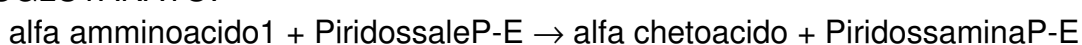
PIRIDOSSALE: si tratta di una piridossina che ha subito un fenomeno di ossidazione sul gruppo alcolico legato al metile legato al carbonio 3: presenta un anello identico alla piridossina meno che per il fatto che il gruppo alcolico in questione è divenuto un gruppo aldeidico.

PIRIDOSSAMINA: anche in questo caso la modificazione riguarda il metile legato al carbonio 3: in questo caso il gruppo alcolico della piridossina viene sostituito con un gruppo amminico.



Questi composti vitaminici divengono coenzimi per semplice FOSFORILAZIONE: viene legato un gruppo fosfato al gruppo alcolico legato al metile legato al carbonio 4 del ciclo aromatico ottenendo così PIRIDOSSALE FOSFATO e PIRIDOSSAMINA FOSFATO.

Questo coenzima esegue reazioni di TRANSAMINAZIONE: spostamento di gruppi amminici da un donatore ad un accettore. Questo tipo di reazione è particolarmente utilizzato per lo smaltimento di proteine: la piridossale carica su di se il gruppo amminico divenendo piridossamina e lo trasferisce ad un accettore comune, l' ALFA CHETOGLUTARATO:



Nel dettaglio l'azione del coenzima si svolge in questo modo:

- gruppo carbonilico in posizione 3 è legato in forma di BASE DI SCHIFF con il

gruppo amminico di una LISINA, si colloca quindi legata in modo covalente con la struttura della proteina enzimatica in forma di aldimina o base di schiff.

- L'amminoacido giunto nel sito attivo viene bloccato in una posizione vicina alla piridossalfosfato.
- SI ROMPE IL LEGAME fra il gruppo AMMINICO DELL'ENZIMA e il piridossalfosfato, ad esso si lega quindi l'amminoacido DA DEAMINARE, a questo punto:
 - VIENE TOLTO L'IDROGENO LEGATO AL CARBONIO ALFA dell'amminoacido. IL GRUPPO AMMINICO RESTA LEGATO ALLA PIRIDOSSALE.
 - La piridossale quindi ospita il gruppo amminico e viene detta PIRIDOSSAMINA.
 - Viene quindi liberato il CHETOACIDO RESIDUO.

Naturalmente nelle reazioni metaboliche l'accettore può essere diverso, tuttavia nello smaltimento degli amminoacidi l'ALFA CHETOGLUTARATO è l'accettore fisso.

La presenza di un accettore fisso consente di semplificare molto il meccanismo di smaltimento degli scarti amminoacidici:

- presenza di un unico coenzima (piridossale-piridossamina) per ben 20 reazioni diverse.
- 18 enzimi proteici a garantire la specificità del substrato (non 20 perché 2 amminoacidi sono semplici e non richiedono enzima).
- Ma soprattutto una UNICA VIA CATABOLICA DI SMALTIMENTO: una volta associati alfa cheto glutarato e scarto amminico la via di smaltimento è sempre la stessa.

Gli enzimi che si occupano di questo tipo di processi sono detti TRANSAMINASI: in particolare questi enzimi lavorano a livello epatico, la presenza di transaminasi in eccesso nel sangue è un indice di attività epatica irregolare.

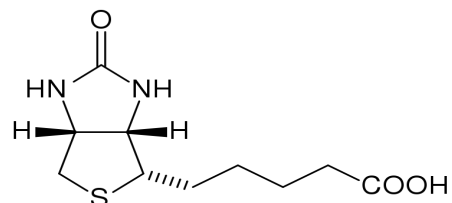
La vitamina B6 può fungere da cofattore per reazioni di decarbossilazioni estremamente importanti: legando l'amminoacido in forma di aldimina consente alla carbossilasi di eliminarne il carbossile producendo un'ammina primaria. In particolare fa da cofattore per decarbossilasi come:

- glutammico decarbossilasi essenziale per la sintesi del GABA a partire da GLUTAMMATO.
- 5idrossi triptofano decarbossilasi che produce serotonina.
- Istidina decarbossilasi che produce istamina.

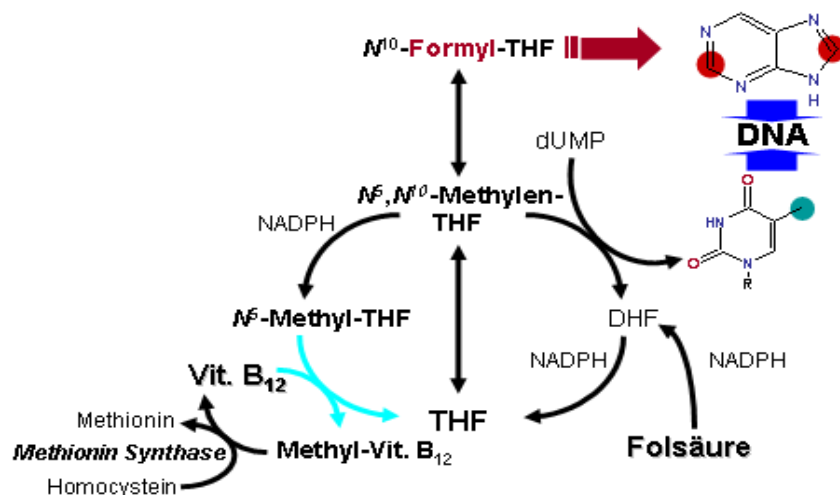
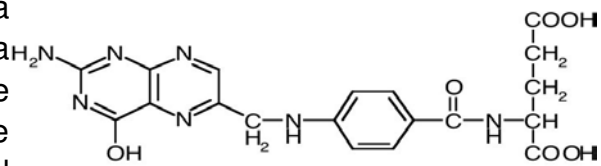
BIOTINA o B8 (0,1mg/die): si tratta di un coenzima essenziale per reazioni di carbossilazione, possiamo dire che lega a livello dei gruppi amminici del suo eterociclo provvisoriamente un carbossile che viene donato ad un preciso accettore; in particolare è essenziale per:

- acetilCoA carbossilasi.
- PropionilCoA carbossilasi.
- Piruvato carbossilasi.

La prima e l'ultima in particolare essenziali e utilizzatissime a livello del metabolismo intermedio nel nostro organismo.



ACIDO FOLICO o B9 o M vitamina essenziale per la il trasporto provvisorio di gruppi monocarboniosi derivati generalmente dal catabolismo di amminoacidi; la sua forma attiva è tetraidrogenata e viene detta tetraidrofolato e catalizza diverse reazioni che coinvolgano i suddetti gruppi. Possiamo dire che grazie alla presenza di diversi enzimi le diverse forme del tetraidrofolato sono intercambiabili:



in particolare l'N10 formil tetraidrofolato risulta essenziale per la sintesi dei nucleotidi purinici; N5 formil tetraidrofolato è risultato della catabolizzazione del triptofano mentre N5 formimmino tetraidrofolato è prodotto dalla catabolizzazione della istidina.

ACIDO ASCORBICO o C: si tratta di un composto essenziale per numerose reazioni di idrossilazione che coinvolgono generalmente amminoacidi o loro derivati:

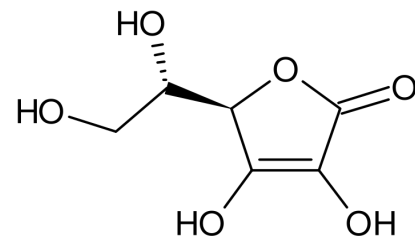
- idrossilazione della prolina a idrossiprolina.
- Idrossilazione della lisina a idrossilisina.
- Idrossilazione della dopamina a noradrenalina.

Risulta inoltre molto utile per la neutralizzazione di radicali liberi divenendo radicale ascorbato, per tornare alla sua forma attiva sfrutta uno ione ferrico al quale dona l'elettrone trasformandolo in ione ferroso.

Per quanto riguarda le reazioni di idrossilazione possiamo dire che si comporta come un qualsiasi coenzima di una idrossilasi a funzione mista che sfrutta ossigeno e tre molecole di idrogeno (due ricavate dall'ascorbato e uno dal substrato) per generare un ossidril e una molecola di acqua.

VITAMINE LIPOSOLUBILI

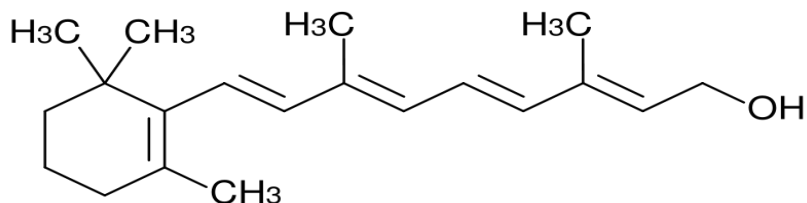
possiamo dire che in generale il livello di assorbimento di queste proteine è strettamente vincolato alla funzionalità dell'assorbimento degli acidi grassi con i quali vengono generalmente vincolati in circolo tramite CHILOMICRONI e poi LDL e VLDL.



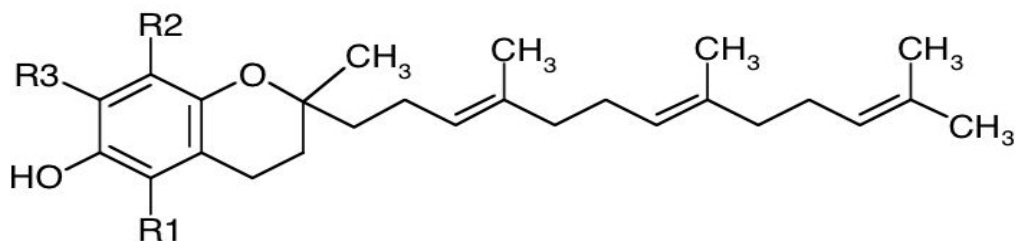
COLECALCIFEROLO D: non presenta un livello di assunzione minimo in quanto viene prodotta dal nostro organismo, si tratta di un derivato del colesterolo essenziale per il mantenimento della omeostasi del calcio: la sua azione fondamentale si svolge a livello intestinale dove stimola la sintesi di CALBINDINA proteina essenziale all'assorbimento del calcio a livello intestinale. La sua funzione nel dettaglio verrà trattata relativamente alla omeostasi del calcio.

RETINOLO A: si tratta di una vitamina liposolubile essenziale derivato di carotenoidi, è essenziale per i meccanismi della visione: si tratta di un composto che nella sua forma di 11CIS RETINALE risulta particolarmente FOTOSENSIBILE e viene isomerizzato a TUTTO TRANS RETINALE; si trova vincolato ad un recettore proteico detto opsina che muta la sua conformazione provocando la dissociazione di una G protein ad esso vincolata e attivando una via di trasmissione intracellulare che provoca la attivazione di una fosfodiesterasi che genera la chiusura di un canale ionico generando una mutazione polare lungo la membrana che genera la trasmissione del segnale. L'acido retinico inoltre presenta una funzione di natura ormonale su:

- OVAIO dove stimola la maturazione delle cellule.
- LINFOCITI T ne stimola la formazione.
- CELLULE EPITELIALI dove stimola la differenziazione delle cellule:
 - in sua presenza le cellule si differenziano in cheratinociti.
 - In sua assenza le cellule se differenziano in cellule mucipare caliciformi.



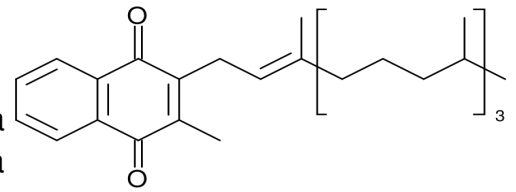
VITAMINA E: si tratta di una molecola essenziale per la eliminazione di lipidi perossidati a livello della membrana plasmatica: prende su di sé un elettrone eliminando l'agente radicalico; la sua struttura costituita da una coda apolare con testa aromatica e ossidrilica consente la sua inserzione nella membrana.



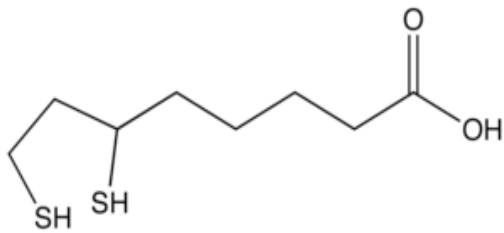
VITAMINA K: si tratta di una vitamina essenziale per reazioni di gamma carbossilazione post traduzionale di residui di glutammato, fenomeno essenziale per la attivazione di proteine come:

- fattori di coagulazione.
- Proteine della coagulazione.
- Osteocalcina.

Per una descrizione dettagliata della reattività della molecola si rimanda al capitolo relativo alla vitamina stessa.



VITAMINA N: si tratta dell'ACIDO LIPOICO, vitamina essenziale per die categorie di reazioni:



- si occupa de passaggio dell'acetile dalla tiamina pirofosfato al coenzima A nella reazione di produzione di acetilCoA dal piruvato (piruvato deidrogenasi).
- Si occupa di neutralizzare numerosi agenti ossidanti.

Si colloca generalmente ancorato ad un residuo lisinico in forma di LIPOILAMIDE che di fatto lo vincola come un gruppo prostetico alla struttura proteica dell'enzima.

IL CATABOLISMO DEI GLUCIDI:

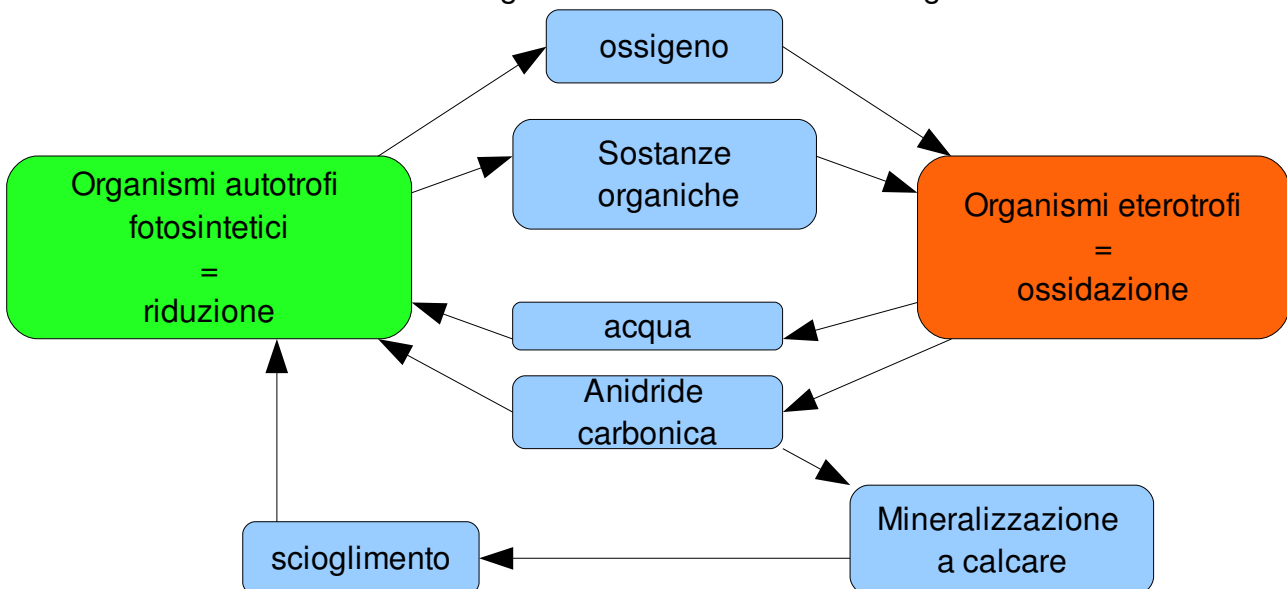
Il metabolismo è l'insieme di quei processi che consentono al nostro corpo da un lato di catabolizzare sostanze complesse per ricavare energia, dall'altro di anabolizzarne delle altre necessarie per il funzionamento del nostro corpo.

Gli organismi viventi possono essere classificati come:

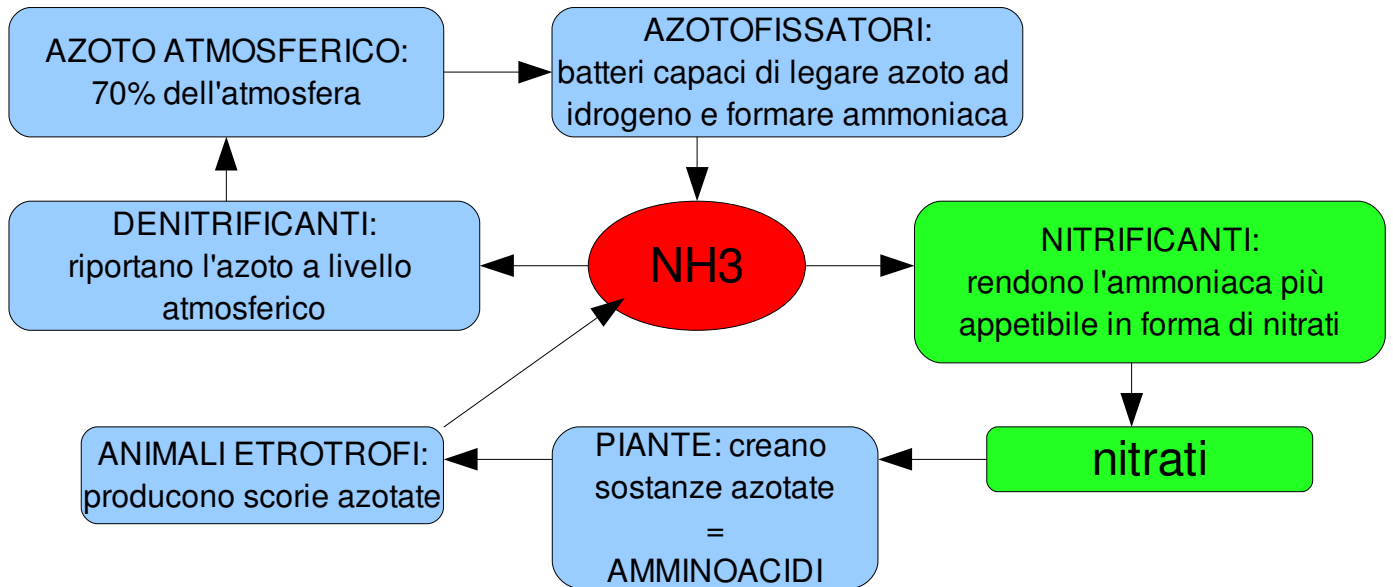
- **AUTOTROFI:** producono sostanze necessarie alla loro sussistenza a partire da anidride carbonica ed eventualmente da azoto; il meccanismo di produzione prevede l'utilizzo di carbonio ossidato e acqua che per riduzione divengono ossigeno e composti organici. **RIDUCONO MOLECOLE E PRODUCONO OSSIGENO.**
- **ETEROTROFI:** non sono in grado di produrre autonomamente il proprio nutrimento, devono assumerlo dall'esterno **RIOSSIDANDO I COMPOSTI PRECEDENTEMENTE RIDOTTI DA ORGANISMI AUTOTROFI.** Possono essere:
 - aerobi: sfruttano l'ossigeno per ossidare completamente composti organici.
 - Anaerobi: non hanno bisogno di ossigeno e utilizzano unicamente il processo anaerobio della glicolisi.
 - Facoltativi: possono utilizzare ossigeno se presente ma non necessitano di esso per catabolizzare composti.

L'equilibrio dei composti organici fra organismi autotrofi ed eterotrofi è riassumibile nei due cicli del **CARBONIO** e dell'**AZOTO**:

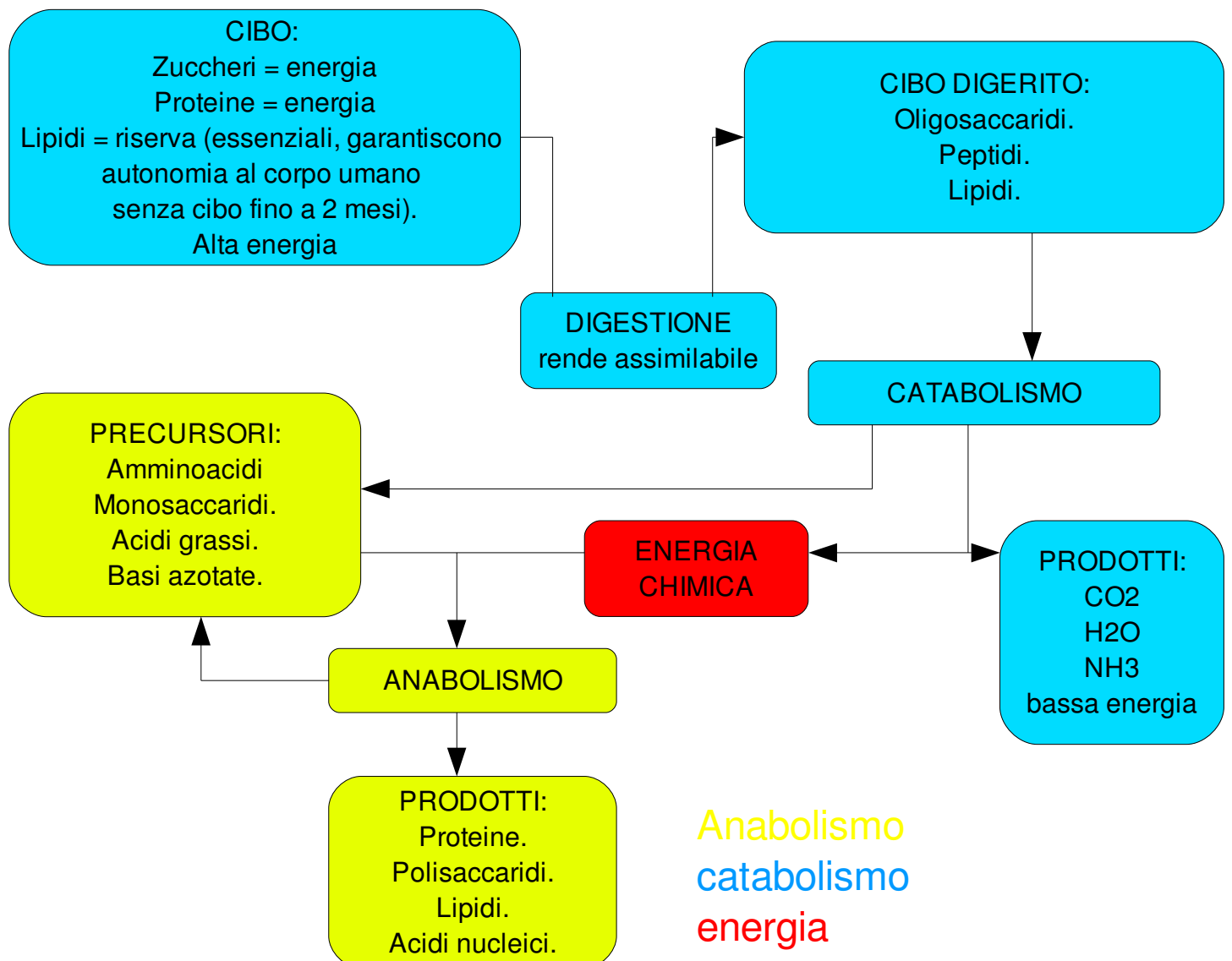
CICLO DEL CARBONIO: che collega di fatto fra loro tutte le categorie di viventi:



CICLO DELL'AZOTO: che tramite l'azione di diverse categorie di batteri è essenziale per la formazione di numerose macromolecole:



Anche il nostro metabolismo di fatto è riassumibile in uno schema di questo tipo:



Anabolismo
catabolismo
energia

È inoltre importate sottolineare che diverse cellule hanno esigenze diverse, per fare un esempio:

- **CONDROCITI:** non hanno bisogno di grandi quantità di energia, sfruttano sostanzialmente la glicolisi, non necessitano quindi nemmeno di ossigeno.
- **EPATOCITI:** il metabolismo è così elevato che non è possibile fare a meno dell'ossigeno.

CONTROLLO DELLA CATABOLIZZAZIONE E DELLA ANABOLIZZAZIONE: i due processi non avvengono mai contemporaneamente, non è possibile infatti anabolizzare un composto che è in fase di catabolizzazione; i due processi avvengono, per ragioni enzimatiche ma non solo, in **MOMENTI E LUOGHI DIVERSI**.

ENERGIA CHIMICA: l'energia chimica è di fatto l'intermedio fra i processi di anabolismo e di catabolismo, questa viene conservata in forma di:

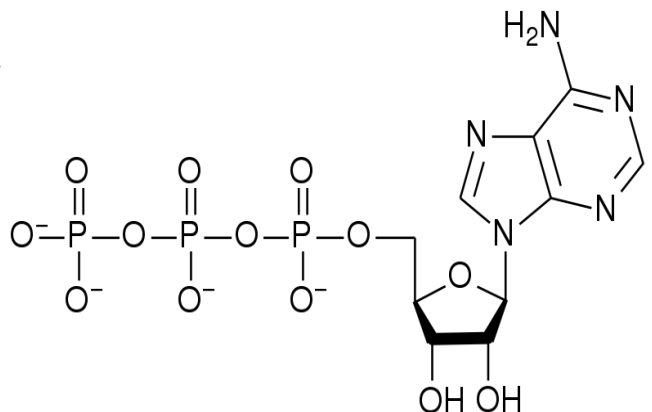
- **ATP** → molecola molto energetica.
- **NADPH** → molecola ridotta: dopo una reazione di ossidoriduzione l'energia della riduzione, accumulata tramite elettroni e protoni legati al coenzima, resta disponibile ed utilizzabile: nel momento in cui è necessario ridurre un composto NADPH cederà i suoi elettroni alla molecola da anabolizzare.

L'anabolizzazione di composti organici non è un processo facile da eseguire, è anzi molto difficile e dispendioso.

L'ATP: si tratta del nucleotide tre fosfato sicuramente più presente nel nostro organismo:

si trova in concentrazioni nell'ordine di micromoli nelle cellule, molto elevate; si tratta di una molecola che tende a dare fenomeni di idrolisi dei fosfati → Δ energia libera in condizioni standard = - 7,3 kcal/mol.

Altri composti nel nostro organismo contengono legami di tipo estereo simili al legame fra il ribosio e il fosfato alfa della serie, ma pochissimi composti contengono legami **ANIDRICI** fra molecole di fosfati; la differenza fra queste due tipologie di legame è molto significativa:



- **LEGAME FOSFOESTEREO NORMALE:** molecole dotate di legami di questo tipo in acqua tendono a dare meccanismi di idrolisi, ma instaurano una situazione di equilibrio fra le due forme idrolizzata e integra; la Δ energia libera non è quindi abbastanza bassa da portare la reazione a completamento.
- **LEGAME ANIDRICO:** il legame anidrico ha invece una energia libera estremamente bassa tanto che in acqua idrolizza praticamente immediatamente. Per dare un'idea della forza di questo tipo di repulsione fra i due gruppi fosfato è sufficiente citare il **FOSFORO BIANCO**: si tratta di anidride fosforica, questo composto, a contatto con tessuti acquosi, assorbe l'acqua da essi e si trasforma in due molecole di acido fosforico che oltre a disidratare corrode.

Di conseguenza è sufficiente avere un donatore per trasferire il fosfato dall'ATP ad un'altra sede, in particolare il nostro corpo sfrutta questa reazione in due sensi:

1. ricavare energia dall'idrolisi.
2. Fosforilare molecole presenti nel nostro organismo.

LA SINTESI DELL'ATP: l'adenosina trifosfato può essere sintetizzata in due modi diversi:

1. FOSFORILAZIONE OSSIDATIVA con la CATENA RESPIRATORIA: tramite i meccanismi di fosforilazione ossidativa e una serie di reazioni redox che portano alla costruzione della molecola in questione.
2. SINTESI PER FOSFORILAZIONE A LIVELLO DEL SUBSTRATO: si tratta di reazioni che sfruttano la tendenza di molecole presenti a livello del nostro organismo, che si formano durante il catabolismo di macromolecole, a liberare un gruppo fosfato dalla propria struttura. In generale la reazione è la seguente:

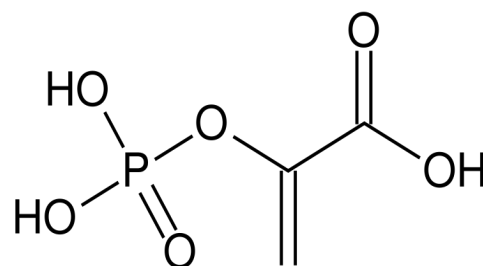


Queste molecole sono principalmente:

- FOSFOENOLPIRUVATO o PEP: si tratta della forma enolica del chetoacido acido piruvico fosforilata sul gruppo alcolico formatosi:

la molecola è caratterizzata da un valore di Δ di energia libera per l'idrolisi del fosfato bassissima, circa di -14 kcal/mol, il doppio rispetto all'ATP. Un valore così basso di energia libera è dovuto ad alcune caratteristiche della molecola:

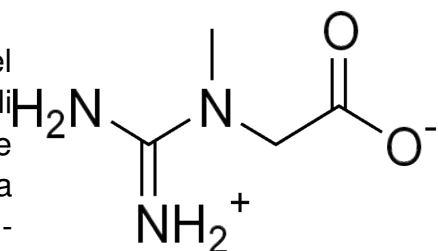
- la molecola è molto piccola.
- Il carbossile si presenta dissociato a pH fisiologico.
- L'elettronegatività degli atomi di ossigeno è molto elevata.
- La presenza del doppio legame provoca un ulteriore fattore di sbilanciamento a livello molecolare.



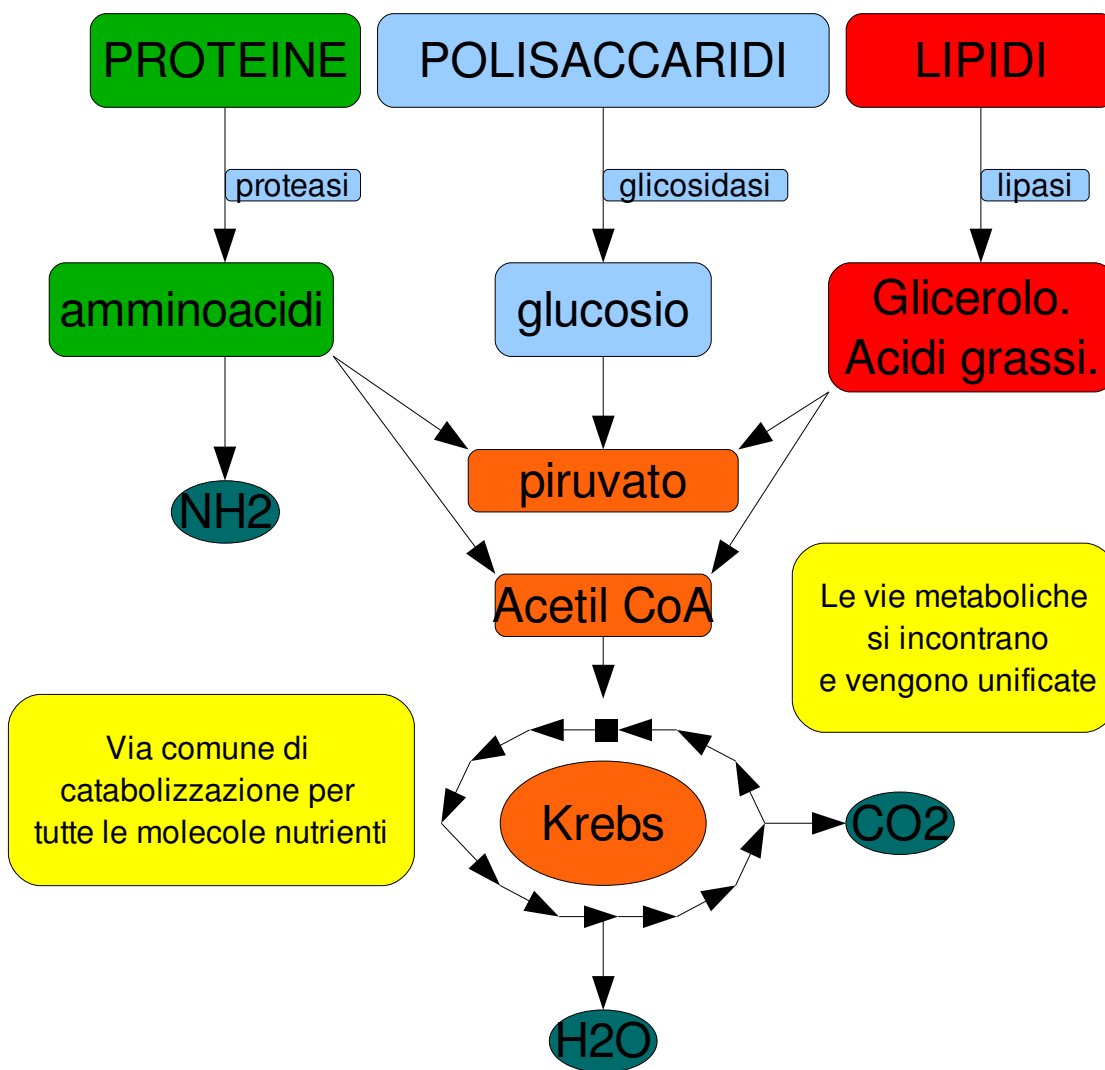
- ACETIL FOSFATO: anche in questo caso la molecola è molto piccola, si tratta di un acetile al quale è legato un gruppo fosfato tramite legame fosfoestereo. Presenta una energia libera intorno a -10kcal/mol.

- CREATINFOSFATO: anche in questo caso siamo in presenza di una molecola particolarmente instabile dal punto di vista energetico:

oltre alle caratteristiche presenti nella molecola del fosfoenolpiruvato in questo caso sono presenti anche gli atomi DI AZOTO, fortemente elettronegativi che scompensano l'equilibrio della molecola che ha una energia libera per la reazione di idrolisi del fosfato di circa -10kcal/mol.



IL METABOLISMO: assumiamo cibi con la dieta per ottenere da essi energia; ogni organismo naturalmente cerca di ottimizzare i processi di metabolizzazione delle molecole limitando il numero di processi e di vie cataboliche per quanto possibile, in particolare possiamo schematizzare in questo modo:



Naturalmente nella prima parte ogni via metabolica è specifica (quantomeno a livello di classe di composti), esistono vari tipi di proteasi, glicosidasi e lipasi, ma queste differiscono anche per il diverso ambiente in cui operano.

Servono naturalmente dei sistemi di regolazione per controllare che i processi catabolici ed anabolici siano eseguiti sulla base delle necessità cellulari, in particolare ricordiamo:

- **CONTROLLO DELLA QUANTITÀ DI ENZIMI CHIAVE:** il nostro organismo regola varie vie metaboliche semplicemente attraverso meccanismi di creazione e di distruzione delle molecole interessate.
- **CONTROLLO DELLA ATTIVITÀ ENZIMATICA:** in particolare parliamo di FEED BACK per quanto riguarda gli enzimi allosterici, ma anche di modificazioni covalenti legate a FOSFORILAZIONE e DEFOSFORILAZIONE.
- **SEPARAZIONE DELLE VIE METABOLICHE:** se le reazioni anaboliche e cataboliche fossero completamente e costantemente reversibili ci sarebbe un grosso rischio di andare incontro a problemi legati proprio a questa reversibilità, quindi per ogni via metabolica DEVO AVERE ALMENO UNA REAZIONE FRA LE TANTE che sia NON REVERSIBILE. Un esempio tipico è quello della GLICOLISI che presenta tre processi diversi e irreversibili rispetto alla GLUCONEOGENESI:
 - $\text{GLUCOSIO} \rightleftharpoons \text{GLUCOSIO6P}$ catalizzata:
 - GLICOLISI da una esochinasi.

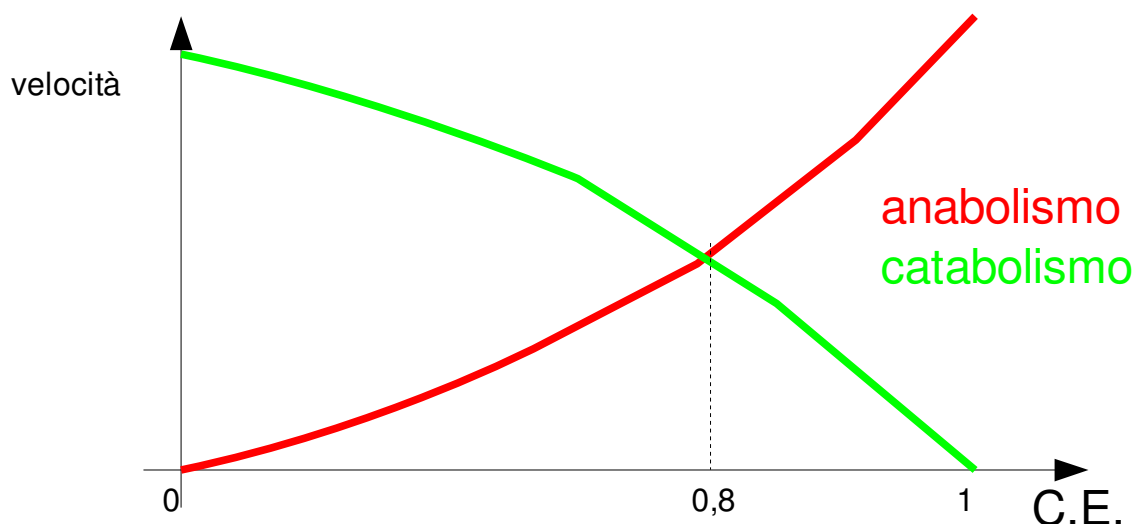
- GLUCONEOGENESI da una glucosio6P fosfatasi.
- FRUTTOSIO6P $\rightleftharpoons$ FRUTTOSIO2,6DP catalizzata:
 - GLICOLISI da una fosfofruttochinasi.
 - GLUCONEOGENESI da una fruttosio2,6di fosfato fosfatasi.
- FOSFOENOL PIRUVATO $\rightleftharpoons$ PIRUVATO catalizzata da:
 - GLICOLISI dalla piruvico chinasi.
 - GLUCONEOGENESI da:
 - piruvico carbossilasi.
 - Malico deidrogenasi.
 - PEP carbossi chinasi.
- COMPARTIMENTAZIONE delle due vie anabolica e catabolica, nella cellula questo avviene facilmente tramite l'utilizzo di diversi organuli, per esempio:
 - CATABOLISMO PROTEICO: lisosomiale.
 - ANABOLISMO PROTEICO: golgi e reticolo endoplasmatico.
- CARICA DI ENERGIA: si tratta di un indice energetico relativo ad una cellula, in particolare tiene conto dei livelli energetici vincolati a molecole nucleotidiche: ATP, ADP e AMP:

$$C.E. = [ATP] + 0,5[ADP] / [ATP] + [ADP] + [AMP]$$

L'equazione tiene conto del fatto che l'ADP porta esattamente la metà dell'energia rispetto all'ATP, si tratta quindi di un bilancio energetico ponderato; come emerge dalla equazione il valore della carica di energia può oscillare fra 1 e 0:

- 1 = livello di energia massimo, è presente unicamente ATP.
- 0 = livello di energia minimo, è presente unicamente AMP.

Chiaramente nessuno di questi due valori è raggiungibile in condizioni normali. Il livello della carica di energia è direttamente correlato al livello di attività anabolica e catabolica, in particolare possiamo schematizzare il tutto in questo modo:



Questo grafico rappresenta bene come il livello dei due processi anabolico e catabolico sia rispettivamente direttamente e inversamente proporzionale alla carica di energia:

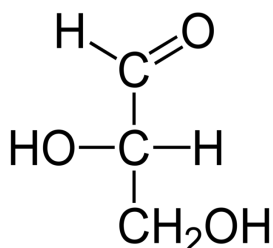
- più energia ho, più posso anabolizzare molecole.

- Meno energia ho, meno posso anabolizzare molecole.

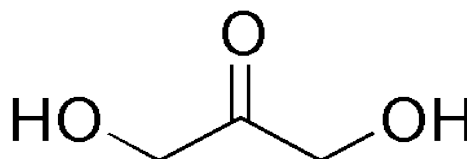
I meccanismi di reazione anabolici e catabolici sono regolati dalla concentrazione di ATP che agisce su di essi come effettore allosterico.

I CARBOIDRATI: con carboidrati si intende molecole caratterizzate dalla presenza di atomi di carbonio, ossigeno e idrogeno organizzati a formare una catena carboniosa sostituita con ossidrili e un carbonile (aldeide o chetone a seconda del tipo di carboidrato). La struttura dei due zuccheri più semplici è la seguente:

ALDOSI:



CHETOSI:



Naturalmente queste due serie di composti presentano caratteri diversi; principalmente:

- gli aldosi possono dare fenomeni di ossidazione ad acidi.
- Gli aldosi sono caratterizzati, fin dalla gliceraldeide, dalla presenza di un carbonio chirale (cosa che per i chetosi si verifica unicamente dai quattro atomi di carbonio in su).

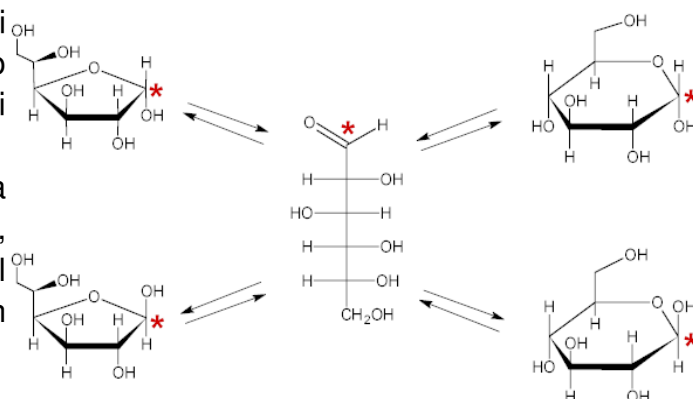
Gli zuccheri più complessi, in particolare a cinque o sei atomi di carbonio, sono caratterizzati dalla capacità di dare strutture cicliche:

STRUTTURA PLANARE:

Il D glucosio, uno dei monomeri più diffusi in natura, tende a ciclizzare dando la seguente forma strutturale: dal processo di ciclizzazione possono scaturire due strutture differenti e intercambiabili per la posizione del gruppo ossidrilico a livello del carbonio uno e dette alfa (quando l'ossidrile si colloca sotto il piano della molecola) e beta (quando l'ossidrile si colloca sopra).

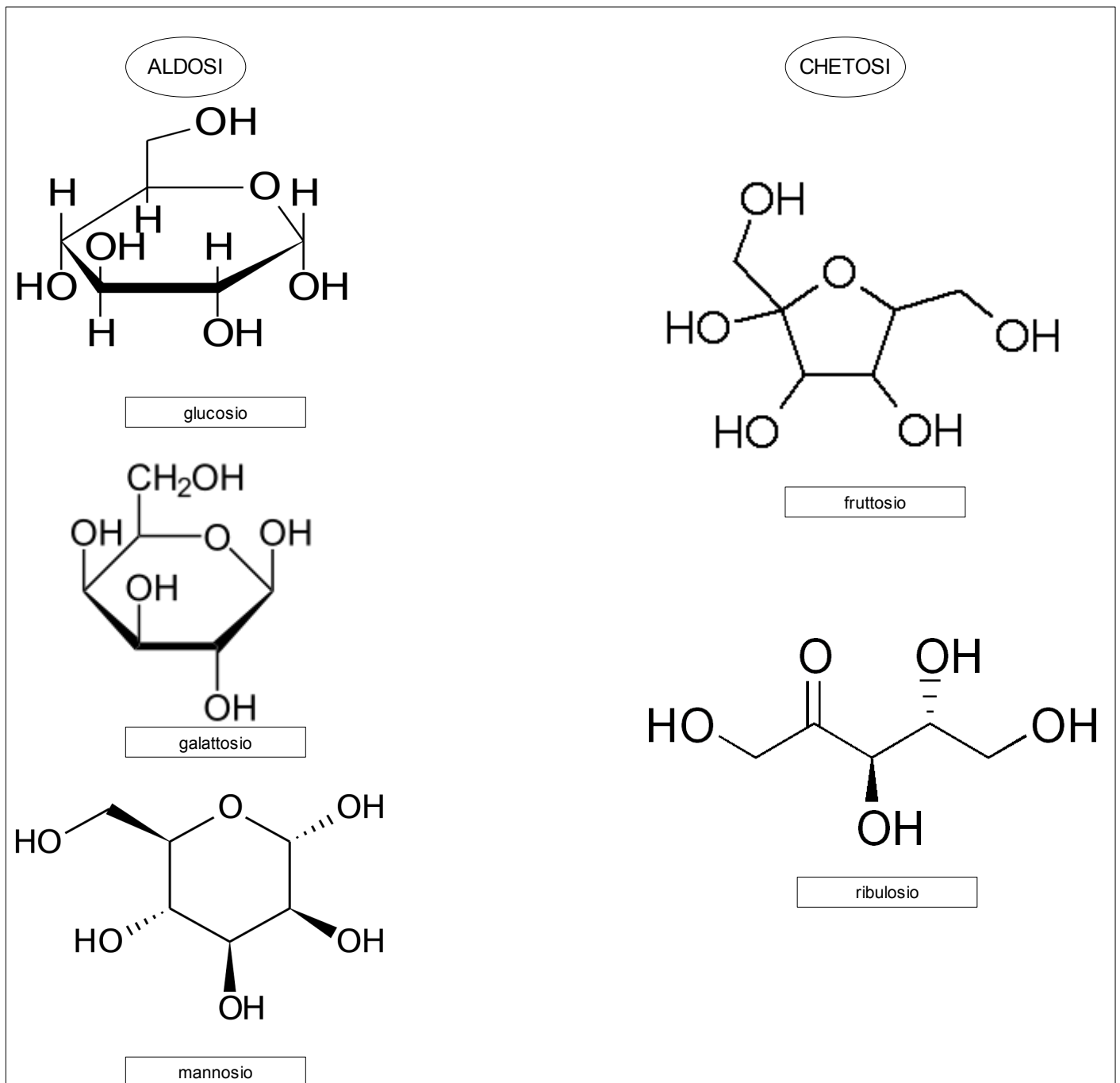
LA CICLIZZAZIONE, processo reversibile, **AVVIENE IN QUESTO MODO:**

- il gruppo aldeidico o chetonico della molecola glucidica assume una molecola d'acqua divenendo IDRATO, il gruppo che si forma, detto GEMDIOLO, è caratterizzato dalla presenza di due gruppi ossidrilici legati al medesimo atomo di carbonio.
- Questa concentrazione di ossidrili rende la molecola instabile e particolarmente reattiva, tende quindi a reagire con l'ossidrile del carbonio in posizione cinque formando un legame di natura EMIACETALICA.

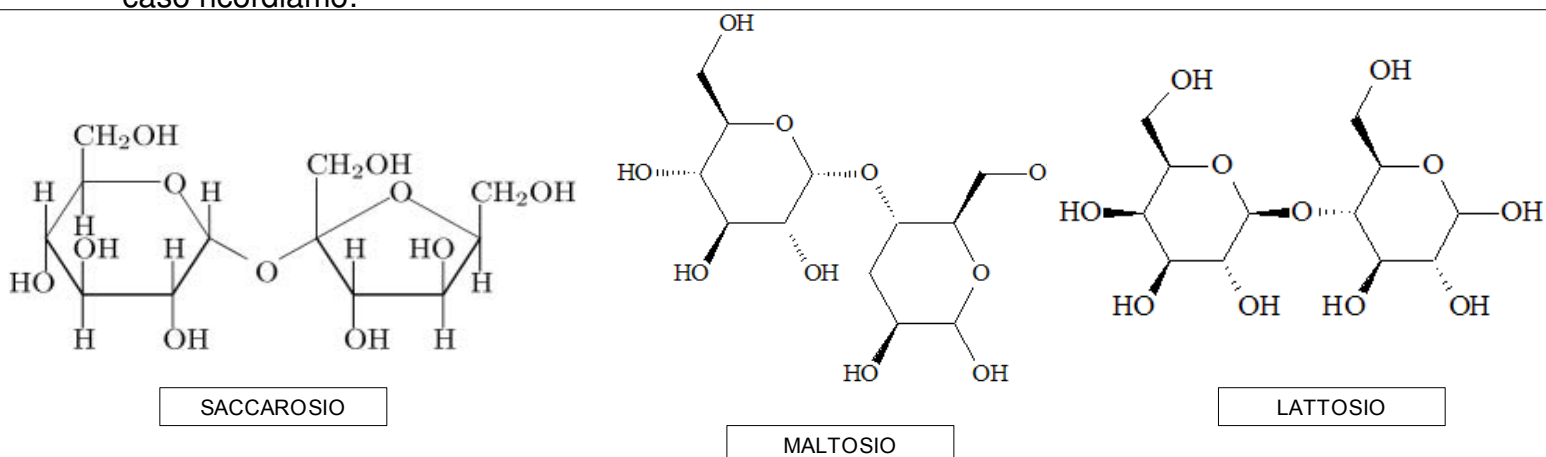


Per quanto riguarda la classe isomerica a cui un glucide appartiene fra D e L questa viene attribuita valutando la posizione dei sostituenti legati al penultimo carbonio della catena.

I MONOSACCARIDI PRINCIPALI: in natura si individuano numerosi monosaccaridi ma i più importanti per presenza a livello metabolico sono:



DISACCARIDI: anche i disaccaridi sono estremamente diffusi in natura, tuttavia in questo caso ricordiamo:



A livello strutturale è necessario precisare che:

- il legame fra due monosaccaridi a formare un disaccaride si definisce O glicosidico.
- Si tratta della formazione di un ACETALE da un EMIACTALE e UN GRUPPO ALCOLICO.
- In teoria sarebbero possibili legami di vario tipo fra ossidrili e gruppo emiacetalico, tuttavia si formano solo alcuni legami specifici, in particolare:
 - LEGAME ALFA 1 → 4 viene catalizzato abitualmente per tutti i disaccaridi, questo avviene perché in questo modo si creano strutture che mantengono una estremità riducente mentre l'altra viene impegnata nel legame O glicosidico.
 - LEGAME ALFA 1 → 2 che è presente nella struttura del saccarosio, si tratta di un legame particolare che porta alla formazione dell'unico disaccaride privo di estremità riducenti presente nel nostro organismo.

Legami di altro tipo non vengono catalizzati se non in polisaccaridi diversi per rendere le molecole più riconoscibili o creare diramazioni.

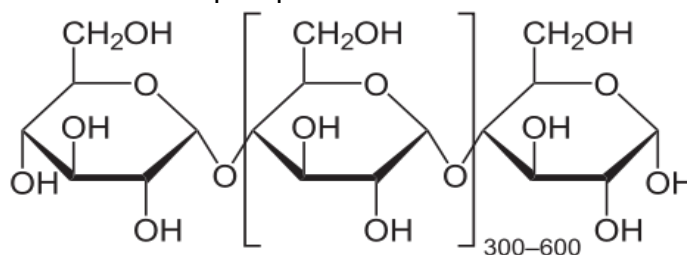
Un altro tipo di legame si trova negli zuccheri vegetali di sostegno come il CELLOBIOSIO, presenta infatti un legame beta glicosidico che dà alla struttura del disaccaride una resistenza notevole e soprattutto la non digeribilità (non possediamo beta glicosidasi).

POLISACCARIDI: si tratta di forme polisaccaridiche generate da polimerizzazione di mono e disaccaridi per formazione di legami O glicosidici, in particolare:

AMIDO: si tratta del polimero tipicamente sintetizzato dalle piante e presenta una struttura bipartita in:

- AMILOSI: si tratta di una struttura lineare di molecole di glucosio legate fra loro tramite legame glicosidico alfa 1 → 4:
si tratta di una struttura non lineare come emerge dall'immagine, caratterizzata anzi da:
 - STRUTTURA ELICOIDALE rigida.
 - PRESENZA DI LEGAMI AD IDROGENO sia intramolecolari sia extramolecolari.
- AMILOPECTINA: si tratta di una struttura simile a quella dell'amilosio, presenta però una struttura bipartita caratterizzata da:
 - COMPONENTE LINEARE: si tratta di una struttura identica a quella dell'amilosio e quindi avvolta in senso elicoidale.
 - COMPONENTE DIRAMATA: si tratta della componente che origina da diramazioni della struttura ad essa agganciate tramite legame glicosidico alfa 1 → 6; queste diramazioni hanno una frequenza di circa una ogni 30 unità monosaccaridiche.

La presenza di queste diramazioni va ad influire sul livello di solubilità della molecola: la presenza di diramazioni satura i legami ad idrogeno disponibili a livello molecolare, l'affinità con l'acqua quindi diminuisce.



GLICOGENO: si tratta di una struttura molto simile a quella dell'amilopectina ma dotata di diramazioni molto più frequenti, circa ogni 5-10 unità monomeriche di glucosio, questo dona alla struttura:

- estrema compattezza.
- Grande peso molecolare.
- Bassa solubilità.

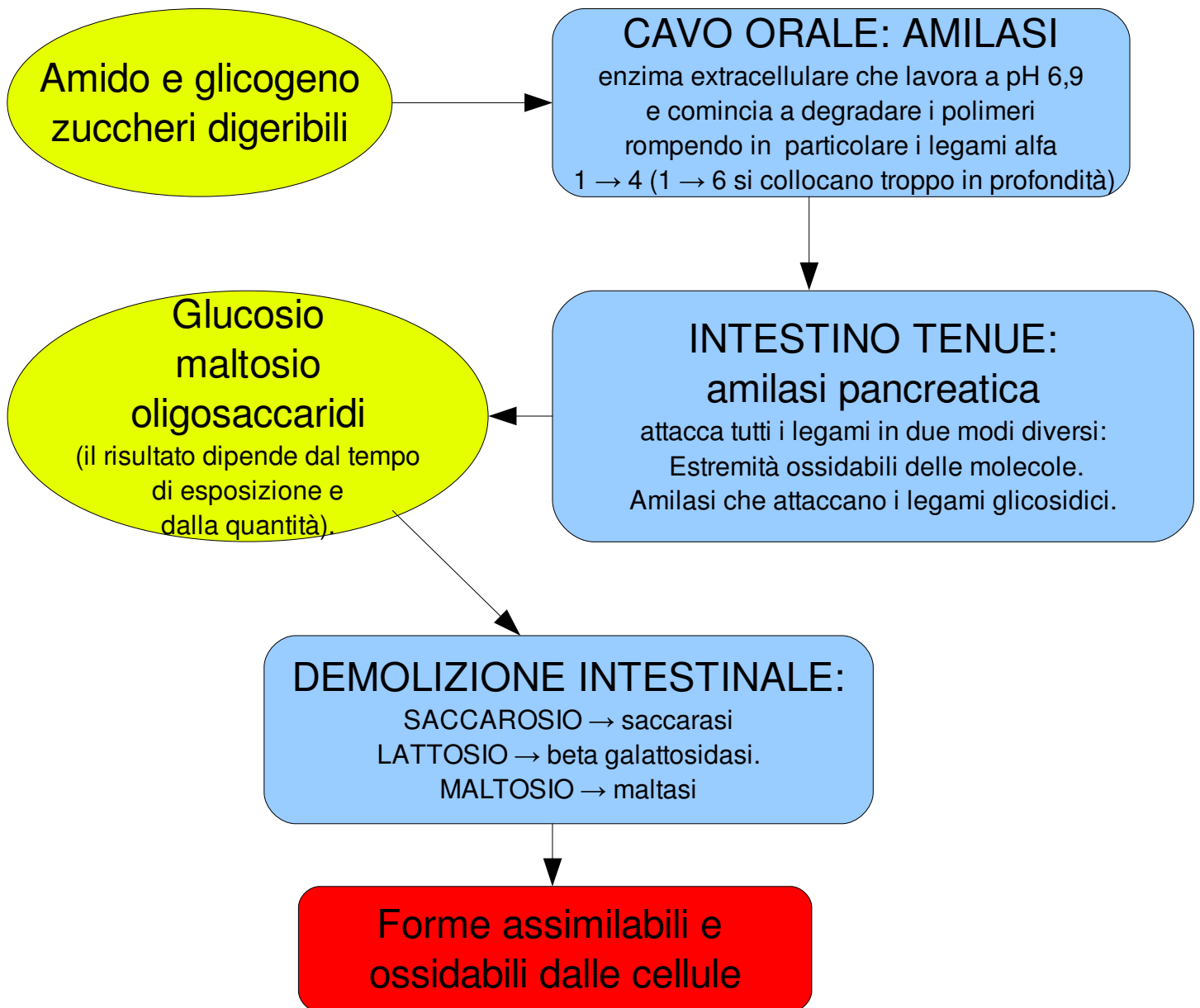
Trattandosi della tipica forma di riserva energetica del nostro organismo, nel medesimo volume occupato da tale molecola risiedono enzimi anabolici e catabolici funzionali all'utilizzo e alla costruzione del glicogeno stesso, questo aspetto rende la molecola estremamente dinamica.

CELLULOSA: si tratta di un polimero di cellobiosio utilizzato dalle piante come forma di sostegno, si tratta infatti di un polimero estremamente compatto.

DERIVATI DEI MONOSACCARIDI:

1. ZUCCHERI OSSIDATI: si tratta di zuccheri che hanno subito processi di ossidazione, si riconoscono tre casi possibili:
 1. OSSIDAZIONE IN C6 = trasformazione del gruppo alcolico in carbossile, si tratta di ACIDI URONICI presenti in particolar modo nei glicosamminoglicani.
 2. OSSIDAZIONE IN C1 = trasformazione del gruppo aldeidico in gruppo carbossilico, si tratta di ACIDI ONICI.
 3. OSSIDAZIONE IN C6 E C1 = formazione di due gruppi carbossilici alle due estremità della molecola, in particolare vengono definiti ACIDI SACCARICI,
2. ZUCCHERI FOSFORILATI: la fosforilazione è un metodo particolarmente utilizzato dalla cellula per legare ai monosaccaridi un gruppo ionizzato capace di trattenere la molecola nella cellula inibendo il suo passaggio tramite la membrana, tipici esempi di zuccheri fosforilati che partecipano alla glicolisi (processo citosolico) sono:
 1. glucosio 6P.
 2. Fruttosio 6P.
 3. Fruttosio 1,6dP.
3. AMMINOZUCCHERI: si tratta di zuccheri nei quali ad un gruppo alcolico è stato sostituito un gruppo amminico; teoricamente si può amminare qualsiasi gruppo alcolico, ma generalmente, per ragioni enzimatiche, ad amminare è il gruppo alcolico legato al carbonio2. Sovente al gruppo amminico viene anche associato un acile, molto spesso l'acetile, ottenendo così una ulteriore modificazione. Molto presente in natura il Nacetil2deossi2ammino glucosio o Nacetil glucosammina.

IL CATABOLISMO DEGLI ZUCCHERI: gli zuccheri vengono ingeriti a livello orale e vengono quindi demoliti tramite la digestione fino a forme ossidabili da parte della cellula, in particolare:



TRASPORTO DEI NUTRIENTI NELLE CELLULE: si tratta di un meccanismo di trasporto che sfrutta la presenza di numerose proteine carrier e di membrana capaci di portare glucosio dall'esterno all'interno della cellula, tipologia del trasportatore ed efficienza variano inevitabilmente da tessuto a tessuto e in base alla concentrazione ematica di glucosio; ogni trasportatore ha una sua K_m e una sua capacità:

- **LIVELLO EPATICO:** il processo deve essere rapido ad alte concentrazioni e divenire inattivo in carenza di glucosio nel sangue, in particolare quindi il trasportatore avrà una K_m piuttosto elevata.
- **LIVELLO TISSUTALE:** il glucosio deve essere presente costantemente, i trasportatori in un ambito del genere lavoreranno con K_m decisamente piccole.

Si tratta di meccanismi funzionali a **GARANTIRE LA RAGIONATA DISTRIBUZIONE DELLE ENERGIE A LIVELLO DI TUTTO L'ORGANISMO.**

MECCANISMI DI PRODUZIONE DI ENERGIA METABOLICA:

LA GLICOLISI: In ogni cellula, aerobia o anaerobia che sia, il primo (o unico per alcuni organismi) passo per la produzione di energia è la GLICOLISI, processo capace di trasformare GLUCOSIO in PIRUVATO, questo composto segue poi diverse vie metaboliche:

- ANAEROBIOSI: in scarsa presenza di ossigeno o il composto rimane come tale o viene ridotto ad acido lattico (questo avviene nei nostri muscoli in alcuni casi).
- AEROBIOSI: con formazione di acetil coenzima A che entra nel ciclo di Krebs per produrre quindi anidride carbonica e acqua.
- ETANOLO viene prodotto da alcuni organismi tramite appositi enzimi.

In ogni caso in TUTTE LE CELLULE LA GLICOLISI È UN PROCESSO FONDAMENTALE, non si produce in alcun modo energia senza glicolisi (anche il globulo rosso ne è dotato).

Questo processo avviene nel CITOSOL, tutti gli enzimi glicolitici lavorano a livello citosolico.

I FASE:

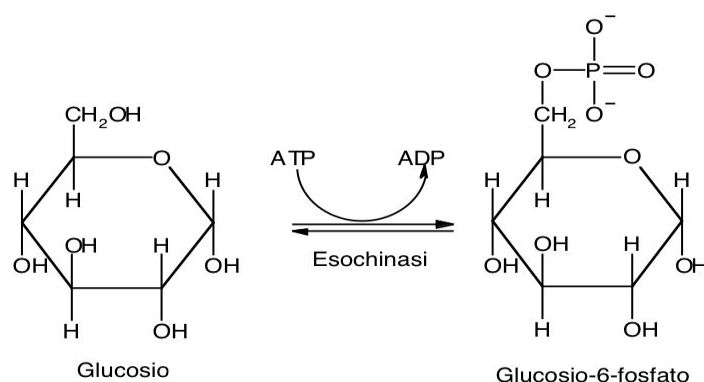
anzitutto è necessario costringere il glucosio a restare nella cellula impedendo la sua filtrazione fuori dalla membrana.

FOSFORILAZIONE DEL GLUCOSIO:

Si tratta di una semplice reazione di fosforilazione che coinvolge ovviamente il consumo di una molecola di ATP che perde il fosfato e diviene ADP, la fosforilazione è eseguita da una ESOCINASI (chinasi che fosforila uno zucchero esoso).

Questa reazione avviene unicamente in presenza di Mg^{++} e Mn^{++} che sono ioni che tipicamente accompagnano l'ATP a livello citosolico associati alle sue cariche negative = COFATTORI.

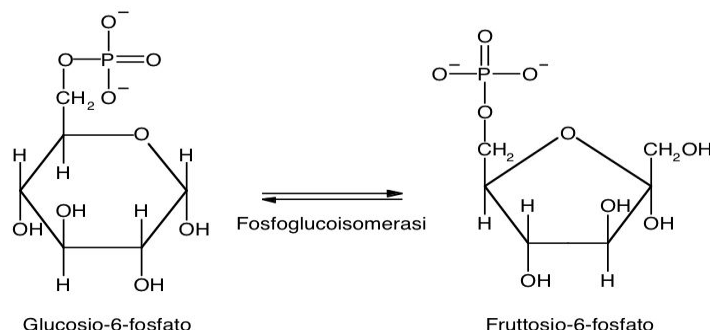
La reazione di per se è reversibile, ma la situazione di equilibrio è tale che la reazione è sbilanciata verso destra, inoltre a livello chimico il prodotto viene continuamente sottratto per procedere nella via metabolica, di conseguenza la reazione va di fatto a completamento.



TRASFORMAZIONE DEL GLUCOSIO 6P IN FRUTTOSIO 6P:

La trasformazione del glucosio in fruttosio richiede la presenza dell'enzima FOSFO GLUCOSO ISOMERASI che opera ben tre azioni:

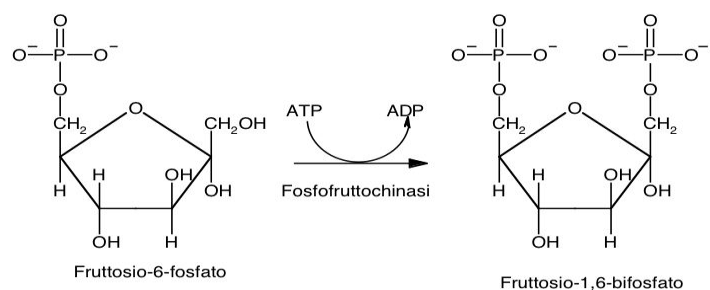
- apre la forma ciclica del glucosio sei fosfato.
- Trasforma il glucosio sei fosfato in fruttosio sei fosfato (ISOMERASI).
- Ciclizza il fruttosio sei fosfato.



FOSFORILAZIONE DEL FRUTTOSIO:

Anche questa reazione, come la precedente fosforilazione, è irreversibile, si generano così molecole di Fruttosio 1,6 difosfato.

CONSUMO DI UN ULTERIORE MOLECOLA DI ATP: in questo caso la fosforilazione non è funzionale al solo mantenimento della molecola nella cellula, ma anche a fornire un PUNTO DI REGOLAZIONE ALLOSTERICA DELLA VIA METABOLICA che in questo modo si autoregola.



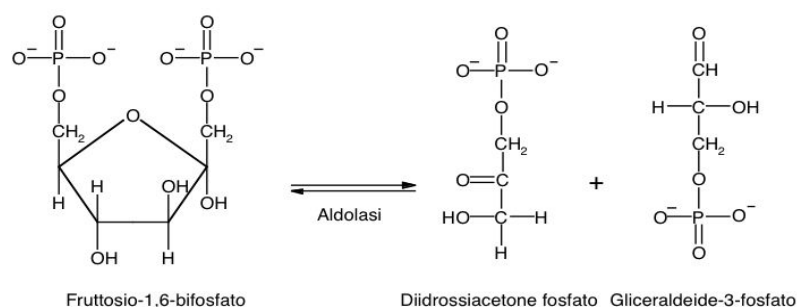
II FASE:

a questo punto è necessario rompere la molecola in parti più piccole per avvicinarsi alla forma di PIRUVATO.

ROTTURA DEL FRUTTOSIO BIFOSFATO:

In questo caso l'enzima che entra in azione è la ALDOLASI (così chiamata perché la reazione inversa è una condensazione aldolica). questo enzima divide la molecola in due parti:

- DIIDROSSIACETONE FOSFATO: generato dalla parte superiore della molecola.
- GLICERALDEIDE 3-FOSFATO: generata invece dalla parte inferiore della molecola per ossidazione del carbonio 4 che diviene un carbonio carbonilico.



La particolarità di questo tipo di reazione è il fatto che, grazie ad un fenomeno di natura TAUTOMERICA, fra i due prodotti si instaura un equilibrio che porta ad un rapporto di questo tipo: 96% diidrossiacetone fosfato contro 4% gliceraldeide 3 fosfato.

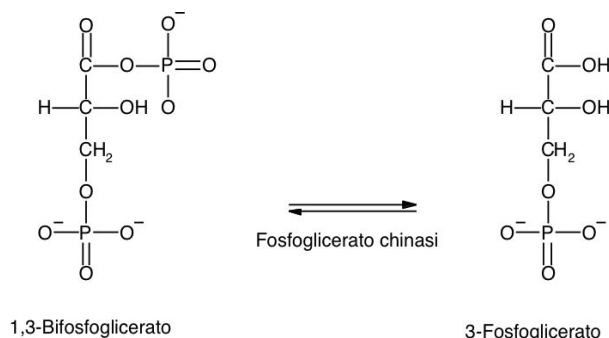
Il nostro organismo tuttavia utilizza la gliceraldeide tre fosfato, questa viene immediatamente prelevata per proseguire la via metabolica, in questo modo viene stimolata la reazione di trasformazione del diidrossiacetone in gliceraldeide, VENGONO quindi DI FATTO con il tempo PRODOTTE DUE MOLECOLE DI GLICERALDEIDE TRE FOSFATO; inoltre interviene l'enzima TRIOSO P ISOMERASI che accelera il processo di raggiungimento dell'equilibrio.

FORMAZIONE DEL 1,3 DIFOSFOGLICERATO TRAMITE OSSIDAZIONE:

In questo caso assistiamo ad un fenomeno di fosforilazione che non necessita di ATP per funzionare, semplicemente l'energia SPRIGIONATA DAL FENOMENO DI OSSIDAZIONE, grazie al coenzima NAD⁺ e in presenza di un fosfato inorganico libero, È SUFFICIENTE A GARANTIRE LA FOSFORILAZIONE dell'ossigeno dell'ossidril del carbossile del glicerato. Questo composto presenta caratteri particolari:

- il fosfato legato al gruppo carbossilico è legato tramite LEGAME ANIDRICO.
- La molecola è piccola ma ha una energia di idrolisi tale da rendere POSSIBILE LA FOSFORILAZIONE DELL'ATP = fosforilazione a livello del substrato.

Se inoltre si pensa che per ogni molecola di glucosio abbiamo ottenuto due molecole di gliceraldeide e quindi due molecole di bifosfoglicerato ABBIAMO A QUESTO PUNTO RECUPERATO L'ENERGIA SPESA IN PRECEDENZA per fosforilare fruttosio e glucosio.

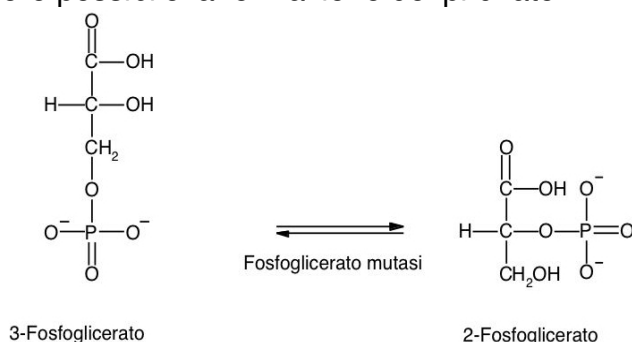


FORMAZIONE DI ATP.

III FASE:

TRASFORMAZIONE DEL 3-FOSFOGLICERATO IN 2-FOSFOGLICERATO:

Si ha semplicemente lo spostamento del fosfato in una posizione adiacente per l'intervento di un enzima apposito detto FOSFOGLICERATO MUTASI, questo passaggio è fondamentale per rendere possibile la formazione del piruvato.

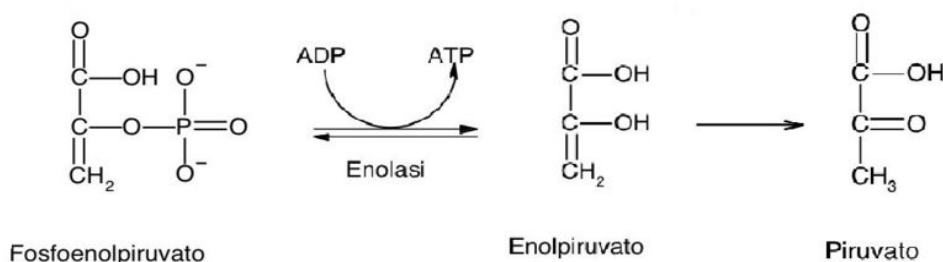


DISIDRATAZIONE CON FORMAZIONE DI FOSFOENOLPIRUVATO:

Una ENOLASI provoca la fuoriuscita di acqua formatasi dal gruppo ossidrilico del carbonio tre e dall'idrogeno del carbonio due e porta alla formazione del FOSFOENOLPIRUVATO, composto caratterizzato dalla presenza di un doppio legame fra i carboni due e tre.

FORMAZIONE DEL PIRUVATO:

anche il FOSFOENOLPIRUVATO è una molecola dotata di grande energia idrolitica per quanto riguarda il legame fosfoestereo, si tratta di una molecola piccola e dotata di molti centri elettronici (presenza di due atomi di ossigeno del carbossile e di una densità elettronica forte sul doppio legame): ASSISTIAMO DI NUOVO AD UN FENOMENO DI FOSFORILAZIONE A LIVELLO DEL SUBSTRATO.



Il bilancio energetico complessivo della via metabolica è il seguente:

REAGENTE	PRODOTTO	ENERGIA
glucosio	Glucosio 6P	-1ATP
Fruttosio 6P	Fruttosio 1,6dP	-1ATP
2 1,3-difosfoglicerato	2 2,3difosfoglicerato	+2ATP
2 fosfoenolpiruvato	2 piruvato	+2ATP
totale		+2 ATP

Il bilancio energetico di questa via metabolica è tale da essere sufficiente a garantire la sopravvivenza per alcune cellule.

L'ossidazione della gliceraldeide 3 fosfato a 2,3-difosfoglicerato è un processo NAD^+ dipendente, come tale necessita di NAD^+ che deve, di conseguenza, essere sempre disponibile: per impedire che tale sostanza non sia presente, semplicemente la cellula sfrutta una reazione di questo tipo:

$\text{NADH} + \text{PIRUVATO} \rightarrow (\text{riduzione}) \rightarrow \text{LATTATO} + \text{NAD}^+$

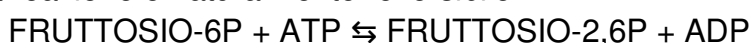
IL CONTROLLO DELLA VIA METABOLICA: è necessario e indispensabile controllare la via metabolica della glicolisi in più punti, l'attività di questa via DEVE ESSERE CONTROLLATA in modo molto preciso dalla cellula per garantire la sua stessa sussistenza; i punti di interesse sono segnalati nello schema a fianco.

I tre punti di controllo non sono casuali:

- $\text{GLUCOSIO} \rightarrow \text{GLUCOSIO6P}$: blocco l'origine della via metabolica.
- $\text{FRUTTOSIO 6P} \rightarrow \text{FRUTTOSIO1,6dP}$: blocco in questo caso il possibile inserimento diretto di zuccheri diversi dal glucosio.
- $\text{FOSFOENOLPIRUVATO} \rightarrow \text{PIRUVATO}$: controllo la fase finale della reazione.

Un metodo particolare di controllo è sicuramente relativo alla reazione di trasformazione del fruttosio6P in fruttosio1-6P (secondo blocco):

il composto chimico in grado di attivare la reazione che trasformi il fruttosio6P in fruttosio1,6dP è un ulteriore derivato del fruttosio: IL FRUTTOSIO 2,6dP. Questo composto viene ottenuto naturalmente tramite una reazione enzimatica a partire dal fruttosio6P; questa reazione è naturalmente reversibile:



Le due reazioni di fosforilazione e di defosforilazione sono catalizzate da due enzimi diversi:

- FOSFORILAZIONE = FOSFOFRUTTOCHINASI 2 (diversa dalla fosfofruttochinasi 1)
- DEFOSFORILAZIONE = FRUTTOSIO-2,6 BIFOSFATASI (che è una idrolasi).

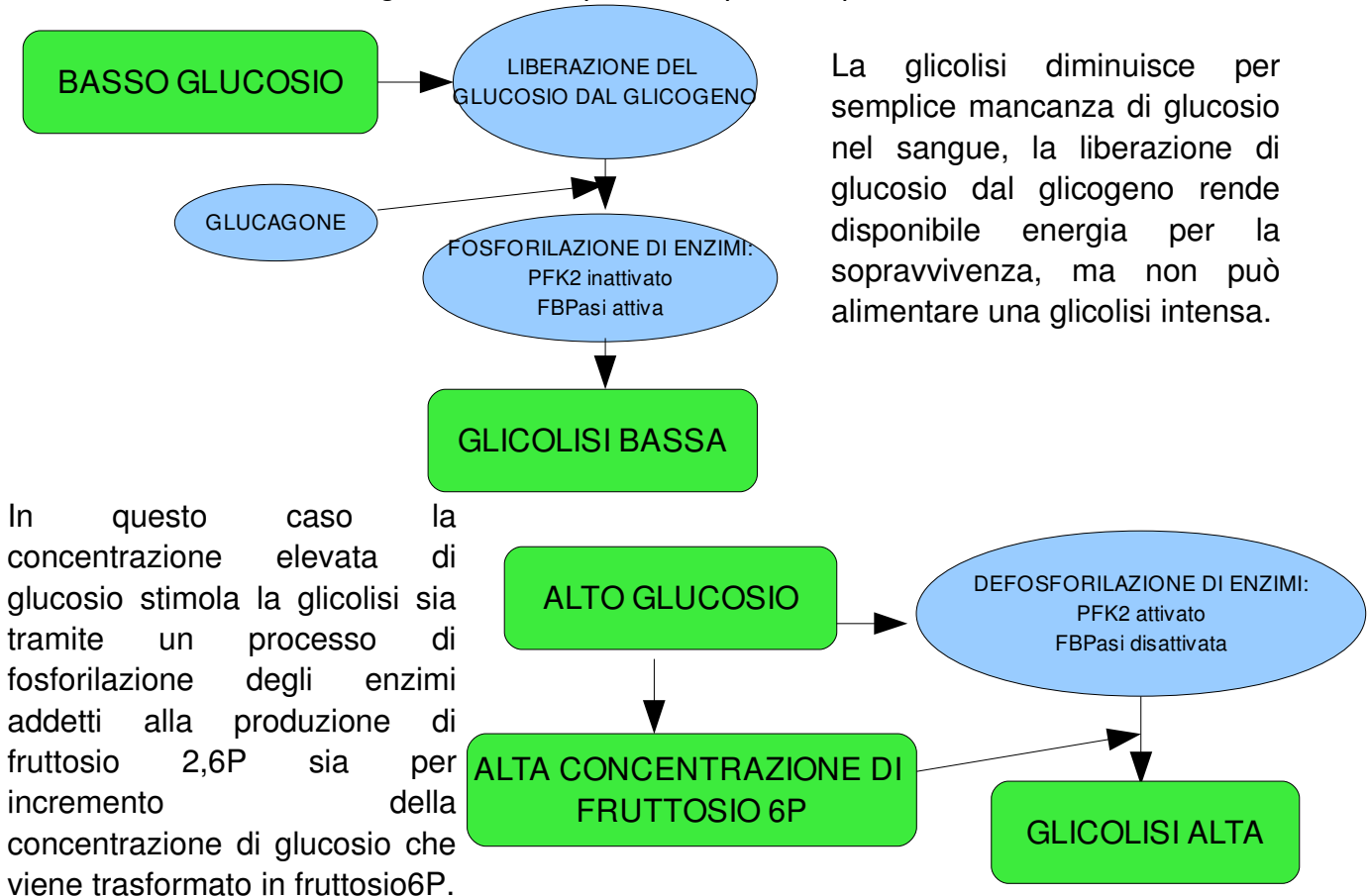
All'operato di questi due enzimi è affidata di fatto la regolazione del processo glicolitico di produzione del fruttosio-1,6 difosfato; la loro attività è REGOLATA TRAMITE FOSFORILAZIONE:

- FOSFORILAZIONE =
 - attivazione FBPasi (fruttosio-2,6dP bifosfatasi) $\rightarrow$ PRODUZIONE di fruttosio6P

da fruttosio difosfato, INIBIZIONE DELLA VIA METABOLICA.

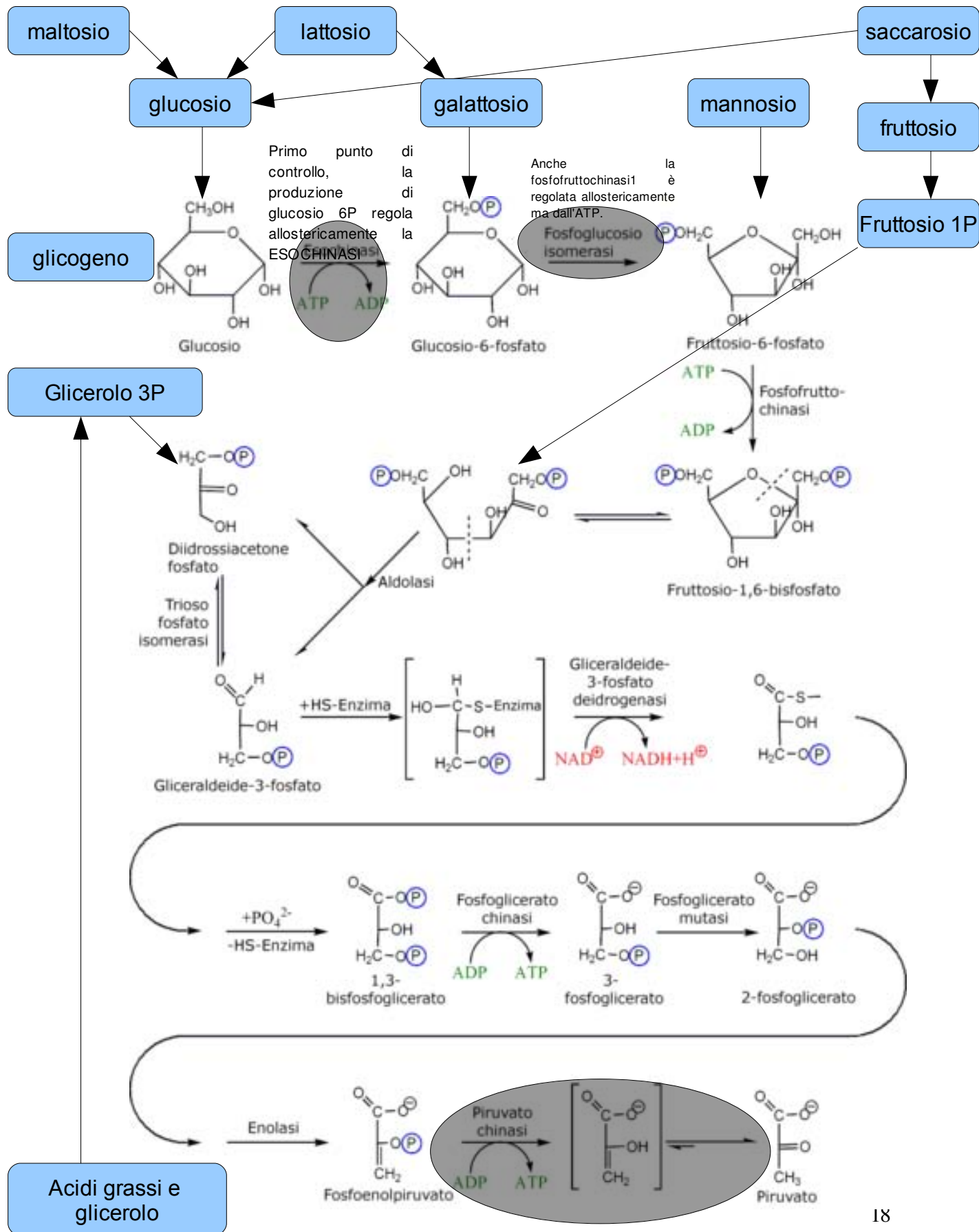
- Disattivazione PFK2 (fosfofruttochinasi 2) → NON PRODUZIONE di fruttosio2,6 difosfato, INIBIZIONE DELLA VIA METABOLICA.
- DEFOSFORILAZIONE =
 - attivazione PFK2 → PRODUZIONE di fruttosio2,6 difosfato, ATTIVAZIONE DELLA VIA METABOLICA.
 - Disattivazione FBPasi → NON PRODUZIONE di fruttosio6P da fruttosio difosfato, ATTIVAZIONE DELLA VIA METABOLICA.

Quindi il meccanismo di regolazione complessivo opera in questo modo:



È essenziale la presenza di numerosi punti di controllo per la glicolisi anche perché l'ingresso di metaboliti nella via di produzione del piruvato è molto variabile: metaboliti diversi possono inserirsi in punti e momenti diversi nella catena; tutti i glucidi o quasi tutti possono entrare nel meccanismo della glicolisi, risulta quindi necessario inserire dei punti di regolazione distribuiti nel corso della glicolisi stessa.

SCHEMA GENERALE DELLA GLICOLISI:



Ultimo punto di controllo allosterico, controlla l'ultima reazione del processo; reagisce alla presenza di ATP e CoA

INSERIMENTO DI ALTRI ZUCCHERI NELLA VIA GLICOLITICA: i monosaccaridi che entrano nel ciclo glicolitico subiscono una serie di trasformazioni per divenire uno degli intermedi del ciclo stesso; un esempio tipico è sicuramente quello del GALATTOSIO che entra nella glicolisi direttamente come GLUCOSIO 6P; il processo della trasformazione procede per stadi:

FOSFORILAZIONE DEL GALATTOSIO: Il galattosio viene fosforilato in posizione uno per idrolisi di una molecola di ATP, in questo modo è garantita la sua permanenza a livello cellulare.

- **ATTIVAZIONE DEL GALATTOSIO:** il galattosio deve essere attivato per essere trasformato in glucosio; per fare questo è necessario legare al galattosio un nucleotide, UDP: questo rende la molecola molto più reattiva e capace di reazioni altrimenti impossibili. In generale la forma ATTIVATA di uno zucchero è la sua forma URIDINATA; la reazione avviene in questo modo:
IN questo modo abbiamo ottenuto la forma attiva del galattosio.
- **TRASFORMAZIONE DEL URIDIN GALATTOSIO IN GLUCOSIO1P:**
si tratta di una reazione mediata da una EPIMERASI che trasforma il galattosio attivato in glucosio; in particolare la reazione porta alla formazione di un GLUCOSIO 1P, quindi non adatto ad entrare nel processo glicolitico; il processo di trasformazione provoca ovviamente l'idrolisi dell'uridina.
- **TRASFORMAZIONE DEL GLUCOSIO1P in GLUCOSIO6P:**
reazione catalizzata da una MUTASI che trasferisce il gruppo fosfato dal carbonio 1 al carbonio 6.

A questo punto lo zucchero è pronto per entrare nella glicolisi; questo processo così complesso consente un fine controllo dell'accesso del galattosio alla glicolisi; processi simili vengono utilizzati per altri monosaccaridi proprio al fine di controllare al meglio il meccanismo di ingresso alla glicolisi di fonti energetiche alternative al glucosio.

FORME ALTERNATIVE DI UTILIZZO DI INTERMEDI DELLA GLICOLISI: anche queste vie sono fondamentali per il controllo del livello di produzione di ATP e piruvato:

- GLUCOSIO 6P → via dei pentoso fosfato → formazione di NUCLEOTIDI.
- FRUTTOSIO 6P → amminozuccheri, che poi possono entrare a far parte di strutture glicoproteiche e glicolipidiche.
- DIIDROSSI ACETONE FOSFATO → tramite riduzione NADH(H⁺) dipendente può essere trasformato in glicerolo 3fosfato ed entrare a far parte del meccanismo di sintesi dei lipidi (è uno dei sistemi shuttle di comunicazione citosol-mitocondrio).
- 1,3 DIFOSFO GLICERATO → 2,3 difosfo glicerato essenziale per la regolazione dell'affinità della emoglobina per l'ossigeno.
- FOSFOENOL PIRUVATO → che può entrare nei cicli di produzione di:
 - AMMINOACIDI AROMATICI.
 - ASPARTATO.
 - PIRIMIDINE.
- PIRUVATO → alanina, amminoacido essenziale.

UTILIZZO ERITROCITARIO DELL'1,3 DIFOSFOGLICERATO: come già sottolineato il 2,3 difosfoglicerato è una molecola essenziale nell'eritrocita per la regolazione dell'affinità dell'emoglobina con l'ossigeno; nell'eritrocita quindi l'intermedio suo precursore, l'1,3

difosfoglicerato, subisce un destino particolare:

- **USCITA DAL CICLO GLICOLITICO:** una semplice **MUTASI** trasferisce il fosfato in posizione 1, legato con legame anidrico, in posizione 2, in questo modo si ottiene la molecola di 2,3 difosfoglicerato essenziale per il funzionamento della emoglobina.
- **REINGRESSO NEL CICLO GLICOLITICO:** il processo di reinserimento prevede semplicemente la scissione del legame con il fosfato in posizione 2 e il reintegro della molecola nella glicolisi in forma di 3-fosfoglicerato. A catalizzare questo tipo di reazione è la **2,3 DIFOSFOGLICERATO FOSFATASI**.

La presenza di problemi a livello della glicolisi può portare a diversi problemi a livello eritrocitario:

1. **BLOCCO A MONTE** della reazione di formazione del 1,3 difosfoglicerato: non è presente abbastanza difosfoglicerato, la molecola proteica ha una affinità eccessiva con l'ossigeno che non viene più rilasciato a livello tissutale.
2. **BLOCCO A VALLE** della reazione di formazione del 1,3 difosfoglicerato: in questo caso si ha una forma di accumulo di intermedi della glicolisi che non vengono smaltiti e una conseguente sovrapproduzione di 2,3 difosfoglicerato che porta ad un abbassamento della affinità dell'emoglobina con l'ossigeno e quindi ad una difficoltà a legarne le molecole.

IL DESTINO DEL PIRUVATO:

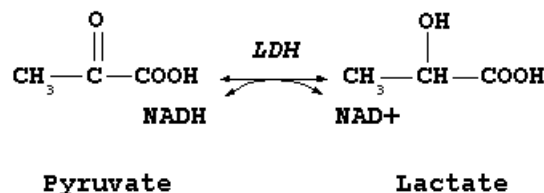
Il piruvato è il prodotto finale della glicolisi, questo può subire diversi destini a seconda della disponibilità di ossigeno e della natura dell'organismo stesso:

ANAEROBIOSI: le possibilità sono due in questo caso:

- **FORMAZIONE DI LATTATO:** reazione che avviene tipicamente in anaerobiosi, in particolare la reazione è la seguente:

si tratta di una semplice reazione di riduzione del carbonile a gruppo alcolico, questo consente alla cellula di **RECUPERARE IL NAD⁺** sfruttato della reazione di ossidazione della gliceraldeide tre fosfato a 1,3 difosfoglicerato.

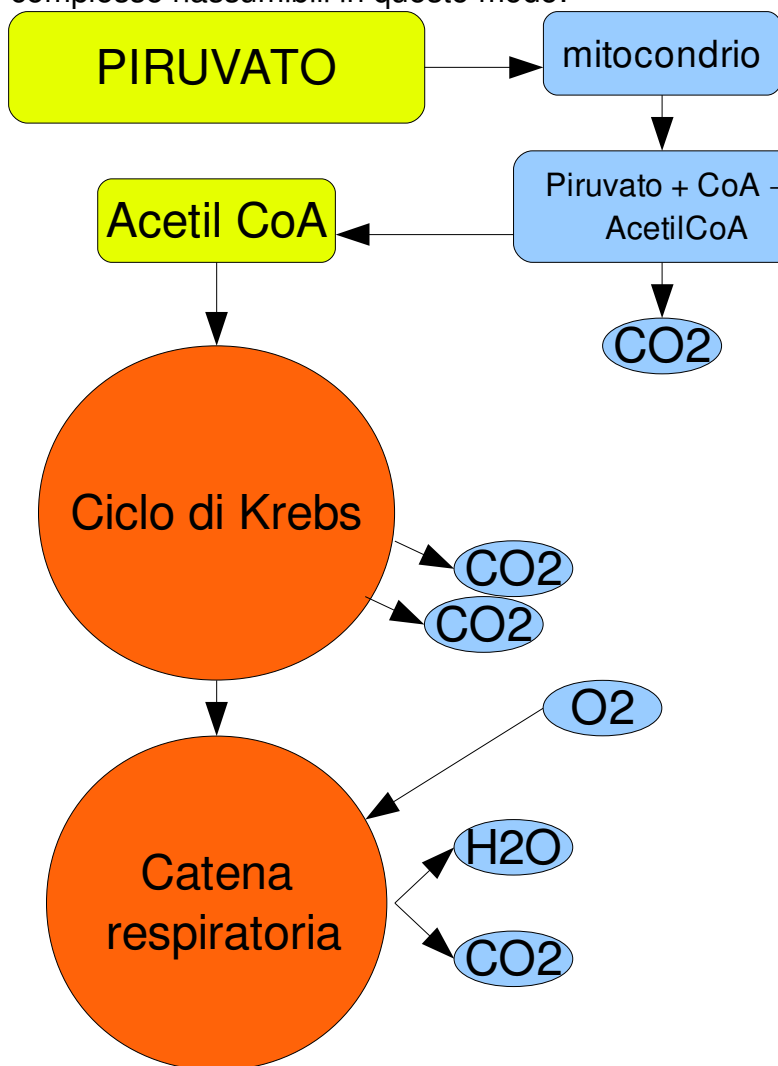
La lattato deidrogenasi è essenziale quindi per il recupero di equivalenti redox nella anaerobiosi, ma nel corpo umano la formazione di lattato non può essere eterna: nei muscoli, in caso di stress in condizione di anaerobiosi, la produzione di acido lattico aumenta considerevolmente, questo si riversa anche fuori dalla cellula in quanto la sua acidità è pericolosa per la cellula stessa; nel momento in cui l'acidità aumenta eccessivamente si arriva al blocco dell'attività muscolare.



- **FORMAZIONE DI ETANOLO:** si tratta di una reazione che avviene in alcuni organismi unicellulari; la reazione in questione è piuttosto semplice: per prima cosa viene decarbossilato il piruvato ad acetaldeide, quindi l'acetaldeide viene **RIDOTTA** ad etanolo; in questo modo:

- CONSUMO UN PROTONE utilizzato per saturare l'uscita di CO₂.
- RECUPERO AGENTE OSSIDANTE tramite la riduzione dell'acetaldeide.

IL DESTINO AEROBICO DEL PIRUVATO: l'obiettivo della cellula è quello di trasformare ogni atomo di carbonio che costituisce la molecola di piruvato in anidride carbonica (massimo livello di ossidazione); il tutto avviene attraverso una serie di reazioni molto complesse riassumibili in questo modo:



Le reazioni in questione avvengono principalmente a livello MITOCONDRIALE e coinvolgono enzimi di varia natura sia legati alla membrana interna del mitocondrio sia presenti a livello del lume dell'organello.

Per poter entrare di fatto nel ciclo di produzione dell'energia è necessario per prima cosa trasformare il PIRUVATO in acetile per legarlo al coenzimaA, anche questa reazione avviene a livello mitocondriale ed è estremamente importante in quanto ad ACETILCoA vengono ricondotti anche numerosi altri composti utilizzabili dalla cellula.

IL PROCESSO DI OTTENIMENTO DELL' ACETIL CoA:

si tratta di un processo molto complesso che coinvolge tre categorie di enzimi diversi e che è capace di trasformare il piruvato in acetile: il complesso enzimatico che catalizza questo tipo di reazione viene definito PIRUVICO DEIDROGENASI ed è composto di tre enzimi diversi:

PIRUVATO DEIDROGENASI o E1 che utilizza come coenzima la TIAMINA PIROFOSFATO.

DIIDROLIPOIL TRANSACETILASI o E2 che utilizza come coenzima la LIPOILAMMIDE.

DIIDROLIPOIL DEIDROGENASI o E3 che utilizza come coenzima il FAD.

Questi tre enzimi si organizzano in sistemi ternari strutturati in modo da rendere più rapido il possibile il processo di trasformazione del piruvato ad acetile; i siti attivi si

passano il substrato in trasformazione.

ACIDO LIPOICO o LIPOATO o vitamina N: si tratta di una molecola costituita da due parti:

- AROMATICA: anello bisostituito con due atomi di zolfo a costituire un ponte solfuro interno dalla molecola stessa, in particolare nella sua azione coenzimatica questo verrà ridotto a due gruppi tiolici.
- ALIFATICA: catena di cinque atomi di carbonio l'ultimo dei quali carbossilico.

Attraverso il gruppo carbossilico la molecola è in grado di formare legami di natura ammidica con residui di LISINA presenti a livello dell'enzima divenendo così LIPOAMIDE; di fatto si comporta come un gruppo prostetico.

La reazione complessivamente avviene in questo modo:

- DECARBOSSILAZIONE OSSIDATIVA: eliminazione di un carbonio del piruvato per ottenere una catena più breve, questo si ottiene utilizzando una DEIDROGENASI che utilizza da TIAMINA PIROFOSFATO come coenzima, si tratta della piruvato deidrogenasi.

Si ottiene così una IDROSSIETIL tiamina pirofosfato che di fatto lega l'acetile mascherato in un gruppo alcolico; in questo modo la molecola è stata deidrogenata e allo stesso tempo decarbossilata così da ottenere di fatto l'acetile che serve. L'ancoraggio alla tiamina pirofosfato come noto è molto labile.

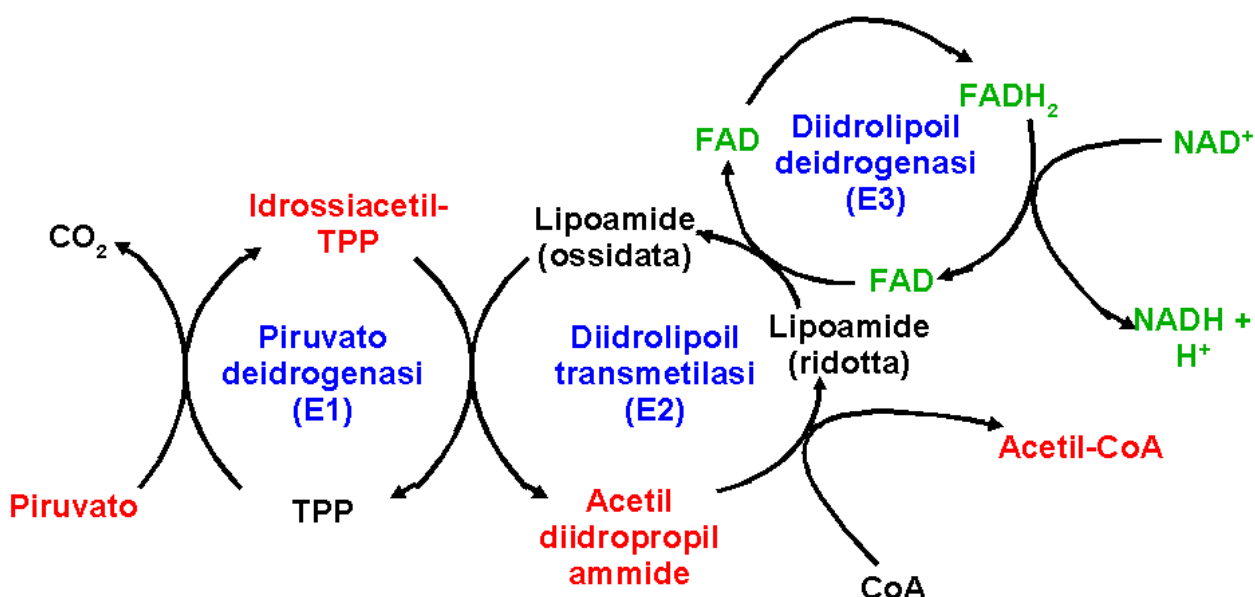
- TRASFERIMENTO DELL'ACETILE SULLA LIPOAMMIDE: in questo caso semplicemente la molecola di tiamina pirofosfato scorre lungo la struttura proteica dell'enzima fino ad incontrare la lipoammide. In pratica la reazione consiste nel trasferimento dell'acetile dal carbonio dell'anello tiazolinico della tiamina pirofosfato ad uno dei due atomi di zolfo che costituivano il ponte disolfuro della lipoamide. L'enzima che catalizza questa operazione è la ancora la PIRUVATO DEIDROGENASI: la formazione del legame di fatto è generata dalla prima deidrogenasi.

- TRASFERIMENTO DELL'ACETILE AL COENZIMA A: si tratta di una reazione facile da eseguire in quanto le molecole di lipoammide e CoA presentano gruppi molto simili: si tratta infatti sempre di gruppi tiolici.

Si tratta di un semplice trasferimento di acetile catalizzato dalla DIIDROLIPOIL TRANSACETILASI.

L'unico problema che resta è la presenza di una molecola di DIIDROLIPOILAMIDE che non è in alcun modo utilizzabile per la reazione, devo quindi ossidare i due gruppi tiolici per ottenere di nuovo acido lipoico:

1. OSSIDAZIONE DELLA DIIDROLIPOAMIDE che avviene grazie ad una deidrogenasi FAD dipendente detta DIIDROLIPOIL DEIDROGENASI.
2. Il FAD ottenuto, che è essenziale per la ciclicità della reazione stessa viene recuperato grazie ad una altra diidrogenasi ma questa volta NAD⁺ dipendente che AGISCE SULLA MOLECOLA DI FADH₂ per ossidarla a FAD accumulando gli equivalenti redox nella molecola di NADH (+H⁺).

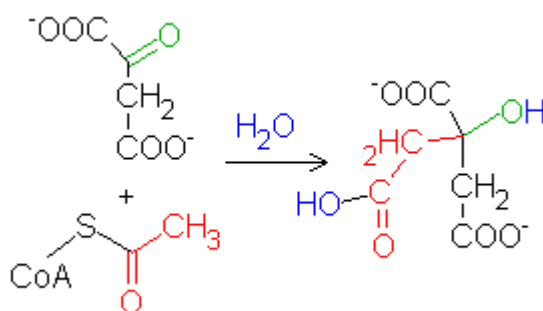


È inoltre importante sottolineare che tramite la CATENA RESPIRATORIA, l'ultima fase della ossidazione aerobica del carbonio, DA UNA MOLECOLA DI NADH si ottengono tre molecole di ATP.

IL CICLO DI KREBS:

si tratta di un ciclo che consente di ottenere tre molecole di NADH, una molecola di FADH₂ e una molecola di ATP. Questo complesso di reazioni avviene nel lume del mitocondrio e sfrutta la presenza di enzimi sia legati alla membrana interna del mitocondrio sia liberi nel lume.

- **SINTESI DEL CITRATO:** si tratta della prima reazione che di fatto rende l'acetile legato al coenzima A capace di entrare nei meccanismi di ossidoriduzione del ciclo di krebs:

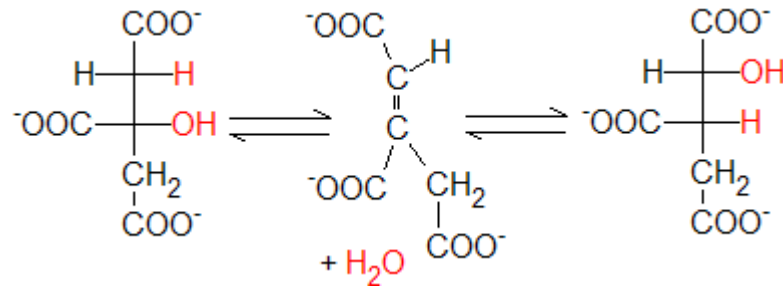


il tutto con ottenimento ovviamente anche della molecola di CoA-SH; un protone viene trasferito dall'acetile per andare a saturare la valenza dell'ossigeno in seguito alla rottura del doppio legame. La reazione è catalizzata dalla CITRATO SINTETASI.

L'OSSALACETATO è un acido molto particolare in quanto deriva di fatto dalla carbossilazione dell'acido piruvico, tuttavia, nella stragrande maggioranza dei casi,

VIENE RECUPERATO alla fine del ciclo di Krebs.

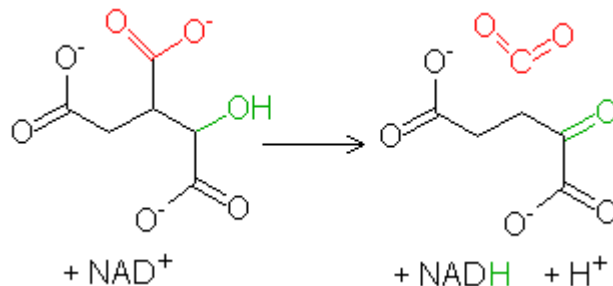
- TRASFERIMENTO DELL'OSSIDRILE DALLA POSIZIONE 3 A 4:



La reazione è catalizzata dalla ACONITASI, un complesso enzimatico che attraverso queste due reazioni riesce a trasferire l'ossidrile sul carbonio quattro formando L'ISOCITRATO. Il passaggio per il composto chiamato cis-aconitato è obbligatorio, ma il composto è estremamente instabile e l'intermedio reagisce con l'acqua dando isocitrato spontaneamente.

- PRIMA OSSIDORIDUZIONE: si tratta in questo caso di una reazione di ossidazione che comporta quindi una decarbossilazione che abbassa il numero di atomi di carbonio da 5 a 4 (isocitrato → alfa chetoglutarato).

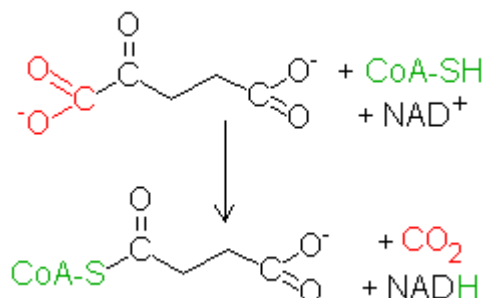
La reazione avviene quindi in due fasi:



- L'ISOCITRATO viene ossidato, l'ossidrile legato al carbonio due della molecola viene trasformato in carbonile ottenendo in questo modo una molecola di NADH e una di ossalsuccinato, un intermedio della reazione, grazie all'enzima ISOCITRATO DEIDROGENASI.
- L'OSSALSUCCINATO viene quindi decarbossilato grazie ad una DECARBOSSILASI che lo trasforma in alfa chetoglutarato; la reazione è di fatto spontanea e favorita dalla presenza dell'enzima.

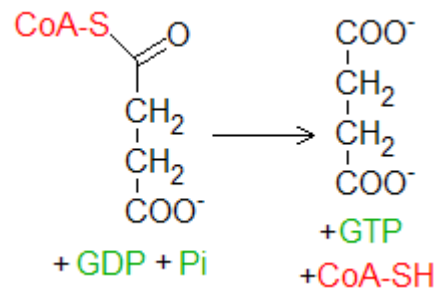
N.B.: il carbonio che viene decarbossilato è un carbonio dell'OSSALACETATO iniziale, non dell'acetile che abbiamo inserito nella reazione.

- SECONDA OSSIDORIDUZIONE: che questa volta elimina il carbossile più vicino al gruppo chetonico:

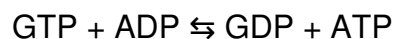


La reazione di decarbossilazione viene favorita dal legame del succinato, che si ottiene tramite decarbossilazione dell'alfa chetoglutarato, con il coenzimaA che diviene quindi succinilCoA. La reazione di ossidazione provoca l'uscita del carbonio carbossilico uno e quindi la formazione di un legame tioestereo fra il coenzimaA e il succinato. Anche in questo caso ottengo una molecola di NADH.

- **IDROLISI DEL SUCCINILCoA:** si tratta di una reazione estremamente importante: l'energia di idrolisi del legame fra il succinile e il coenzimaA è tale da permettere la formazione di una molecola di GTP in presenza di GDP e di fosfato inorganico (presenti a livello mitocondriale):

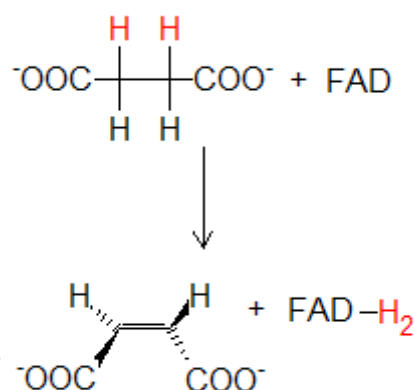


in questo modo si assiste alla formazione di una molecola di GTP equivalente a livello energetico dell'ATP, da questo composto posso ottenere una molecola di ATP con la reazione:



si tratta di una reazione reversibile ma che viene stimolata, come in ogni caso simile, dal consumo del prodotto ATP. La reazione di trasferimento del fosfato è catalizzata dall'enzima NUCLEOSIDEDIFOSFATO CHINASI.

- **DEIDROGENAZIONE DEL SUCCINATO:** si tratta di una reazione utile per due motivi: è necessaria per il recupero dell'ossalacetato e allo stesso tempo produce equivalenti redox:

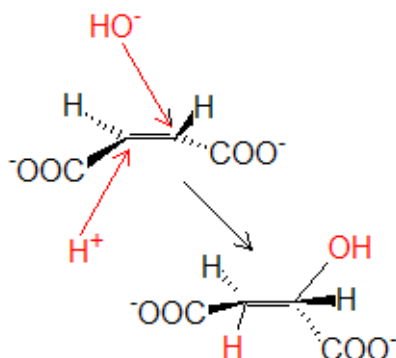


La reazione è catalizzata dalla SUCCINATO DEIDROGENASI che trasforma la struttura del succinato nel fumarato che presenta una insaturazione. Ottengo inoltre una molecola di FADH2 che verrà poi utilizzata nella catena respiratoria per ottenere 2 molecole di ATP.

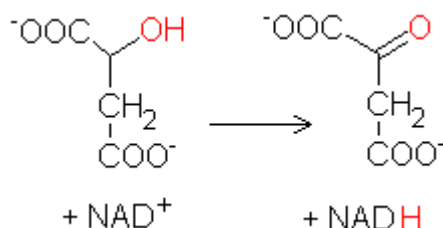
- **IDRATAZIONE DEL FUMARATO A MALATO:** si tratta di una reazione di

idratazione che va ad attaccare l'insaturazione della molecola:

Si ottiene così un idrossi diacido carbossilico che può subire un ulteriore processo di ossidazione:



- **DEIDROGENAZIONE DEL MALATO A OSSALACETATO:**



Interviene quindi ancora una deidrogenasi, la **MALICO DEIDROGENASI** che:

- RECUPERA LA MOLECOLA DI OSSALACETATO essenziale per l'ingresso della molecola nel processo del ciclo di Krebs.
- OTTIENE una molecola di NADH utile per ottenere ATP grazie alla catena respiratoria.

BILANCIO COMPLESSIVO DELLE REAZIONI:

REAZIONE	PRODOTTI energeticamente utili
Formazione di acetilCoA	1 NADH
Ciclo di Krebs	3 NADH 1 ATP 1 FADH2

IL CICLO DI KREBS O DELL'ACIDO CITRICO è ancora qualcosa di intermedio, non è lo stadio finale del processo di ossidazione degli zuccheri, serve principalmente a TRASFERIRE EQUIVALENTI REDOX DAL GLUCOSIO A NADH E FADH2, il tutto è infatti riassumibile in questo modo:

$\text{AcetilCoA} + 3\text{NAD}^+ + \text{FAD} + \text{GDP} + \text{Pi} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CO}_2 + 3\text{NADH}(\text{H}^+) + \text{FADH}_2 + \text{GTP} + \text{CoASH} + 2\text{H}^+$
Dalle molecole funzionali all'accumulo di equivalenti viene ovviamente poi ricavata energia con un bilancio di questo tipo:

- $\text{NADH}(\text{H}^+) \rightarrow 3\text{ATP}$
- $\text{FADH}_2 \rightarrow 2\text{ATP}$

È inoltre importante sottolineare come l'**NADH** citosolico non entri nel mitocondrio direttamente, ma subisca destini diversi:

1. VIENE SMALTITO NEL CITOSOL per recuperare coenzima ossidato per la glicolisi.
2. VIENE TRASFERITO AL MITOCONDRIO in questi due modi:
 1. trasferendo l'equivalente ad una molecola di NAD^+ tramite il sistema shuttle ossalacetato-aspartato.
 2. Trasferendo l'equivalente ad una molecola di FAD tramite il sistema shuttle del glicerolo.

I PUNTI DI CONTROLLO DEL CICLO DI KREBS: il meccanismo complessivo della reazione è piuttosto complesso e sono quindi necessari per garantire il controllo della via metabolica numerosi punti di controllo classificabili in:

INIBITORI: si tratta di punti attraverso i quali viene inibita la via metabolica, questo avviene in presenza di eccesso di energia ($\text{C.E.} > 0,8$):

- **PIRUVATO $\rightarrow$ ACETIL CoA**
Bloccare la reazione nel suo principio può essere fondamentale in caso di sovrapproduzione di energia (quando la carica energetica della cellula supera lo 0.8 circa), nella trasformazione del piruvato ad acetato legato al coenzima A sono coinvolti numerosi enzimi alcuni dei quali rispondono ad inibizione allosterica di:
 - AcetilCoA.
 - NADH.
 - ATP.
- **ACETIL CoA + OSSALACETATO $\rightarrow$ CITRATO**
In particolare l'enzima CITRATO SINTETASI viene inibito da:
 - ATP.
 - Succinil CoA.
- **ISOCITRATO $\rightarrow$ ALFA CHETOGLUTARATO**
anche in questo caso la isocitrato deidrogenasi viene inibita da:
 - NADH (H^+).
 - ATP.
- **ALFA CHETOGLUTARATO $\rightarrow$ SUCCINIL CoA**
La alfachetoglutarato deidrogenasi viene inibita da:
 - SUCCINIL CoA.
 - NADH (H^+).
 - ATP.

Esistono anche forme di controllo a livello di stimolazione, in particolare ricordiamo:

- **PIRUVATO $\rightarrow$ ACETIL CoA**
la reazione viene stimolata dalla presenza di:
 - CoA.
 - NAD^+
- **ISOCITRATO $\rightarrow$ ALFA CHETOGLUTARATO**
in questo caso la isocitrato deidrogenasi viene stimolata da:
 - ADP.
 - NAD^+ .

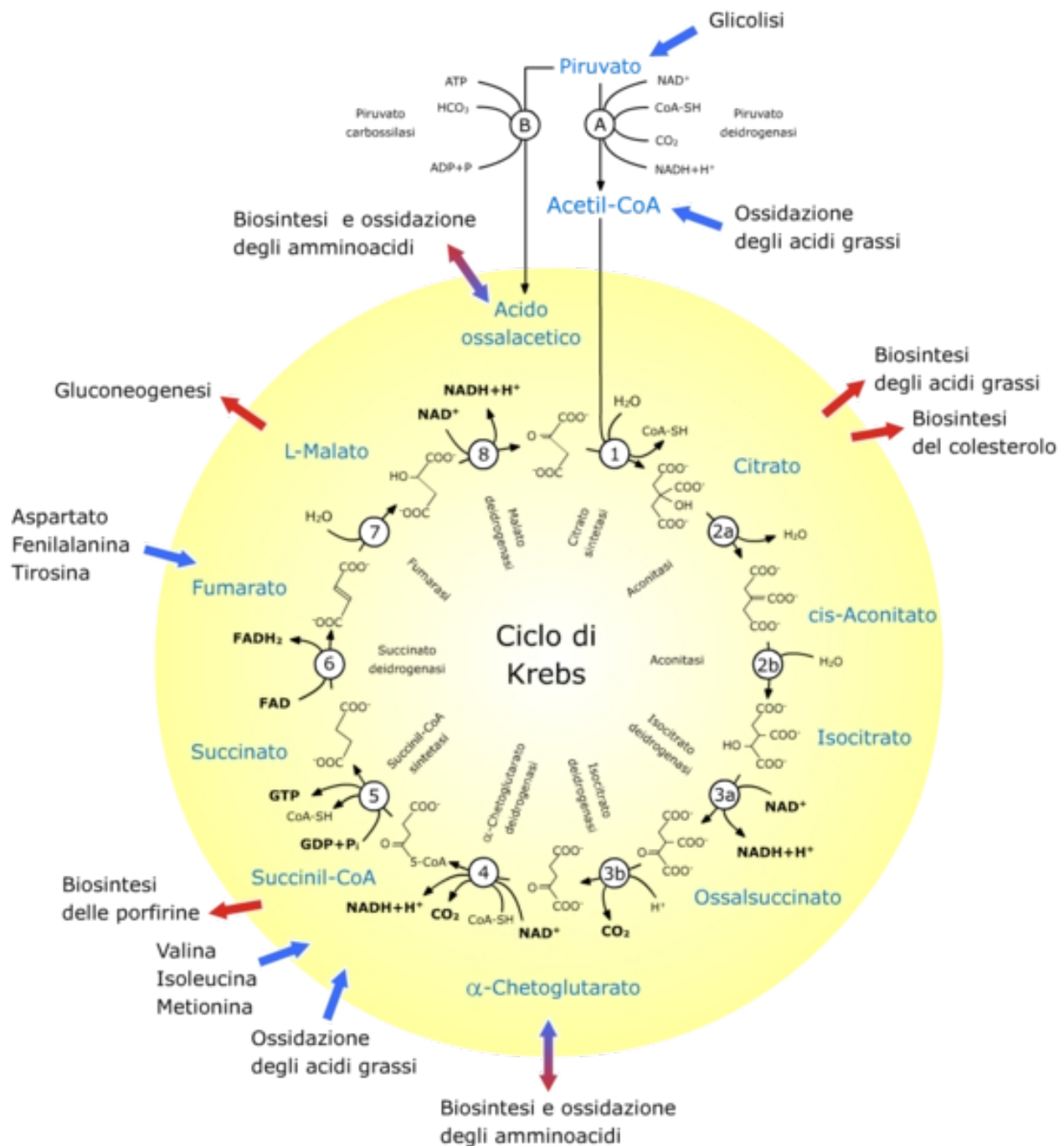
Questi meccanismi allosterici consentono una regolazione molto fine della attività energetica del ciclo di krebs, questi meccanismi sono sempre relativi a reazioni molto

importanti a livello del ciclo stesso e coinvolgono spesso DEIDROGENASI e fenomeni di DECARBOSSILAZIONE, sono inoltre molto spesso irreversibili.

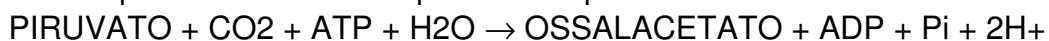
Altra possibile forma di controllo della attività del ciclo di krebs è sicuramente l'utilizzo di forme intermedie del ciclo per alimentare altre vie metaboliche:

- IN ENTRATA: possono entrare nel ciclo di krebs numerosissimi composti diversi, in particolare gli amminoacidi possono essere deaminati e quindi entrare nel ciclo di krebs in punti diversi a seconda della loro composizione chimica.
- IN USCITA: numerosi metaboliti possono uscire dal ciclo per partecipare ad altre vie metaboliche.

Alcuni esempi si possono trovare in questo schema:



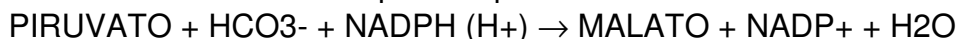
Altra importante forma di controllo sono le REAZIONI DI RIEMPIMENTO O ANAPLEROTICHE, si tratta di reazioni che si occupano sostanzialmente di sintetizzare componenti che possono non essere presenti in quantità sufficiente:



Questa reazione è fondamentale in quanto in caso di mancanza di uno dei primi e fondamentali metaboliti del ciclo di krebs ne consente la sintesi con consumo di una unica molecola di ATP.



Anche questa reazione fondamentale per compensare la mancanza di ossalacetato.



Quest'ultima reazione è un esempio di BIOSINTESI RIDUTTIVA che attraverso la riduzione consente la costruzione di un composto essenziale per il metabolismo del ciclo di krebs (NADPH viene prevalentemente utilizzato dalla cellula per reazioni anaboliche mentre NADH viene utilizzato prevalentemente per reazioni di altra natura come accumulo di equivalenti redox).

LA CATENA RESPIRATORIA:

POTENZIALE DI RIDUZIONE: fino ad ora abbiamo accumulato nelle reazioni cataboliche una discreta quantità di equivalenti redox in forma di NADH e FADH₂; è possibile a questo punto utilizzare questa energia sfruttando il potenziale di riduzione dei composti in cui è accumulata: ogni reazione di ossidoriduzione è caratterizzata dalla presenza di due coppie redox, ciascuna composta di una donatore e di un accettore di elettroni; in generale possiamo dire che IL POTENZIALE STANDARD DI RIDUZIONE misurato praticamente in un circuito ed espresso in volt, È UNA MISURA DI QUANTO UNA SPECIE CHIMICA ABBAIA TENDENZA A RIDURSI; consegue quindi che esponendo, per esempio, il NADH ad un composto con potenziale redox maggiore, otterrò la sua ossidazione a NAD⁺ (N.B.: le condizioni alle quali vengono valutati i potenziali di riduzione in biochimica sono: 25°C, pH 7, gas in pressione di una atmosfera e reagenti presenti in concentrazione uno molare).

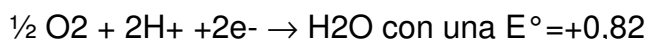
Posso quindi ossidare nuovamente le specie chimiche accumulatrici semplicemente esponendole ad agenti ossidanti. Possiamo prendere in considerazione due metodi:

- ESPOSIZIONE DIRETTA AD OSSIGENO: una reazione di questo tipo provocherebbe una notevole liberazione di energia libera, in particolare dalla equazione

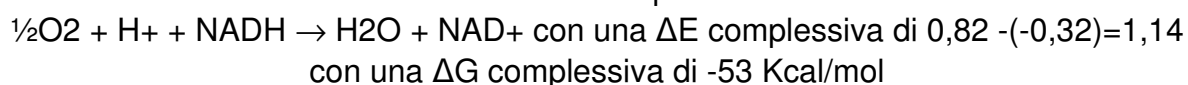
$$\Delta G^\circ = -nF\Delta E^\circ$$

possiamo ricavare il valore di energia libera che verrebbe liberata:

le due semireazioni:



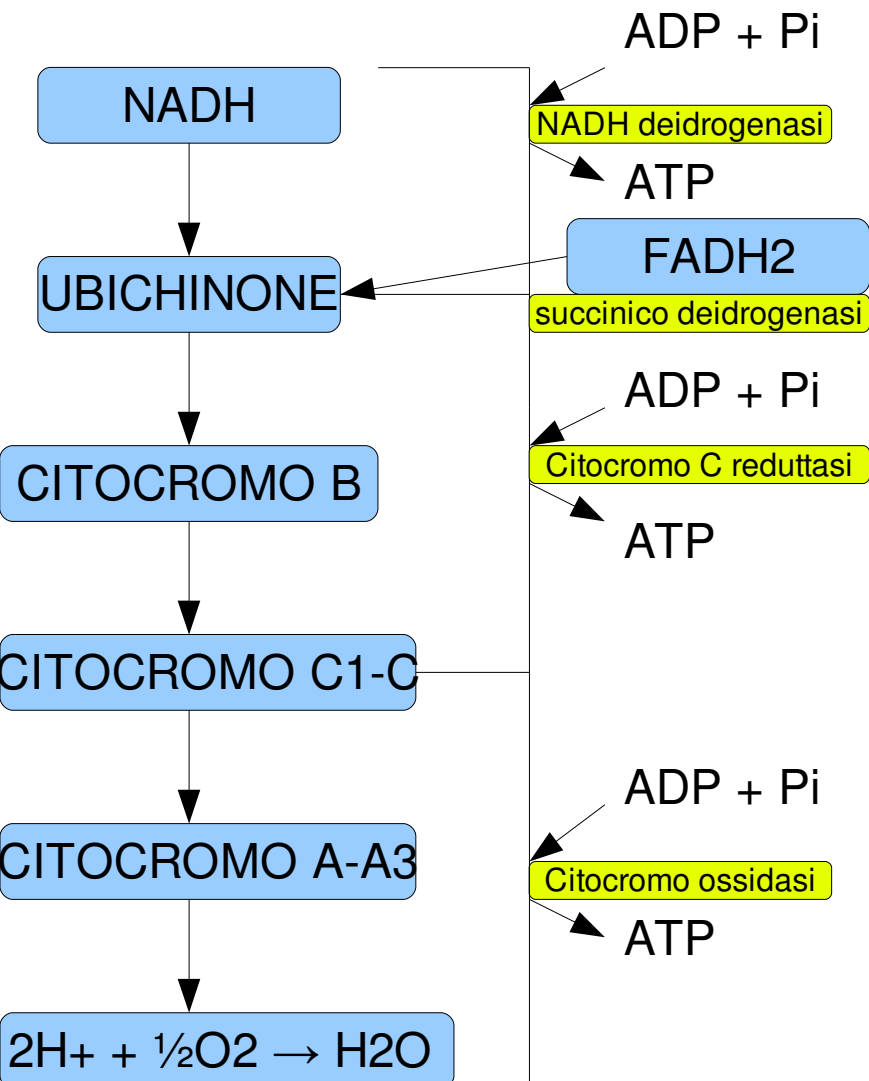
La reazione complessiva:



La reazione è quindi ovviamente altamente spontanea, ma la liberazione di energia è decisamente TROPPO ELEVATA e TROPPO RAPIDA.

- LA CATENA RESPIRATORIA: il nostro corpo, per rendere tale quantità di energia utilizzabile dalla cellula, deve liberarla gradualmente e tramite una serie di processi di passaggio di equivalenti fra diverse specie chimiche.

La catena respiratoria è quindi un processo schematizzabile in questo modo:



La prima reazione sfrutta una deidrogenasi che trasferisce gli equivalenti redox dal NADH a FMNH₂ ottenendo energia sufficiente alla sintesi di una molecola di ATP; Il FADH₂ si inserisce a livello della catena dopo questa reazione, per similarità con la FMN infatti può reagire con l'ubichinone venendo ossidato.

La serie di reazioni prosegue attraverso riduzioni di citocromi diversi a partire dall'ubichinone; man mano che procedono le ossidoriduzioni procede anche la formazione di energia.

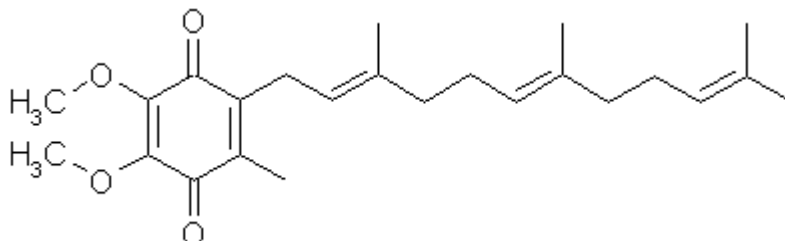
Naturalmente nel corso delle reazioni vengono recuperate tutte le componenti coenzimatiche riossimate.

La tappa finale prevede la riduzione dell'ossigeno ad acqua con ottenimento nuovamente di una quantità di energia sufficiente a sintetizzare una terza molecola di ATP.

Il principio applicato in questa catena di reazioni chimiche è naturalmente quello di SFRUTTARE AL MASSIMO L'ENERGIA ACCUMULATA IN FORMA DI EQUIVALENTI REDOX PER RENDERLA UTILIZZABILE DALLA CELLULA.

Le componenti essenziali per portare a termine questo processo sono:

- OSSIGENO.
- FMN: senza la flavina mononucleotide non sarebbe possibile il trasferimento di equivalenti redox dal NADH al resto della catena respiratoria.
- UBICHINONE: o Q10 essenziale come accumulatore di equivalenti redox:



dove nella specie umana la catena è composta di 10 unità isopreniche concatenate una all'altra e polimerizzate fra loro a costituire un complesso di circa 50 atomi di carbonio. La presenza di questa catena è fondamentale per l'ancoraggio dell'ubichinone alla membrana interna del mitocondrio. L'ubichinone può essere definito il COLLETTORE DI EQUIVALENTI REDOX MITOCONDRIALI.

L'intero complesso della catena respiratoria è IDROFOBICO MA SUSCETTIBILE AL CONTATTO CON COMPOSTI IDROFILICI SOLO IN ALCUNI PUNTI; tutto il sistema della catena respiratoria può essere inoltre classificato in quattro grandi complessi:

- I $\text{NADH (H}^+) \rightarrow \text{CoQ} = \text{NADH(H}^+) \text{ deidrogenasi.}$
- II Succinato $\rightarrow \text{CoQ} = \text{succinato deidrogenasi.}$
- III $\text{CoQ} \rightarrow \text{citocromo C} = \text{citocromo C riduttasi.}$
- IV citocromo C $\text{Fe}^{++} \rightarrow \text{O}_2 = \text{citocromo ossidasi.}$

I CITOCROMI: i citocromo coinvolti nel meccanismo della catena respiratoria sono cromoproteine dotate di un EME molto simile a livello strutturale a quello presente su emoglobina e mioglobina ma che da questo differisce per alcuni motivi:

1. I SOSTITUENTI dell'anello tetrapirrolico sono diversi sia da quelli dell'emoglobina sia fra citocromi stessi.
2. IL FERRO non è isolato in una tasca idrofobica, anzi è esposto di modo da poter essere facilmente OSSIDATO o RIDOTTO a seconda delle necessità.
3. Il gruppo eme è legato alla proteina non tramite legami dativi del ferro centrale ma attraverso strutture costituite di residui di cisteina legati a gruppi funzionali dell'eme stesso.
4. Alcune proteine presentano un gruppo eme caratterizzato dalla presenza di un atomo di rame invece che da un atomo di ferro, questo consente di ottenere una gamma più vasta di potenziali di riduzione.

Possiamo dividere i processi redox della catena respiratoria in due grandi parti: una prima parte, possiamo dire dall'ingresso del NADH fino alla riduzione dell'ubichinone a ubichinolo, e una seconda parte caratterizzata dalla ossidoriduzione dei diversi citocromi fino all'ossigeno; queste due parti presentano due differenze fondamentali:

- nella prima parte la catena procede tramite passaggi di due elettroni per volta, a livello del citocromo C il passaggio di elettroni risulta invece unitario. Nonostante questa differenza quantitativa a livello del CITOCROMO C, che possiamo considerare l'anello di giunzione fra i due diversi momenti del ciclo, è presente un complesso enzimatico ciclico che consente il mantenimento di un flusso di elettroni COSTANTE e GRADUALE.
- Nella seconda parte del ciclo inoltre il flusso di protoni non è bilanciato come nella prima parte.

In generale possiamo notare che mentre il flusso di elettroni procede costantemente, il flusso di protoni non procede in maniera altrettanto regolare:

- alcuni protoni restano nella matrice del mitocondrio e sono essenziali per la riduzione dell'ossigeno.
- Numerosi protoni escono dalla matrice e si riversano nello spazio intermembrana, questo avviene grazie ai complessi enzimatici I, III, IV che hanno la capacità di

pompare protoni fuori dalla membrana.

Il flusso di protoni verso l'esterno della matrice comincia quindi già grazie al primo dei quattro complessi coinvolti.

IN CONCOMITANZA AL PASSAGGIO DI ELETTRONI NELLA CATENA RESPIRATORIA VIENE A CREARSI UN FLUSSO ATTIVO DI PROTONI DALL'INTERNO VERSO L'ESTERNO DEL LUME DEL MITOCONDRIO GENERATO DALL'ENERGIA OTTENUTA DAL FLUSSO DI ELETTRONI STESSO.

Questo passaggio di protoni naturalmente genera un gradiente di concentrazione che a sua volta genera quella che viene chiamata una PILA A CONCENTRAZIONE (dove cioè la differenza di potenziale è generata non dal diverso potenziale di riduzione delle coppie, ma dalla diversa concentrazione di una singola coppia ai due elettrodi).

L'utilità di questo meccanismo è stato poco chiaro fino a quando alcuni dati sperimentali hanno portato alla formulazione di teorie oggi ritenute valide, in particolare la TEORIA CHEMIOSMOTICA DI MITCHELL ricavata dalle seguenti osservazioni sperimentali:

- NON ESISTONO A LIVELLO DELLA FOSFORILAZIONE OSSIDATIVA complessi AD ALTA ENERGIA, non viene quindi sfruttato per la formazione di ATP il meccanismo di fosforilazione a livello del substrato.
- DANNEGGIANDO LA MEMBRANA MITOCONDRIALE, in particolare rendendola permeabile a protoni o ossidrilioni o ioni come potassio e sodio, e stimolando contemporaneamente il ciclo di Krebs si assiste ad un fenomeno di questo tipo:
 - ho il flusso di elettroni che porta alla formazione di acqua.
 - Non ho produzione di ATP.
- INTRODUZIONE DI AGENTI DISACCOPPIANTI come il dinitrofenolo o il CCCP (m-clorocarbonilcianuro fenilidrazane), consente il passaggio di elettroni ma ancora una volta blocca il meccanismo di formazione dell'ATP. I disaccoppianti artificiali sono acidi deboli con carattere idrofobico, riescono a penetrare la membrana del mitocondrio e, visto il pH alto in esso presente, a dissociare annullando il gradiente ionico generato dalle pompe.
- INTRODUZIONE DI IONOFORI: composti che incrementano la permeabilità della membrana, ottengo ancora il medesimo effetto, non c'è sintesi di ATP.

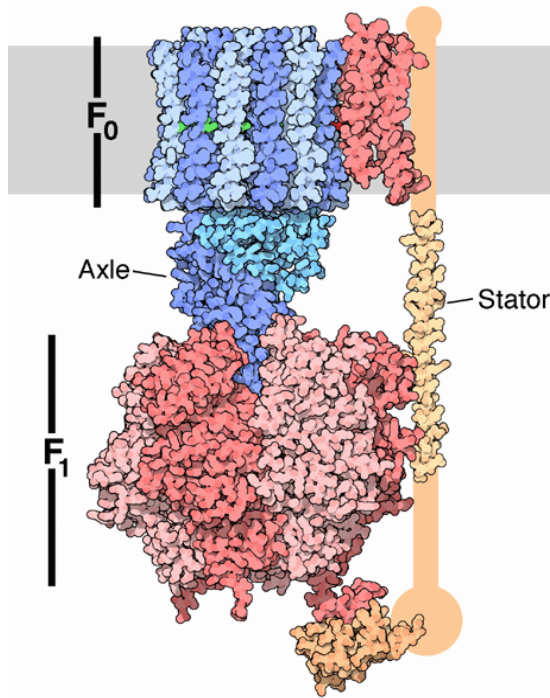
LA TEORIA che fu formulata basandosi su una osservazione di questo tipo è la seguente:

1. gli elettroni scorrono lungo la catena respiratoria generando energia che viene sfruttata per trasportare protoni dalla matrice mitocondriale alla zona intermembrana, in questo modo abbiamo:
 1. abbassamento interno del pH.
 2. Innalzamento esterno del pH.
2. Si forma un gradiente elettrochimico dovuto alla differenza di concentrazione fra interno ed esterno grazie a:
 1. potenziale di membrana mitocondriale.
 2. Gradiente protonico.
3. I protoni, se la membrana mitocondriale è integra, non possono fluire nella matrice se non tramite un carrier:

IL FLUSSO ORDINATO DI PROTONI ALL'INTERNO DELLA MATRICE

MITOCONDRIALE È RESPONSABILE DELLA FORMAZIONE DELL'ATP.

A livello della membrana mitocondriale interna sono presenti varie proteine coinvolte sia nel ciclo di krebs sia nella catena respiratoria, fra queste è presente in grande quantità anche la proteina responsabile della FORMAZIONE DELL'ATP : la F₁ F₀ ATPasi o ATPsintetasi:



La proteina è costituita di numerose subunità ed è divisibile in due parti fondamentalmente:

1. F₀ costituita di 10-14 proteine, è la parte che si colloca immersa nella membrana ed è costituita di tre parti fondamentalmente:
 1. c una struttura anulare immersa nella membrana.
 2. a che è una struttura a morsetto che prende rapporto con la parte c.
 3. 2 catene b che prendono invece rapporto con la subunità a e con alcune delle componenti proteiche di F₁.
2. F₁ è la componente che si sviluppa a livello della matrice mitocondriale ed è costituita di numerose subunità:
 1. tre subunità alfa e tre subunità beta vanno a costituire la struttura proteica che di fatto catalizza la formazione di ATP, sono disposte alternate una all'altra in senso circolare.
 2. Delta che media il rapporto fra le due subunità b e il complesso alfa-beta.
 3. Epsilon che stabilizza il rapporto fra la parte F₀ e la parte F₁.
 4. Gamma che si insinua centralmente alla struttura cilindrica costituita dalle subunità alfa e beta.

Complessivamente quindi possiamo dire che le componenti a, b, delta, alfa e beta costituiscono un gruppo solidale, mentre le parti c, gamma e epsilon un altro.

Complessivamente la proteina F₁F₀ ATP sintetasi SPOSTA PROTONI DALL'ESTERNO ALL'INTERNO DELLA MATRICE e CATALIZZA LA SINTESI DELL'ATP tramite un movimento di rotazione per fasi:

- anzitutto avviene il legame della proteina con le componenti necessarie alla sintesi, giungono quindi in prossimità del complesso:
 - ADP e fosfato inorganico.
 - Protoni.

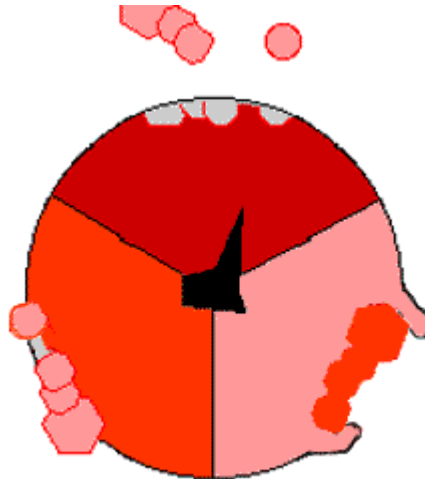
Naturalmente alle sue estremità opposte della proteina.

- Segue il legame delle due componenti con la proteina:
 - ADP e fosfato si legano ad una parte del complesso alfa beta e si insinuano a livello di un sito attivo aperto (ve ne sono tre in tutto).
 - I protoni giungono a livello della subunità c nella sua estremità posta fra le due membrane, qui trovano dei residui di GLUTAMMATO a cui si legano.

Questi legami cambiano la conformazione proteica delle componenti.

- **ROTAZIONE:** i protoni generano un mutamento ionico a livello della subunità c che comincia un movimento rotazionale che inevitabilmente coinvolge le subunità epsilon e gamma, quest'ultima ruotando forza alla rotazione anche le subunità alfa e beta, il sito catalitico occupato in precedenza si chiude adattandosi al substrato.

I protoni vengono rilasciati all'interno della membrana interna mitocondriale e verranno riutilizzati per i cicli successivi, il movimento rotazionale **CONTINUA** con il medesimo meccanismo andando a modificare ciclicamente la conformazione dei siti attivi presenti a livello delle subunità alfa e beta:

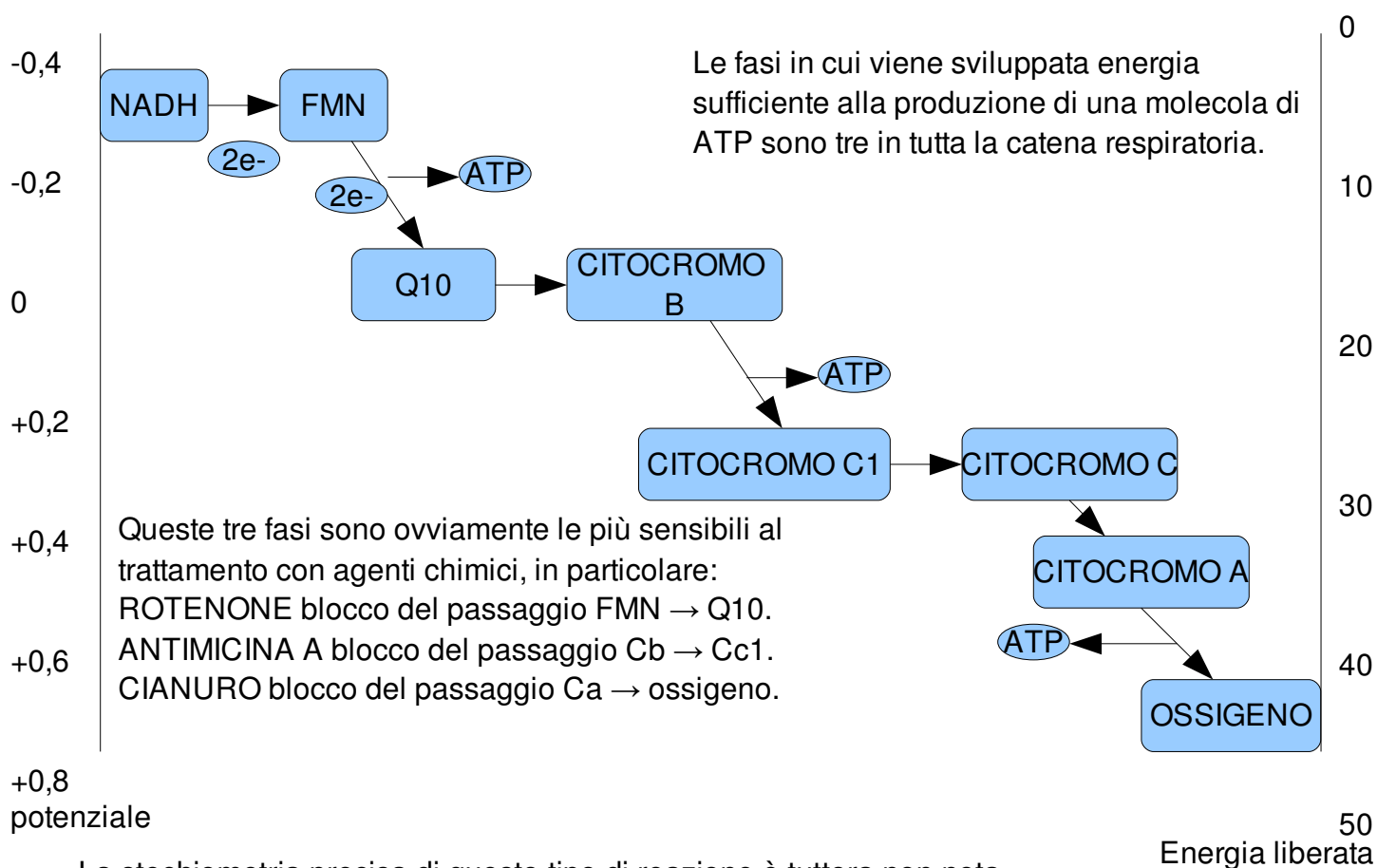


La rotazione avviene di 120° in 120° portando alla formazione di una molecola di ATP e al suo rilascio ogni 3 movimenti rotazionali singoli.

Il sito attivo liberato viene immediatamente saturato dall'ingresso di nuovo materiale.

Invertendo il processo rotazionale ottengo la **DISTRUZIONE DI ATP**, per questo la proteina presenta un nome duplice.

Come sottolineato l'energia del processo è ricavata sostanzialmente dalla catena respiratoria e quindi dal flusso protonico che genera, complessivamente possiamo schematizzare il suddetto flusso in questo modo:



La stechiometria precisa di questo tipo di reazione è tuttora non nota.

AGENTI DISACCOPIANTI: si tratta di agenti capaci di dividere a livello chimico le reazioni della catena respiratoria e della sintesi di ATP, queste possono essere:

- agenti chimici nocivi come i già citati CCCP e 2,4 dinitrofenolo
- Agenti naturalmente presenti a livello di alcuni tessuti del nostro corpo come la TERMOGENINA presente a livello del tessuto adiposo bruno: questa proteina impedisce la formazione di ATP isolando i due processi e provocando quindi una conseguente liberazione di energia in forma TERMICA (protezione dal freddo). L'energia in questione viene prelevata da fonti lipidiche che entrano a far parte dei cicli redox. Anche la tiroxina, ormone secreto dalla tiroide, nell'ipertiroidismo può causare disaccoppiamento dei due processi.

TRASFERIMENTO DI EQUIVALENTI DAL CITOSOL AL MITOCONDRIO:

Il passaggio di molecole dall'esterno al lume del mitocondrio è un processo complesso che richiede la presenza di numerosi tipi di trasportatori, la parte principale del problema è il passaggio attraverso la membrana interna che, per ragioni di natura strutturale (limitare il passaggio di protoni), è difficilmente penetrabile sia a composti in entrata sia a composti in uscita.

Un grosso problema è sicuramente il trasporto di ATP dall'interno all'esterno della struttura mitocondriale, questo viene infatti utilizzato all'esterno: per risolvere il problema il mitocondrio è dotato a livello di membrana di una proteina simporto che esporta ATP e importa ADP (importo materiale da lavorare ed esporto materiale lavorato).

Altre forme di trasporto verso l'interno della struttura mitocondriale sono:

- CARRIER Pi fosfato inorganico viene importato a livello della struttura mitocondriale in particolare associato a protoni, si tratta di una molecola infatti che allo stato dissociato è di dimensioni estremamente ridotte e molto carica.
- CARRIER H^+ PROTONE: la stessa ATP sintasi può essere considerata un carrier di protoni verso l'interno della struttura mitocondriale.
- CARRIER Ca^{++} IONE CALCIO: il mitocondrio sfrutta il gradiente protonico che viene generato dalla catena respiratoria per importare ione calcio pro gradiente, questo viene utilizzato:
 - ASSOCIATO A PROTEINE CALCIO DIPENDENTI.
 - IN DETERMINE FASI DI PREPARAZIONE AL PROCESSO DI CALCIFICAZIONE nelle quali il calcio si deposita in forma di fosfato di calcio.
- CARRIER PER ACIDI BICARBOSSILICI: capace di importare molecole come malato, succinato, fumarato.
- CARRIER PER ACIDI TRICARBOSSILICI come il citrato.
- CARRIER PER IL PIRUVATO: entra nel mitocondrio scambiato con OH^- che esce dal lume.

Questi sistemi di trasporto coordinano di fatto quanto avviene fuori e quanto avviene dentro al mitocondrio. Il trasporto del $\text{NADH}(\text{H}^+)$ non è previsto, il trasporto di equivalenti redox dall'esterno all'interno della struttura mitocondriale deve quindi avvenire in modo diverso, in particolare si riconoscono due metodi:

SISTEMA SHUTTLE DELL'OSSALACETATO: come sappiamo viene prodotta nella glicolisi una molecola di $\text{NADH}(\text{H}^+)$, tale molecola subisce un destino di questo tipo:

- L' NADH viene fatto reagire con una molecola di OSSALACETATO che viene da esso ridotta a MALATO, intermedio del ciclo di Krebs.
- IL MALATO entra attraverso il sopracitato carrier per acidi bicarbossilici direttamente nel ciclo di Krebs.
- IL MALATO viene quindi ossidato ad OSSALACETATO provocando la riduzione di una molecola di NAD^+ che può essere utilizzata a livello mitocondriale.

In pratica è stato trasportato il NADH prodotto a livello citosolico nel mitocondrio.

Questo sistema di trasporto è attivo a livello delle cellule di CUORE E FEGATO.

Per riesportare il materiale necessario al citosol l'ossalacetato può essere aminato ad aspartato e quindi esportato tramite un apposito carrier.

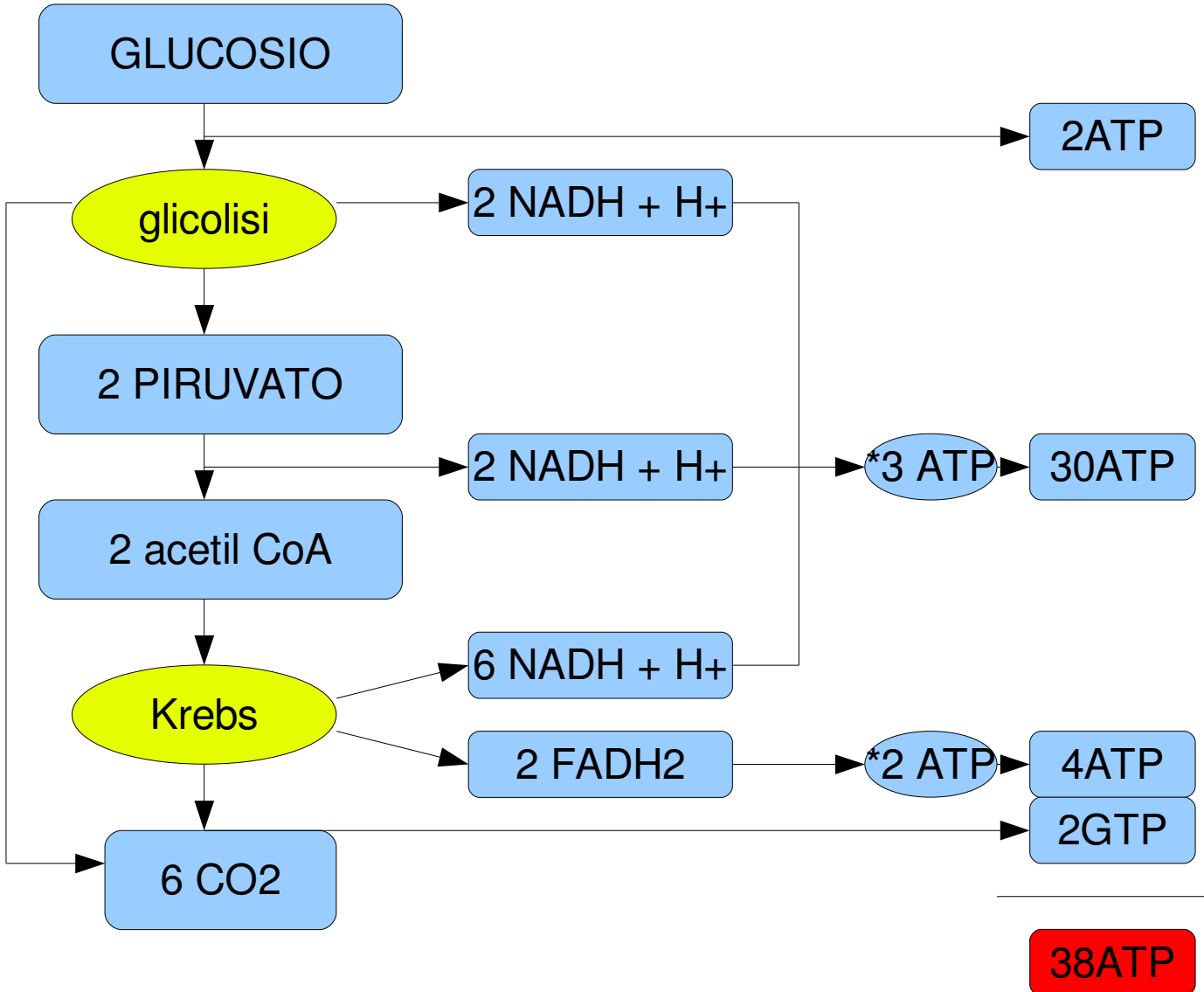
SISTEMA SHUTTLE DEL DIIDROSSIACETONE FOSFATO: il concetto è il medesimo ma sfrutta un meccanismo di reazione diverso:

- DIIDROSSIACETONE FOSFATO prodotto dall'enzima aldolasi viene RIDOTTO a GLICEROLO 3P.
- Il GLICEROLO 3P presente a livello citosolico può diffondere nello spazio intermembrana mitocondriale e quindi nel mitocondrio.
- Il GLICEROLO incontra la GLICEROLO 3P DEIDROGENASI che lo ossida producendo FADH_2 .
- FADH_2 entra direttamente a livello della catena respiratoria.

Questo sistema è attivo in altre parti del corpo.

La differenza sostanziale è che NEL SECONDO CASO, passando per il FADH₂, il meccanismo PRODUCE UNA MOLECOLA DI ATP IN MENO.

BILANCIO FINALE:



Il maggior numero di ossidazioni avviene in ogni caso a livello del ciclo di Krebs, gli equivalenti vengono sfruttati immediatamente a livello della catena respiratoria.

TAPPA CRITICA: la tappa di passaggio fra i meccanismi di trasporto degli elettroni con capienza di due elettroni e quelli con capienza di un unico elettrone risulta sicuramente fondamentale per il corretto funzionamento della catena respiratoria. In questi passaggi è possibile che venga perso un elettrone che reagendo con una molecola di ossigeno dà vita ad un RADICALE LIBERO capace di attaccare ossidando numerosi substrati come:

- MEMBRANE.
- PROTEINE.
- ACIDI NUCLEICI.

Le forme di difesa contro questo tipo di offesa sono duplici:

1. molecole-schermo capaci di assorbire la forza della ossidazione su sé stesse come vitamine C, E, N e il sistema bilirubina-biliverdina.
2. Sistemi enzimatici capaci di eliminare il radicale come:
 1. SUPEROSSIDO DISMUTASI che elimina in particolare il radicale superossido.
 2. REAZIONE DI FENTON che elimina una molecola di acqua ossigenata.
 3. CATALASI che catalizza l'eliminazione di due molecole di perossido di idrogeno.
 4. PEROSSIDAS che catalizzano invece la eliminazione di molecole di perossido di idrogeno grazie ad uno specifico substrato donatore di equivalenti.

LA VIA DEI PENTOSO FOSFATI:

si tratta di una via metabolica alternativa alla via della glicolisi, si occupa della formazione di:

- NADPH molecola essenziale per i meccanismi di BIOSINTESI RIDUTTIVA (legame di diversi atomi di carbonio uno all'altro).
- PENTOSI: zuccheri a cinque atomi di carbonio essenziali per la costruzione di numerose macromolecole.

Le due vie glicolitica e dei pentoso fosfato sono alternative ma allo stesso tempo legate strettamente una all'altra.

L' NADPH è un composto essenziale per esempio nella sintesi dei lipidi, la via metabolica risulta quindi particolarmente attiva a livello di:

1. ADIPOCITI.
2. CELLULE DELLA GHIANDOLA MAMMARIA in allattamento la biosintesi è essenziale.
3. ERITROCITI: L'NADPH è uno degli elementi fondamentali per la protezione del Fe^{2+} da agenti ossidanti.

La via in questione si svolge sostanzialmente in questo modo:

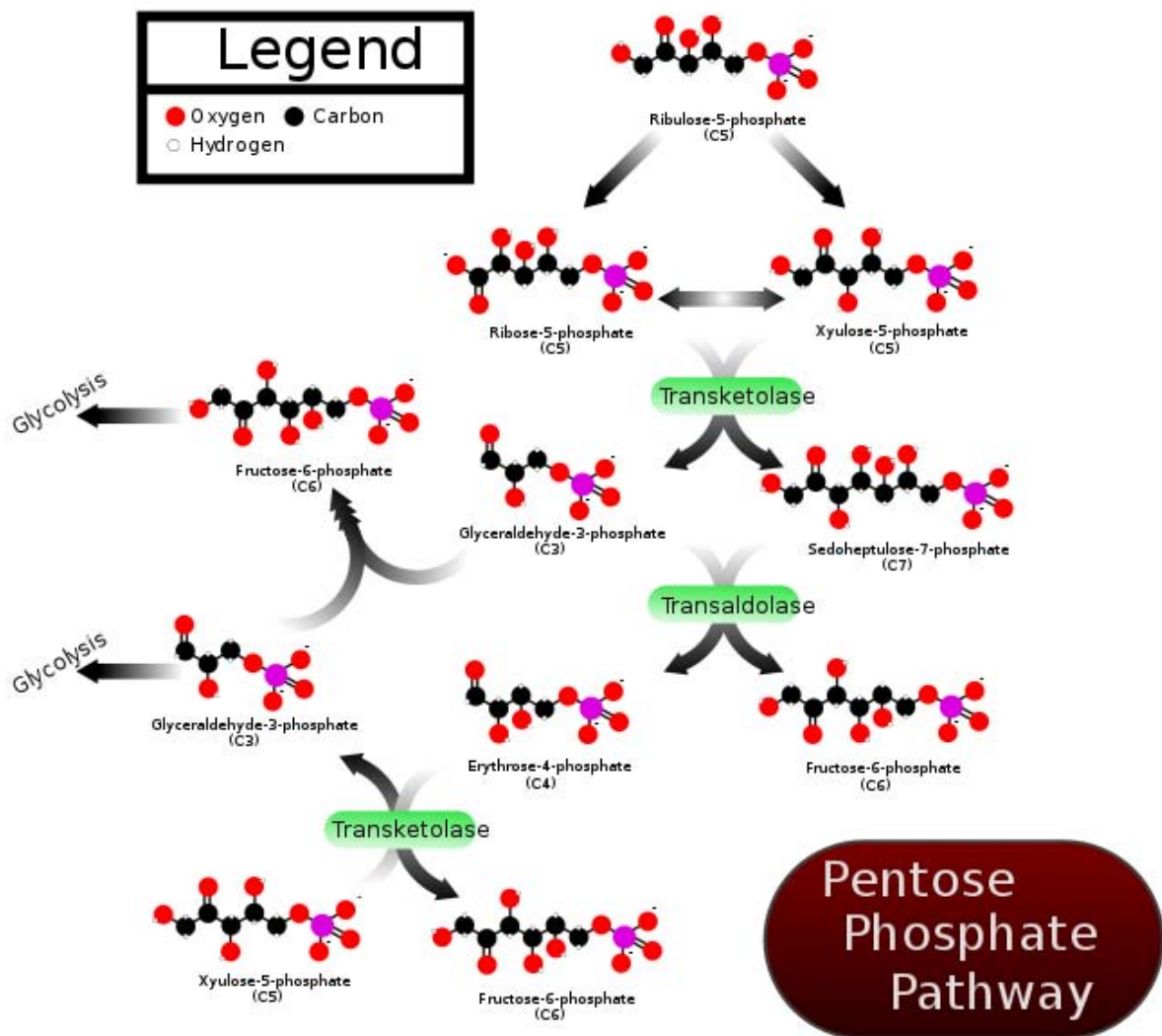
- OSSIDAZIONE DEL GLUCOSIO 6P: la prima tappa della via prevede la ossidazione del glucosio6P a 6fosfo gluconato, derivato carbossilato dello zucchero. Le due reazioni sono consecutive, il 6-fosfogluconolattone di fatto è una forma intermedia della reazione di trasformazione del glucosio 6P a 6 fosfogluconato. La lattonasi, oltre a compiere la idratazione, di fatto apre il composto ciclico del lattone, ma non fa altro che favorire una reazione già spontanea aumentandone la velocità.
- DECARBOSSILAZIONE DEL 6FOSFOGLUCONATO:
Anche in questo caso la decarbossilazione è concomitante alla formazione di una molecola di NADPH, conseguente cioè ad una ulteriore ossidazione della molecola, abbiamo ottenuto così uno zucchero, il ribulosio, a cinque atomi di carbonio.
- ISOMERIZZAZIONE A RIBOSIO: grazie alla FOSFOPENTOSO ISOMERASI il ribulosio 5P viene trasformato in RIBOSIO 5P; se necessario interviene una epimerasi capace di trasformare il ribulosio in xilulosio (via di collegamento).

In pratica avvengono due ossidoriduzioni necessarie alla produzione di potere riducente utilizzabile in forme diverse.

La via dei pentoso fosfato è collegata alla via GLICOLITICA attraverso una serie di reazioni reversibili che consentono il trasferimento di energia da un processo all'altro:

- **SINTESI DI SEDOEPTULOSIO E GLICERALDEIDE FOSFATO:**
In pratica si assiste ad una ricombinazione delle molecole di RIBOSIO e XILULOSIO con formazione di uno zucchero a sette atomi di carbonio e una gliceraldeide tre fosfato; tutto questo grazie ad una TRANSCHEOTOLASI.
- **FORMAZIONE DEL FRUTTOSIO SEI FOSFATO:** assistiamo ad una ulteriore ricombinazione delle molecole prima create:
in questo caso interviene l'enzima TRANSALDOLASI che trasferisce sulla gliceraldeide una struttura a tre atomi di carbonio formando in questo modo FRUTTOSIO SEI FOSFATO che può inserirsi nella glicolisi.
- **SINTESI DI DUE ULTERIORI MOLECOLE INTEGRABILI NELLA GLICOLISI:** il ciclo di collegamento sfrutta l'eritrosio fosfato formatosi per generare due ulteriori molecole integrabili a livello della glicolisi sempre sfruttando un meccanismo di ricombinazione.

Utilizzo una ulteriore molecola di xilulosio alla quale vengono staccati gli ultimi due atomi di carbonio che vengono saldati alla struttura dell'eritrosio appena formato generando una molecola di GLICERALDEIDE e una molecola di FRUTTOSIO SEI FOSFATO che vengono entrambi integrati nel ciclo di Krebs.



Le possibilità sono quindi a questo punto quattro principalmente:

1. necessità di NADPH e di RIBOSIO nelle medesime quantità:
necessitando di entrambi i composti derivati da questa via metabolica semplicemente questa viene portata a termine a partire da glucosio sei fosfato.
2. NECESSITÀ DI NADPH E ATP: tipicamente necessari nel caso in cui la cellula sia impegnata in meccanismi anabolici importanti come la costruzione di membrane, in questo caso:
 1. LA VIA DEI PENTOSO FOSFATO viene portata a termine con sintesi di ribulosio e quindi di ribosio. Sintetizzo così NADPH.
 2. Il ribosio viene incanalato nella via di collegamento con la glicolisi e trasformato quindi in definitiva in fruttosio e gliceraldeide; in questo modo, di fatto, il materiale sintetizzato nella via dei pentoso fosfato viene trasformato in energia utile. Sintetizzo ATP.
3. NECESSITÀ UNICAMENTE DI NADPH: avviene raramente ma è possibile che la cellula abbia necessità di produrre unicamente NADPH, in questo caso:
 1. VIENE PERCORSO LA VIA DEI PENTOSO FOSFATO con sintesi di NADPH.
 2. Il ribosio prodotto ENTRA NELLA VIA DI COLLEGAMENTO con la glicolisi e attraverso di essa viene trasformato in FRUTTOSIO E GLICERALDEIDE.
 3. FRUTTOSIO E GLICERALDEIDE tramite un meccanismo di GLUCONEOGENESI vengono trasformati nuovamente in GLUCOSIO.

Il meccanismo risulta quindi complessivamente ciclico, si assiste alla perdita di una molecola di anidride carbonica ad ogni ciclo percorso, si tratta cioè di una ossidazione graduale e parziale delle strutture glucidiche che non coinvolge né ciclo di krebs né glicolisi (non c'è cioè produzione di ATP).
4. NECESSITÀ UNICAMENTE DI RIBOSIO 5P: o comunque di zuccheri pentosi, in questo caso non voglio produrre NADPH, la cellula opera in questo modo:
 1. AVVIA LA GLICOLISI e produce sia gliceraldeide tre fosfato che fruttosio sei fosfato.
 2. GLICERALDEIDE 3P e FRUTTOSIO6P vengono incanalati nella via di collegamento con la via dei pentoso fosfato sintetizzando in questo modo RIBOSIO 5P senza produrre NADPH.

CATABOLISMO DEI LIPIDI:

I LIPIDI: nel nostro organismo i lipidi si trovano principalmente in forma di TRIGLICERIDI e svolgono una funzione di riserva energetica; rispetto al glicogeno, tipico polisaccaride di riserva, i lipidi presentano due vantaggi fondamentali:

1. SONO IDROFOBICI: non portano nella struttura dell'adipocita o in generale della cellula nella quale di collocano molecole di acqua, mentre il glicogeno è sempre idratato.
2. SONO PIÙ ENERGETICI: gli atomi di carbonio coinvolti nella formazione degli zuccheri non sono sempre allo stato più ridotto, gli atomi di carbonio che costituiscono gli acidi grassi al contrario sono il più ridotti possibile.

L'unico inconveniente che ne complica di fatto l'utilizzo a livello energetico è proprio la natura idrofobica: la molecola risulta difficilmente gestibile in un ambiente polare come quello del citoplasma; in ogni caso il loro apporto energetico contribuisce circa per il 30% del fabbisogno giornaliero.

In ogni caso i lipidi devono essere ASSIMILATI da parte delle cellule e quindi solubilizzati nella digestione per una prima degradazione. La digestione dei lipidi si svolge in questo modo:

- BOCCA: non subiscono alcuna trasformazione, gli enzimi idrolitici potrebbero attaccare le componenti polari della molecola (sostanzialmente i legami acido grasso-glicerolo), ma il tempo di permanenza è così ridotto che questa azione risulta impossibile.
- STOMACO: l'ambiente è troppo polare, gli accumuli lipidici sono praticamente inattaccabili.
- INTESTINO: qui i lipidi subiscono un processo di SOLUBILIZZAZIONE FORTE che li rende di fatto assimilabili dagli epatociti.

Il complesso che si occupa della solubilizzazione dei lipidi a livello intestinale è così costituito:

- PROLIPASI: proenzimi non attivi rilasciati dalle cellule intestinali e attivati una volta entrati in contatto con gli acidi grassi stessi o poco prima da apposite proteasi.
- COLIPASI: complesso attivo capace di digerire i lipidi.
- SALI BILIARI: sono composti emulsionanti capaci di dividere le grandi masse lipidiche in goccioline attaccabili dagli enzimi LIPOLITICI.

I lipidi vengono quindi emulsionanti ed attaccati dagli enzimi lipolitici, man mano che procede la degradazione e si liberano acidi grassi questi reagiscono con cationi di SODIO E POTASSIO presenti a livello intestinale formando di fatto SAPONI CHE CONTRIBUISCONO ALLA REAZIONE DI EMULSIONE già attuata dagli emulsionanti. In definitiva quindi ottengo GOCCE DI ACIDI GRASSI e MONOGLICERIDI.

Il materiale digerito viene ASSORBITO A LIVELLO INTESTINALE, negli epatociti si formano aggregati molecolari detti CHILOMICRONI che vengono riversati nei vasi chiliferi (linfa) che riversano il loro contenuto a livello della VENA SOTTOCLAVEARE nel

PLASMA.

Giunti nel plasma i chilomicroni viaggiano in circolo fino al FEGATO dove, dopo una ulteriore elaborazione, vengono inviati agli ADIPOCITI (ciclo completo in circa tre ore).

I SALI BILIARI: si tratta di agenti emulsionanti che funzionano con il medesimo meccanismo, in particolare sono tutti dotati:

- COMPONENTE IDROFOBICA: costituita da una parte ciclica organizzata a costituire il CICLOPENTANOPERIDROFENANTRENE (precursore degli steroidi).
- COMPONENTE POLARE costituita di:
 - TESTA POLARE legata alla struttura del ciclopentano.
 - OSSIDRILI distribuiti su diversi atomi di carbonio che compongono il ciclo in questione.

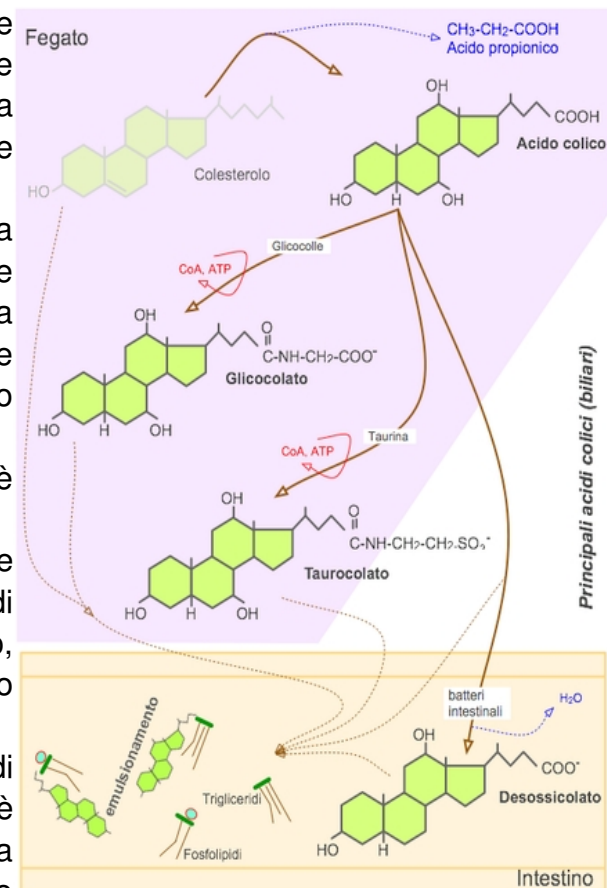
I principali sali biliari sono:

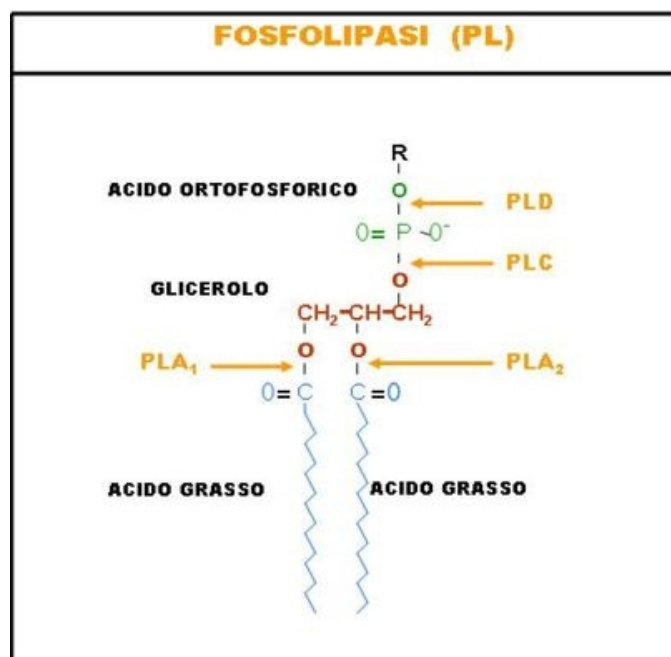
- ACIDO COLICO: si tratta di un acido caratterizzato a livello strutturale dalla presenza di ciclopentanoperidrofenantrene al quale è legata una molecola di acido; funzionalmente parlando è identico ad un sapone, la sua forma dissociata si associa a cationi come sodio e potassio.
- TAUROCOLATO: la struttura è identica a quella dell'acido colico eccezion fatta per la testa polare che è costituita di un amminoacido particolare, la TAURINA, che porta un gruppo solforico; il legame si instaura in ogni caso fra il gruppo carbossilico dell'acido colico e il gruppo amminico della taurina.
- GLICOLATO: in questo caso la testa polare è costituita di una molecola di glicina.

Gli EMULSIONANTI sono riciclabili in quanto ovviamente una volta avviato il processo di solubilizzazione gli acidi grassi saponificati contribuiscono attivamente al processo, i sali biliari possono quindi essere riciclati almeno parzialmente.

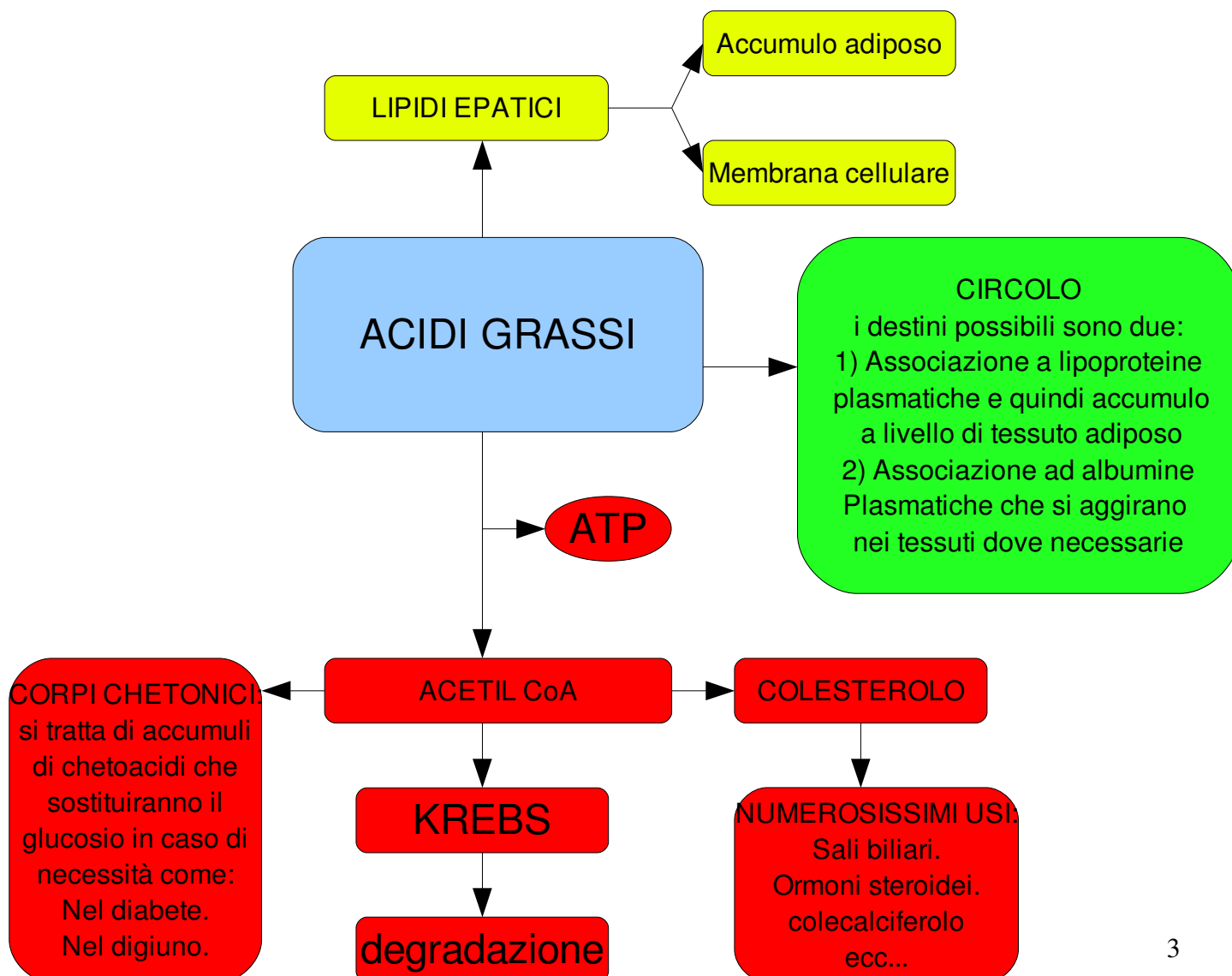
Le lipasi coinvolte nei processi di idrolisi dei trigliceridi sono molto specifiche a livello molecolare, questo è funzionale per esempio ad evitare problemi legati alla distruzione erranea di strutture come per esempio membrane lipidiche; per una molecola come un FOSFOLIPIDE (complesso a livello strutturale) esistono numerose lipasi specifiche per legami diversi:

- A1 = attacca il legame estereo fra il carbonio uno e l'acido grasso corrispondente.
- A2 = attacca il legame estereo fra il carbonio due e l'acido grasso corrispondente.
- C = attacca il legame carbonio tre-fosfato.
- D = attacca il legame fosfato-acido grasso.





In generale distinguiamo alcune vie di utilizzo e destinazione degli acidi grassi:



UTILIZZO DI TRIGLICERIDI COME FORMA DI ENERGIA:

come già sottolineato in precedenza rispetto agli zuccheri i trigliceridi partono da una condizione di riduzione maggiore, sono quindi potenzialmente più energetici, tuttavia per essere utilizzabili i trigliceridi devono prima essere importati a livello mitocondriale, questo avviene attraverso una serie di reazioni:

- **IDROLISI DI TRIGLICERIDI AD ACIDI GRASSI:**

si tratta di una semplice reazione di idrolisi catalizzata da una lipasi che porta alla formazione di:

- UNA MOLECOLA DI GLICEROLO.
- TRE MOLECOLE DI ACIDI GRASSI.

Il glicerolo viene immediatamente integrato a livello della glicolisi in questo modo:

Il glicerolo è una molecola molto simile a molti intermedi della glicolisi, è quindi facilmente integrabile in essa; la reazione di fosforilazione è essenziale per il mantenimento del composto all'interno delle membrane cellulari. Il diidrossiacetone fosfato entra nella glicolisi e viene isomerizzato dalla trioso P isomerasi a gliceraldeide tre fosfato.

- **ASSOCIAZIONE DEGLI ACIDI GRASSI AL COENZIMA A:**

si tratta di una reazione fondamentale a favorire l'ingresso a livello mitocondriale dell'acido grasso, avviene in due fasi e richiede dispendio energetico:

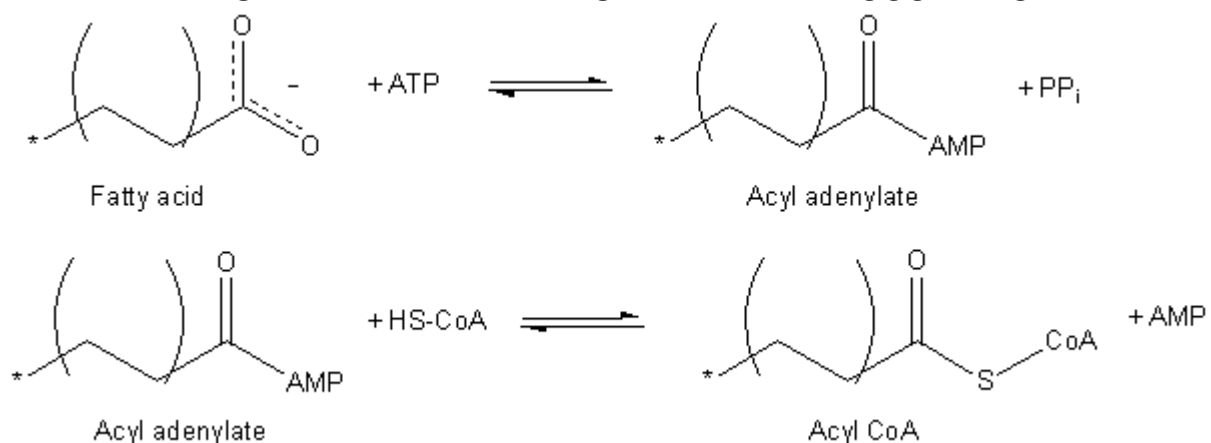
- **SINTESI DELL'ACIL ADENILATO:**

L'acido grasso viene reso reattivo associando alla sua struttura un nucleotide monofosfato con dissociazione di un pirofosfato che viene degradato poi a livello citosolico in fosfato inorganico.

- **SINTESI DELL'ACIL COENZIMA A:**

Sfruttando la reattività dell'acil adenilato l'acile viene trasferito sul coenzima A liberando adenosina monofosfato.

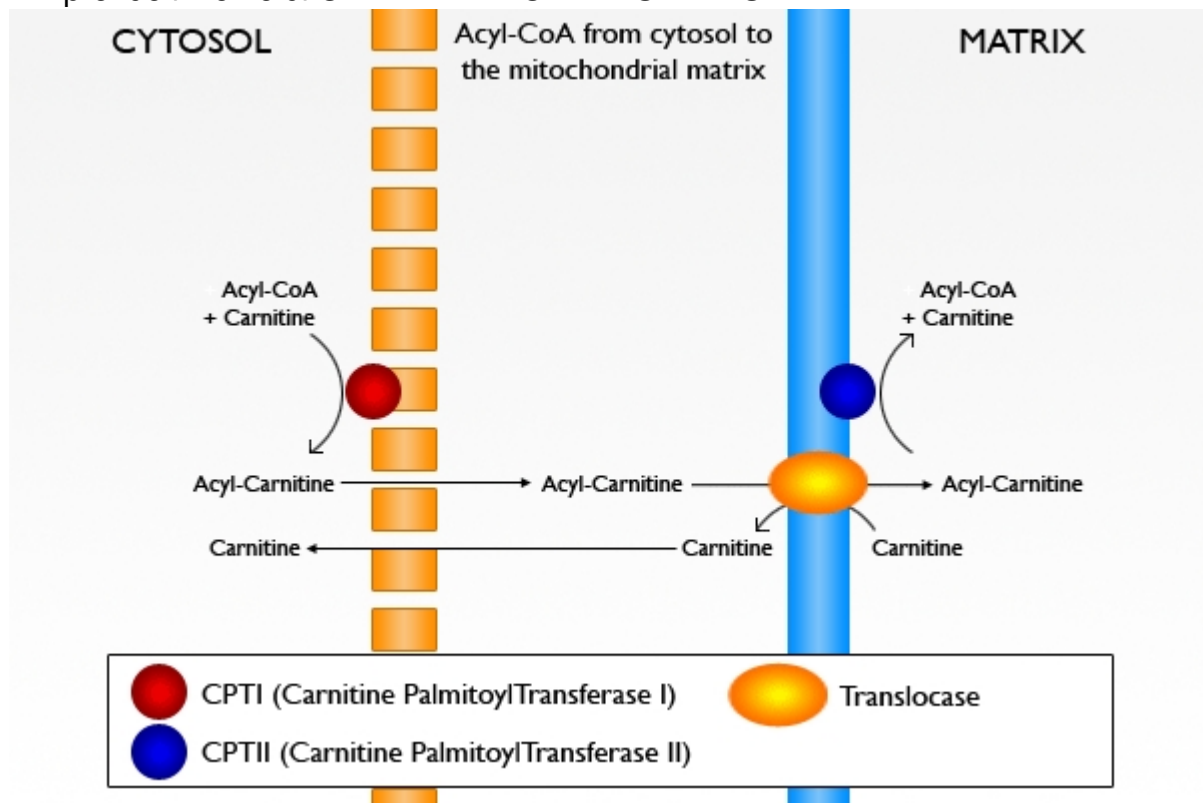
A questo punto ho un composto chimico diverso dal precedente e capace di **ATTRAVERSARE LA MEMBRANA ESTERNA DEL MITOCONDRIO**.



- **TRASFERIMENTO DELL'ACILE ALLA CARNITINA:** l'Acil coenzima A filtra attraverso la membrana esterna del mitocondrio e giunge in contatto con la membrana interna dello stesso dove si trova il complesso detto CARNITINA

ACILTRASFERASI I: la carnitina è un composto caratterizzato dalla presenza di numerosi gruppi funzionali e all'arrivo dell'acil CoA si comporta in questo modo: La carnitina lega quindi l'acile liberando il coenzima A che torna nel citosol dove potrà essere nuovamente caricato con un acile.

- **ROTAZIONE DELLA CARNITINA:** la carnitina associata all'acile muta la sua polarità e ruota sulla membrana interna della struttura del mitocondrio affacciandosi sul suo lume; il complesso **CARNITINA ACILTRASFERASI I** associato all'acile prende il nome di **CARNITINA ACILTRASFERASI II**.



- **TRASFERIMENTO DELL'ACILE AL COENZIMA A MITOCONDRIALE:** a livello mitocondriale l'acile trasferito viene ceduto ad un coenzima A mitocondriale che viene incanalato nella via catabolica.

Il meccanismo di trasferimento è regolato in modo molto semplice ed immediato: per ogni molecola di carnitina che diviene acil carnitina trasferendo all'interno del mitocondrio un acile, una seconda molecola di carnitina acquisisce un acile mitocondriale e lo trasferisce al citosol.

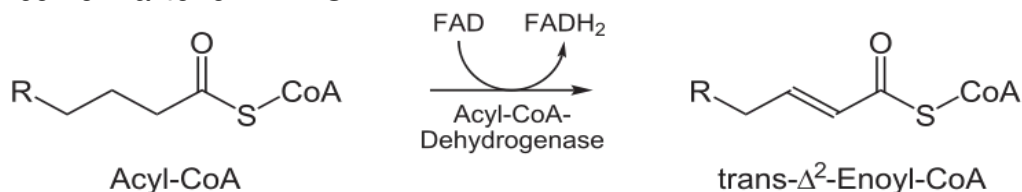
Acidi grassi a catena corta e media entrano a livello mitocondriale in modo indipendente, non necessitano del sistema di trasporto mediato da carnitina.

OSSIDAZIONE DEGLI ACIDI GRASSI:

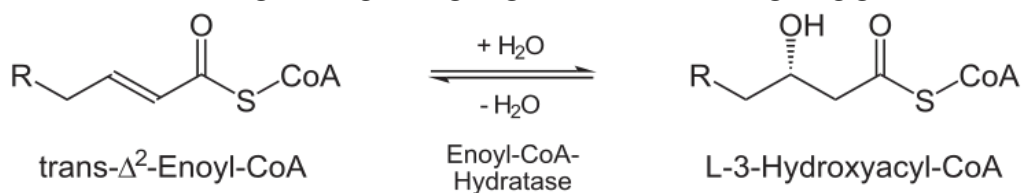
L'acile trasferito all'interno del mitocondrio è ora pronto per essere ossidato e produrre energia, il meccanismo di ossidazione procede per distacco di unità bicarboniose che vanno ad associarsi al coenzima A entrando direttamente a livello del ciclo di Krebs

mitocondriale. Altro problema legato al catabolismo di questi acidi grassi è sicuramente legato alla loro SCARSA REATTIVITÀ che deve in qualche modo essere eliminata attraverso reazioni metaboliche. Il processo si svolge in questo modo:

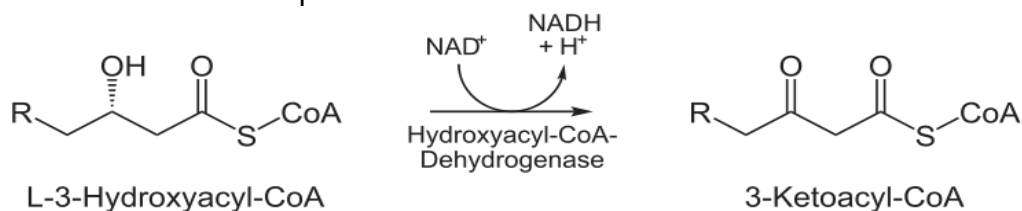
- **PRIMA OSSIDAZIONE DELL'ACILE:** ad operare l'ossidazione è una deidrogenasi FAD dipendente, la molecola dell'acile viene deidrogenata nei carboni alfa e beta generando una INSATURAZIONE che rende di fatto la molecola ATTACCABILE.
 - OGNI ACILE HA UNA SPECIFICA DEIDROGENASI.
 - L'INSATURAZIONE genera un composto che per ragioni enzimatiche è in conformazione TRANS.



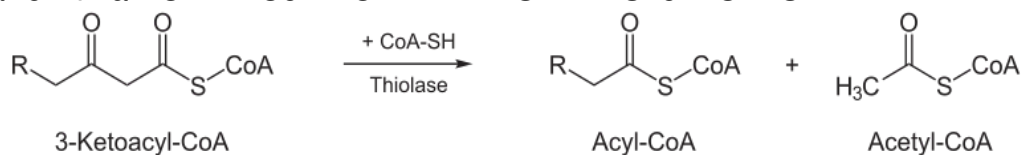
- **IDRATAZIONE DELL'ACILE insaturo,** questa avviene ad opera della ENOIL CoA IDRATASI; attraverso una reazione di questo tipo inserisco a livello di una catena poco reattiva un gruppo estremamente reattivo e capace di dare ossidazioni significative; è importante sottolineare il fatto che il gruppo ossidrilico si lega SEMPRE A LIVELLO DEL CARBONIO BETA DELLA MOLECOLA.



- **SECONDA OSSIDAZIONE DELL'ACILE:** anche in questo caso si sfrutta una deidrogenasi NAD⁺ dipendente ottenendo un gruppo carbonilico essenziale per la futura associazione di questo atomo di carbonio con il coenzimaA.



- **LISI della molecola di acetil CoA** ora pronta per essere utilizzata a livello mitocondriale per alimentare IL CICLO DI KREBS. La reazione è catalizzata dall'enzima ACETIL CoA ACETIL TRASFERASI o TIOLASI.



Il meccanismo procede ciclicamente in modo continuo fino a smaltimento totale dell'acido grasso.

L'acetile così prodotto può di fatto entrare a far parte del ciclo di Krebs come già detto, tuttavia non è sufficiente a garantire la autosufficienza energetica: è indispensabile per cominciare il ciclo di Krebs che sia presente almeno una molecola di OSSALACETATO che può essere in sua assenza sintetizzata a partire da PIRUVATO per carbossilazione o attraverso altre reazioni anaplerotiche; IN OGNI CASO IN ASSENZA COMPLETA DI GLUCOSIO NON È POSSIBILE AVVIARE IN ALCUN MODO IL CICLO DI KREBS.

È possibile che nella serie di processi catabolici si incontrino degli acidi grassi molto diversi come:

- **ACIDI GRASSI INSATURI:** il processo di catabolizzazione procede normalmente fino a quando la AcetilCoA-acetil trasferasi o tiolasi incontra l'insaturazione, a questo punto:
 - se l'insaturazione si colloca in un punto adatto alla reazione catabolica viene sfruttato semplicemente.
 - Se invece l'insaturazione non è compatibile intervengono degli enzimi appositi detti ISOMERASI che spostano il doppio legame di una posizione avanti o indietro a seconda delle necessità.

In ogni caso in presenza di una insaturazione:

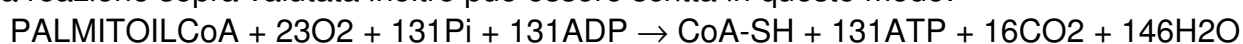
- QUESTA DEVE ESSERE CONVERTITA DA CIS, come si presenta tipicamente in natura, a TRANS.
- L'UTILIZZO DI UNA PREESISTENTE INSATURAZIONE DIMINUISCE LA RESA DI 2 MOLECOLE DI ATP in quanto non ottengo più il FADH₂ iniziale.
- **ACIDI GRASSI A NUMERO DI ATOMI DI CARBONIO DISPARI:** questi acidi grassi vengono catabolizzati normalmente fino alla parte terminale della molecola che permane in forma di PROPIONIL CoA che viene catabolizzato per altre vie metaboliche. La AcetilCoA-acetil trasferasi non riconosce come substrato il PropionilCoA che non viene scisso a formil CoA e acetil CoA.

BILANCIO COMPLESSIVO: per una molecola di ACIDO PALMITICO, acido grasso a 16 atomi di carbonio:

reazione	Prodotto	ATP ricavato
ATTIVAZIONE		-2 ATP (ATP→AMP + PPi)
PRIMA OSSIDAZIONE	7 FADH ₂	7*2 = 14ATP
SECONDA OSSIDAZIONE	7NADH	7*3 = 21ATP
FORMAZIONE DI ACETILI	8 acetilCoA	8*12 = 96ATP
TOTALE		129 ATP

A parità di peso capiamo quanto la resa energetica lipidica sia estremamente più elevata di quella degli zuccheri.

La reazione sopra valutata inoltre può essere scritta in questo modo:



Altro importantissimo prodotto di questo tipo di reazione è sicuramente l'acqua: in caso il metabolismo di un organismo si basi sui lipidi questo provvederà anche in parte al fabbisogno di acqua dell'organismo stesso, in particolare:

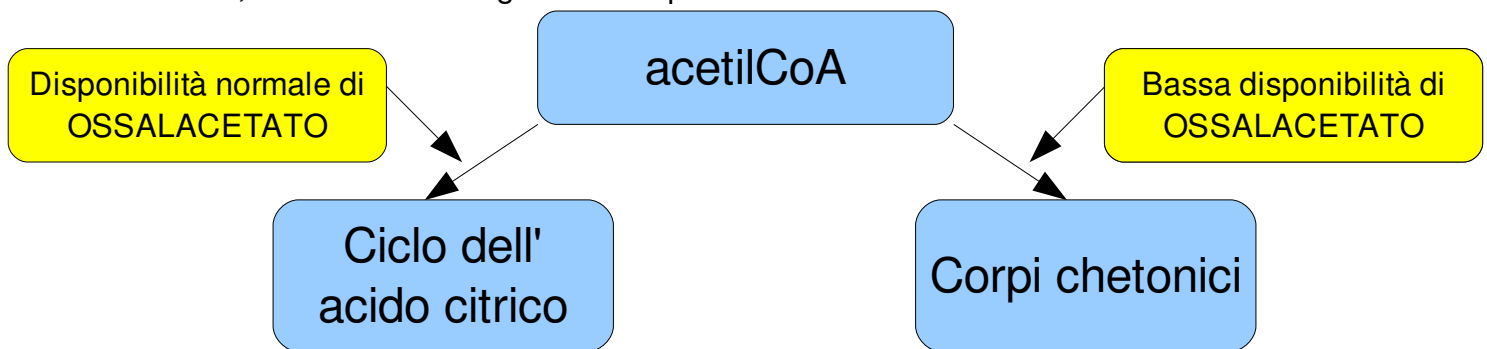
- durante il letargo per alcuni animali.
- Nel deserto per il cammello.

IL DESTINO DEI LIPIDI: i lipidi digeriti ed elaborati ad acilCoA giunti a livello cellulare possono subire diversi destini, in particolare:

- DIVENIRE TRIGLICERIDI O FOSFOLIPIDI.
- ENTRARE NEL MITOCONDRIO E SUBIRE UN PROCESSO DI OSSIDAZIONE.

Le due vie possono essere aperte o chiuse a seconda delle necessità cellulari che di fatto si manifestano a livello di accesso alle strutture mitocondriali: la CARNITINA ACIL TRASFERASI è un carrier di membrana fondamentale per il trasporto degli acidi grassi a livello mitocondriale, questo carrier può essere inibito da un segnale di via biosintetica che si manifesta tramite la sintesi a livello citosolico a partire da acetilCoA (che viene trasportato a livello citosolico attraverso vie metaboliche diverse) di MALONIL CoA; questo entra a livello della membrana esterna del mitocondrio, giunge alla carnitina e ne blocca la funzionalità (regolazione allosterica). LA PRESENZA DI UNA AZIONE ANABOLICA (acetilCoA → malonilCoA) INIBISCE IL PROCEDERE DELLA OPPOSTA REAZIONE CATABOLICA.

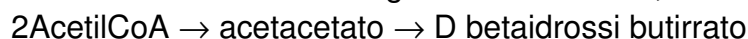
L'acetilCoA presente a livello cellulare deve essere smaltito o immagazzinato in un modo o nell'altro, riconosciamo a riguardo due possibilità:



In assenza di ossalacetato è necessario quindi UTILIZZARE L'ACETIL CoA in modo DIVERSO; una situazione di questo tipo si presenta tipicamente in assenza di fonti nutritive glucidiche che costringono l'organismo alla catabolizzazione delle strutture lipidiche; la mancanza di OSSALACETATO infatti può essere dovuta a:

1. SCARSA ASSUNZIONE DI GLUCIDI a livello di dieta o per digiuno.
2. PROBLEMI DI NATURA ORMONALE come mancanza di INSULINA tipica del diabete.

In questi casi il combustibile viene semplicemente trasformato in CORPI CHETONICI; lo schema generale, che si estrinseca in una lunga serie di reazioni, è il seguente:



Acetacetato e betaidrossibutirrato possono poi essere utilizzati da cellule non epatiche per il ciclo di krebs (tramite riconversione ad acetilCoA).

FORMAZIONE DEI CORPI CHETONICI:

- CONDENSAZIONE DI ACETILCoA:

L'enzima che catalizza questa reazione è detto TIOLASI e porta sostanzialmente ad un raddoppiamento della catena carboniosa dell'acetilCoA originario formando

acetacetylCoA; la reazione di condensazione è possibile unicamente GRAZIE ALL'ENERGIA SPRIGIONATA DALLA IDROLISI DEL LEGAME TIOESTEREO fra uno degli acetili e il corrispondente CoA.

- **SECONDA CONDENSAZIONE:**

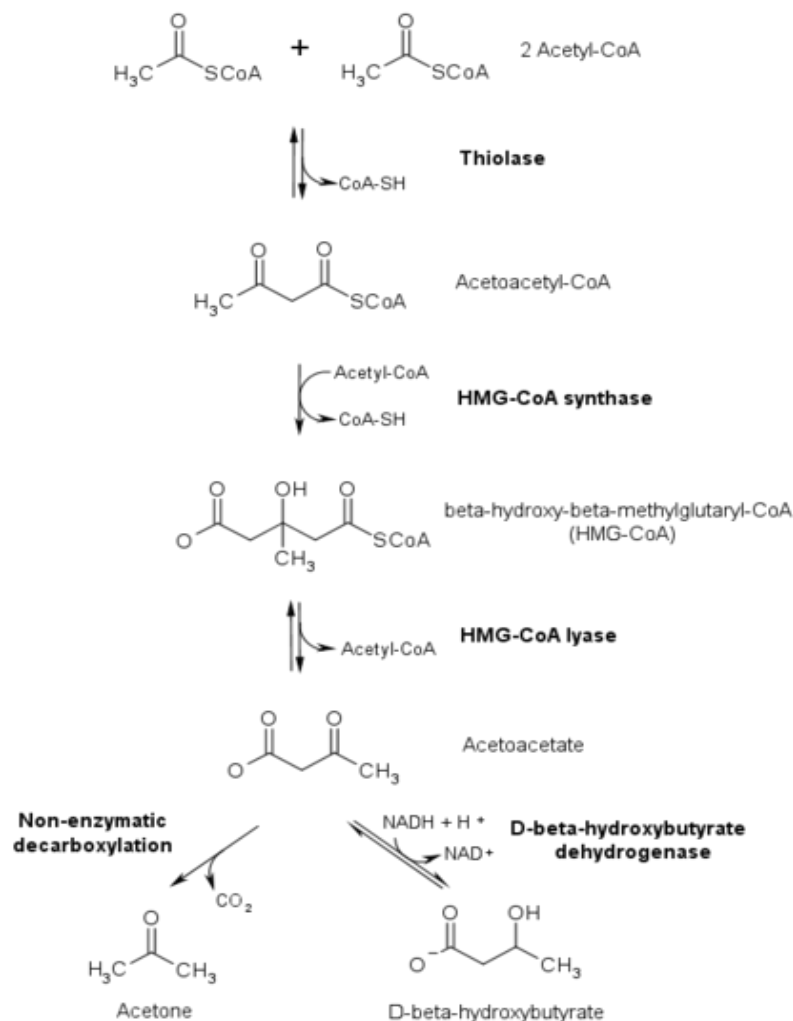
Assistiamo ad una seconda condensazione che con l'ingresso di una molecola di acqua genera un intermedio a sei atomi di carbonio detto 3-idrossi-3-metil-glutarilCoA; questo intermedio viene rapidamente degradato per idrolisi.

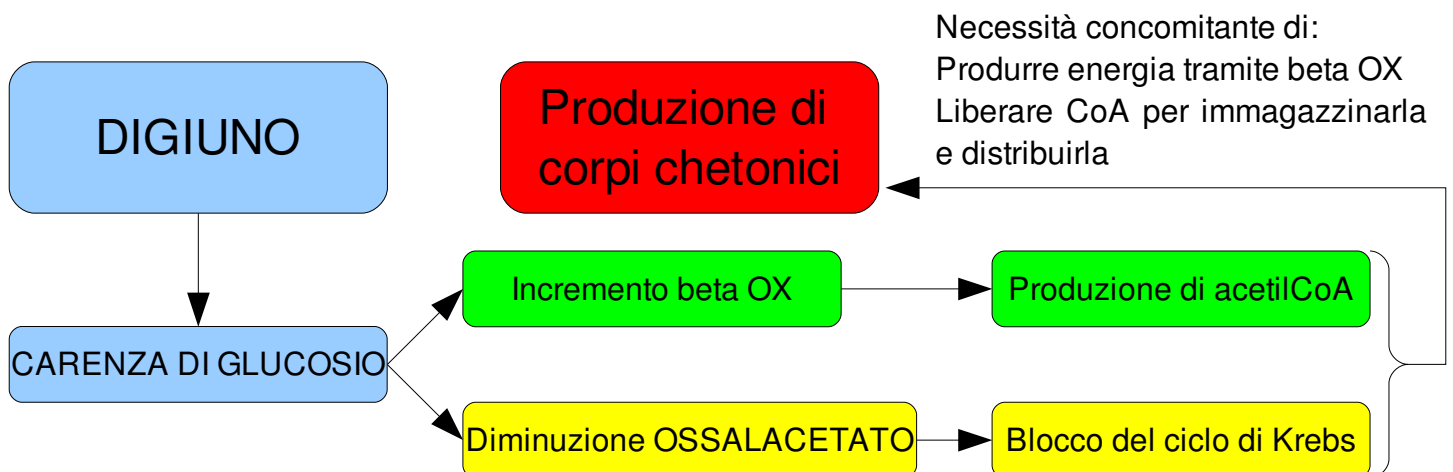
- **LISI DEL 3IDROSSI-3METIL-GLUTARIL CoA:**

Per intervento di una ulteriore LIASI l'intermedio idrossilato viene scinto in acetilCoA e acetatcetato; l'acetacetato è il primo dei tre corpi chetonici che si formano a livello cellulare.

- **FORMAZIONE DEI CORPI CHETONICI:** l'acetacetato può subire due diversi destini:

- **FORMAZIONE DI D 3IDROSSI BUTIRRATO** avviene per idrogenazione (riduzione) dell'ossalacetato, tramite una deidrogenasi (beta idrossi butirato deidrogenasi) NAD⁺dipendente.
- **FORMAZIONE DI ACETONE** avviene per decarbossilazione dell'acetacetato per l'operato di un enzima detto ACETACETATO DECARBOSSILASI: l'acetone è fortemente volatile e si perde a livello atmosferico attraverso la respirazione.





I due composti prodotti vengono riversati a livello circolatorio dove possono raggiungere altre cellule nelle quali è possibile la loro utilizzazione.

REGOLAZIONE DELLA PRODUZIONE: avviene a tre livelli:

1. la presenza di acetilCoA non utilizzato derivato in particolare dalla beta ossidazione degli acidi grassi presenti a livello ematico ed importati dalla cellula.
2. Flusso degli acidi grassi importati verso:
 1. OSSIDAZIONE con ovvio stimolo alla chetogenesi.
 2. SINTESI DI LIPIDI con azione inibitoria rispetto alla chetogenesi.
3. Flusso di acetilCoA al ciclo di Krebs e suo consumo che ha ovviamente effetto inibitorio sulla chetogenesi.

In caso di PRODUZIONE ECCESSIVA DI CORPI CHETONICI: si va incontro ad ACIDOSI infatti:

ACETACETATO → ACIDO ACETACETICO.

BETA IDROSSI BUTIRRATO → ACIDO BETA IDROSSI BUTIRRICO.

Se presenti in eccesso i corpi chetonici portano quindi a:

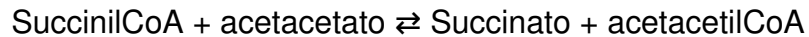
1. PROBLEMI DI TRASPORTO DI OSSIGENO, i protoni infatti interagiscono con la emoglobina limitandone l'affinità con l'ossigeno.
2. BASSA VITALITÀ CELLULARE sempre dovuta alla acidità dell'ambiente circostante.

In casi estremi come per esempio nel diabete mal gestito possono portare a COMA o stato PRECOMATOSO; il diabetico sviene principalmente per:

- PRESENZA DI TROPPO ZUCCHERO NEL SANGUE.
- ECCESSO DI CORPI CHETONICI.

Per entrambi i casi, non essendo in grado di determinare la natura del problema, vengono somministrati SIA GLUCOSIO CHE INSULINA: in questo modo lo zucchero presente a livello circolatorio o immesso dall'esterno entra nelle cellule (abbassamento di glucosio ematico) e viene catabolizzato ad ossalacetato che consente un consumo attivo di corpi chetonici.

DESTINO TISSUTALE DEI CORPI CHETONICI: i corpi chetonici vengono riassorbiti a livello tissutale dove vengono sfruttati per ottenere energia, vengono cioè riconvertiti in ACETIL CoA:



la reazione viene catalizzata dalla 3chetoacil CoA trasferasi che sostanzialmente sfrutta uno degli intermedi della glicolisi per formare una struttura associata a coenzimaA.



La reazione è catalizzata in questo caso da una TIOLASI; le due molecole di acetilCoA vengono quindi indirizzate al ciclo dell'acido citrico.

Questo ultimo processo di catabolizzazione dei corpi chetonici NON PUÒ AVVENIRE A LIVELLO DELLE CELLULE EPATICHE in quanto queste sono PRIVE DEGLI ENZIMI NECESSARI (3 chetoacilCoA trasferasi e tiolasi specifica per l'acetoacilCoA).

La funzione dei corpi chetonici è quindi quella di portare a livello tissutale energia anche in mancanza di glucosio, in particolare a:

- MUSCOLO dove però è possibile la ossidazione diretta di acidi grassi e quindi l'utilizzo diretto delle riserve energetiche.
- CERVELLO dove non è possibile la beta ossidazione degli acidi grassi e la presenza di corpi chetonici risulta fondamentale.

ANABOLISMO DEI GLUCIDI

la gluconeogenesi è una reazione di ANABOLIZZAZIONE di strutture glucidiche; per compiere una reazione di questo tipo la cellula necessita sostanzialmente di PRECURSORI necessari a costruire le molecole in questione e di ENERGIA in forma di ATP. In generale ricordiamo che:

- LA BIOSINTESI DI UNA MOLECOLA NON SEGUE ESATTAMENTE IL PROCESSO INVERSO A QUELLO DELLA SUA SINTESI, ma deve forzatamente almeno in alcuni passaggi da esso differire.
- ENZIMI DIVERSI catalizzano le reazioni chiave delle vie ANABOLICA E CATABOLICA di uno stesso composto.
- LA BIOSINTESI richiede generalmente due componenti fondamentali per avvenire:
 - NADPH.
 - ATP.

La gluconeogenesi si occupa di costruire glucosio a partire da precursori a basso peso molecolare (due-tre atomi di carbonio).

I precursori del glucosio che entrano di fatto in questa via anabolica sono:

1. PIRUVATO che è il precursore d'elezione sul quale convergono tutti gli altri precursori possibili.
2. LATTATO si tratta del prodotto della catabolizzazione anaerobia del glucosio eseguita a livello muscolare, possiamo dire che nel fegato grazie ad una lattico deidrogenasi specifica è possibile formare da esso piruvato.
3. AMMINOACIDI GLUCOGENETICI: entrano nel ciclo di krebs in forma di amminoacidi deaminati e da questo vengono esportati a livello citosolico ove possono entrare nel processo di gluconeogenesi (ciclo GLUCOSIO ALANINA).

L'acetilCoA non può entrare a far parte del processo di gluconeogenesi, NON PUÒ ESSERE TRASFORMATO IN PIRUVATO per il semplice fatto che la PIRUVATO DECARBOSSILASI agisce in modo irreversibile; quindi:

IN PRESENZA DI SOLO ACETILCoA NON È POSSIBILE AVVIARE IL PROCESSO DI GLUCONEOGENESI.

Esiste una forma di collegamento fra la glicolisi e la lipogenesi, ma non esiste un collegamento fra la lipolisi e la gluconeogenesi.

La gluconeogenesi non è un processo attivo in una dieta normale e regolata, non risulta necessaria.

LA GLUCONEOGENESI in poche parole RIPERCORRE LA VIA GLICOLITICA AL CONTRARIO divergendo da essa unicamente a livello enzimatico, e in un caso anche procedurale, per le tre tappe regolatrici fondamentali della glicolisi stessa:

- PIRUVATO → FOSFOENOLPIRUVATO.
- FRUTTOSIO 1,6DP → FRUTTOSIO 1P.
- GLUCOSIO 6P → GLUCOSIO.

Per quanto concerne i precursori necessari alla formazione del glucosio possiamo dire che:

- LATTATO → PIRUVATO questo processo avviene tramite la lattico deidrogenasi che consuma NAD^+ .
- AMMINOACIDI GLUCOGENETICI: possono entrare in forma di piruvato.
- GLICEROLO: ricavato per esempio dagli acidi grassi può essere integrato a livello del diidrossiacetone fosfato.

La presenza di reazioni catalizzate da enzimi diversi rispetto alle reazioni glicolitiche è essenziale per la separazione delle due vie metaboliche una dall'altra.

PIRUVATO → PEP

si tratta di una reazione molto complessa, il fosfoenolpiruvato infatti è un composto estremamente importante dal punto di vista energetico in quanto a livello della glicolisi permette la formazione di una molecola di ATP (fosforilazione a livello del substrato), la cellula deve quindi, per riempire questo forte vuoto energetico, frammentare la reazione di fosforilazione in numerose reazioni energeticamente più facili da compiere. La sintesi del PEP avviene quindi in due fasi:

FASE MITOCONDRIALE:

- CARBOSSILAZIONE DEL PIRUVATO ad OSSALACETATO:
ad opera della PIRUVATO CARBOSSILASI il piruvato mitocondriale viene carbossilato ad ossalacetato:
$$\text{CO}_2 + \text{piruvato} + \text{ATP} \rightarrow \text{ossalacetato} + \text{ADP} + \text{Pi} + \text{H}^+$$

si ha quindi una spesa iniziale di una molecola di ATP; il problema è che la molecola si trova ancora a livello mitocondriale.
- RIDUZIONE DELL'OSSALACETATO A MALATO:
interviene l'enzima del ciclo di krebs che di solito catalizza la reazione opposta a trasformare l'ossalacetato in malato, idrossiacido dicarbossilico; l'enzima è la MALICO DEIDROGENASI, una deidrogenasi NAD^+ dipendente.
- TRASFERIMENTO DEL MALATO: il malato viene trasferito attraverso i carrier per gli acidi bicarbossilici a livello citosolico dove può entrare nella via gluconeogenetica.

FASE CITOSOLICA:

- OSSIDAZIONE DEL MALATO AD OSSALACETATO:
il malato viene nuovamente ossidato ad ossalacetato, immediato precursore del PEP; in questo modo sostanzialmente ho TRASFERITO LA MOLECOLA DI OSSALACETATO MITOCONDRIALE A LIVELLO CITOSOLICO.
- DECARBOSSILAZIONE E FOSFORILAZIONE DELL'OSSALACETATO:
interviene la FOSFOENOLPIRUVATO DECARBOSSILASI CHINASI che trasforma l'ossalacetato in fosfoenolpiruvato con spesa di una molecola di GTP.

La gluconeogenesi procede nelle varie tappe seguendo di fatto l'andamento inverso della glicolisi e sfruttandone i medesimi enzimi fino al FRUTTOSIO 1,6DP:

FRUTTOSIO 1,6DP → FRUTTOSIO 6P

la reazione in questo caso è molto più semplice, è sufficiente infatti l'intervento di una FOSFATASI, detta 1,6FRUTTOSIO DP FOSFATASI, che elimina il fosfato in posizione 1

liberandolo, la reazione è inoltre semplice perché la delta di energia libera per la reazione di idrolisi del legame è di -3,9kcal/mol.

GLUCOSIO 6P → GLUCOSIO

anche in questo caso la reazione è spontanea e viene catalizzata da una fosfatasi, la GLUCOSIO 6P FOSFATASI, la reazione nel suo complesso presenta una energia libera di idrolisi di -2,9kcal/mol.

SCHEMA COMPLESSIVO:

Il livello di attività di glicolisi e gluconeogenesi è associato a numerosi fattori, tuttavia in

entrambi i casi la stragrande maggioranza delle reazioni avviene a livello citosolico, risulta necessario quindi dividere le due tipologie di reazione con metodi diversi dalla separazione in compartimenti:

- GLICOLISI: funziona unicamente in presenza di glucosio.
- GLUCONEOGENESI: dipende dalla presenza di precursori utilizzabili.

Oltre a queste due forme di regolazione di base riconosciamo anche:

- AMP ALTO: carica energetica bassa quindi:
 - STIMOLAZIONE GLICOLISI soprattutto a livello di PFK1.
 - INIBIZIONE GLUCONEOGENESI.
- CITRATO ALTO: sovralimentazione del ciclo di krebs, quindi:
 - GLICOLISI INIBITA.
 - GLUCONEOGENESI STIMOLATA.

Altra possibile forma di regolazione coinvolge l'ultimo enzima della glicolisi e il primo della gluconeogenesi:

- PIRUVICO CHINASI:
 - stimolata da fruttosio1,6DP.
 - Inibita da ATP.
- PIRUVATO CARBOSSILASI:
 - stimolata da acetilCoA.
 - Inibita da ADP.

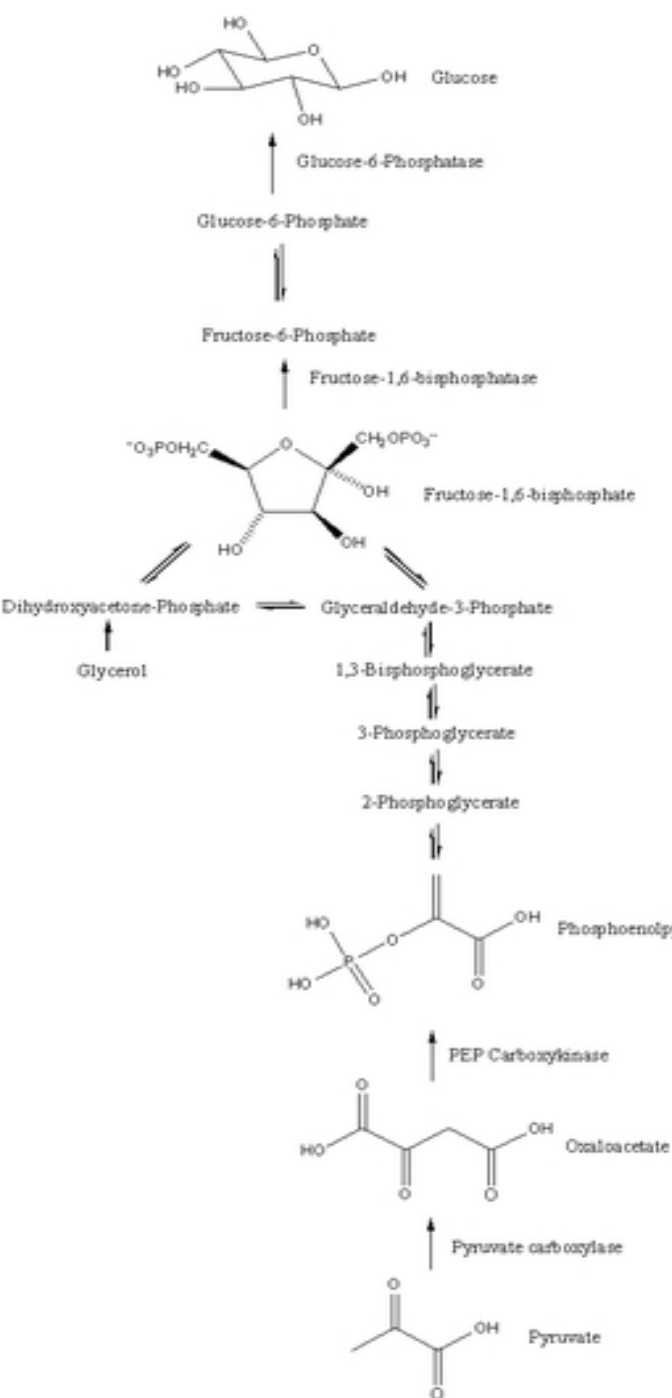
Possiamo riassumere dicendo che:

C.E. ALTA → GLUCONEOGENESI.

C.E. BASSA → GLICOLISI.

Bilancio complessivo della via metabolica:

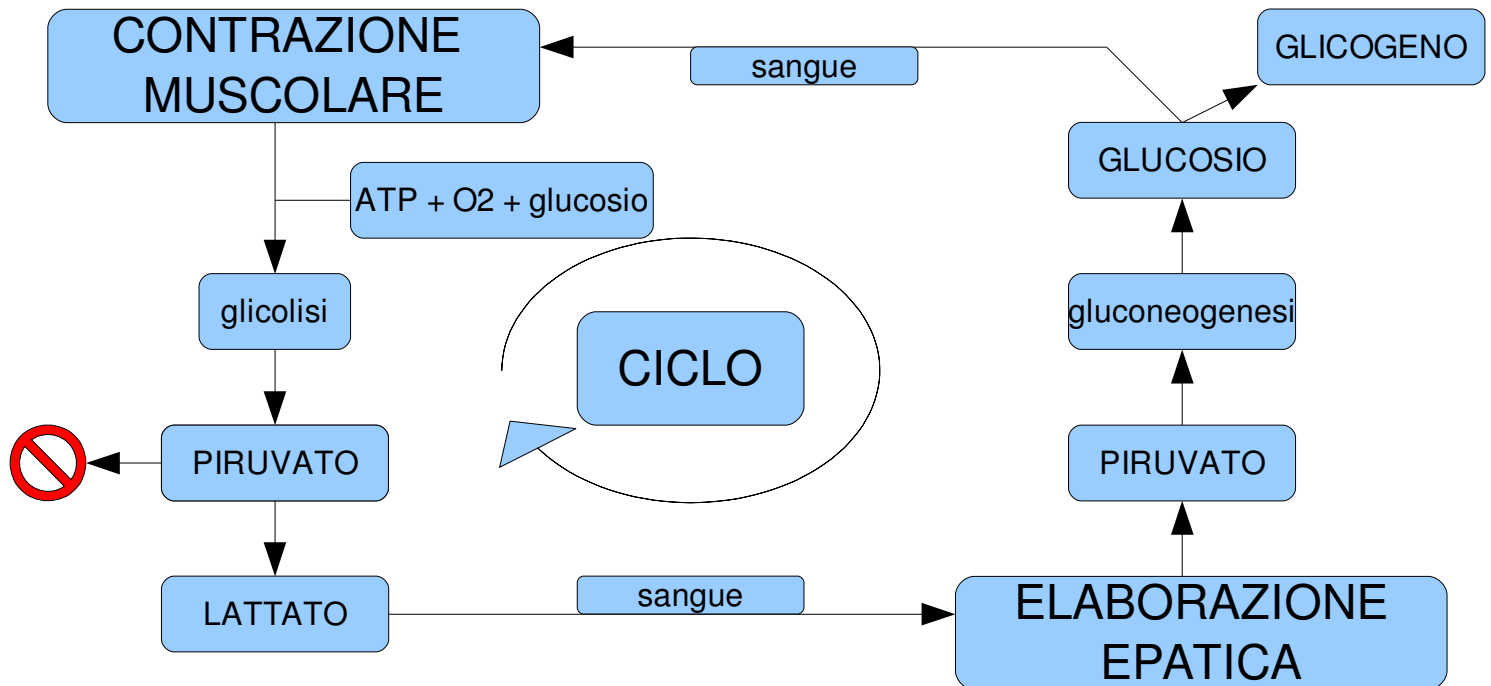
2 piruvato + 4ATP + 2GTP + 2NADH + 2H⁺ + 4H₂O



→ glucosio + 2NAD⁺ + 4ADP + 2GDP + 6 Pi

FEGATO è l'organo che regola complessivamente l'equilibrio glucidico del nostro corpo, in particolare è importante sottolineare che **UNICAMENTE A LIVELLO EPATICO È PRESENTE LA GLUCOSIO 6P FOSFATASI** che consente la liberazione del glucosio a livello ematico dopo la sua sintesi.

GLICOLISI E GLUCONEOGENESI IN UNO SFORZO BREVE ED INTENSO:



FASE DI CONTRAZIONE: il muscolo usa le sue riserve energetiche per contrarsi, ma vista la velocità dello sforzo non riesce ad utilizzare il ciclo di krebs. A livello cellulare l'enzima **LATTICO DEIDROGENASI** non è specializzato nel recupero del piruvato dal lattato, recupera unicamente equivalenti redox.

FASE DI RECUPERO: l'acido lattico riversato in circolo arriva al fegato dove una **LATTICO DEIDROGENASI** specializzata nella trasformazione del lattato in piruvato incanala quest'ultimo nella gluconeogenesi. Il glucosio recuperato può subire due destini: tornare al muscolo in caso di necessità o essere accumulato in forma di glicogeno.

METABOLISMO DEL GLICOGENO

GLICOGENO: si tratta di una molecola di riserva fondamentale per il nostro organismo, è un polimero del glucosio caratterizzato dalla presenza di legami $O\alpha 1\rightarrow4$; a livello strutturale si presenta come una catena avvolta su sé stessa con numerose ramificazioni caratterizzata da due estremità, una **RIDUCENTE** iniziale possiamo dire, e una **NON RIDUCENTE**, terminale. A livello metabolico viene mobilitato in caso di mancanza di energia in forma di glucosio. Ha due funzioni sostanzialmente:

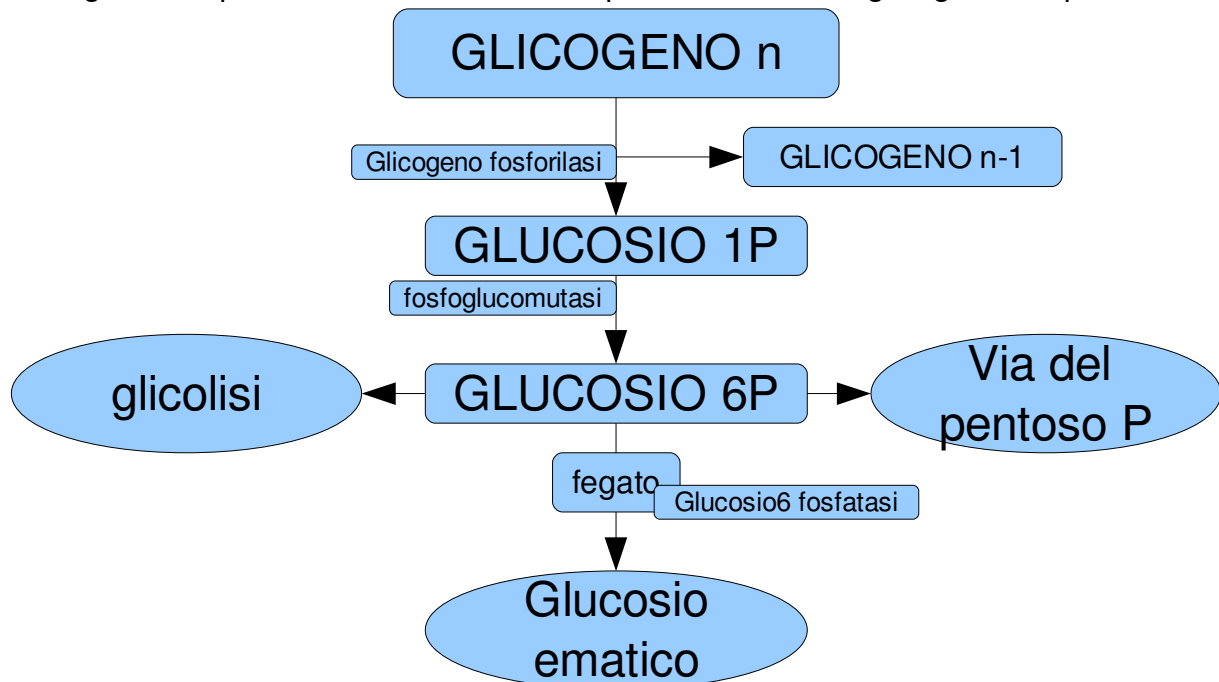
- **OMEOSTATICA:** mantiene la concentrazione ematica di glucosio a livelli ideali.
- **ENERGETICA:** viene consumato immediatamente nel caso in cui vi sia una richiesta rapida di energia e mancanza di glucosio.

LOCALIZZAZIONE: il glicogeno si trova di fatto in tutte le cellule del nostro corpo ma in particolare a livello **MUSCOLARE** ed **EPATICO**:

1. **FEGATO:** svolge una funzione fundamentalmente omeostatica, in caso di calo di glucosio ematico il fegato è capace di ricavarlo dal glicogeno e quindi di trasformarlo in glucosio che viene liberato in circolo.
2. **MUSCOLO:** viene consumato immediatamente in caso di sforzo muscolare, il muscolo inoltre non è dotato di glucosio6P fosfatasi e non è quindi in grado di espellere glucosio dalla cellula.

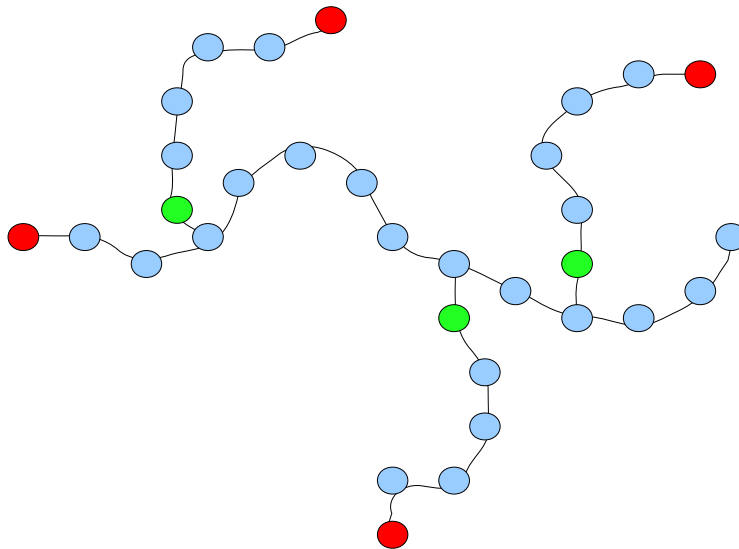
A livello cellulare si presenta in forma di **PICCOLI GRANULI CITOSOLICI** costituiti di glucidi e di proteine enzimatiche (ma non solo).

In linea generale possiamo schematizzare i possibili utilizzi di glicogeno in questo modo:



DEMOLIZIONE DEL GLICOGENO: si tratta di un processo che avviene a livello

muscolare ed epatico; le dimensioni della molecola variano sensibilmente in relazione allo stato fisico del corpo e al consumo richiesto; generalmente comunque a livello epatico e muscolare troviamo complessi di glicogeno caratterizzati da una massa molecolare nell'ordine di milioni di UMA. Possiamo schematizzare la struttura del glicogeno in questo modo:



La struttura presenta quindi:

- VERDE = DIRAMAZIONI.
- ROSSO = ESTREMITÀ NON RIDUCENTE.

La sintesi procede dall'estremità non riducente ancora libera per legame O glicosidico con l'estremità riducente del glucosio che viene aggiunto alla molecola; ogni ramificazione presenta quindi una estremità non riducente libera finale.

DEGRADAZIONE DELLA MOLECOLA DI GLICOGENO:

si tratta di un processo che procede per fasi e coinvolge alcuni enzimi fondamentali:

- **DISTACCO DI UNA MOLECOLA DI GLUCOSIO DALLA ESTREMITÀ NON RIDUCENTE DELLA CATENA PRINCIPALE:** si tratta di una reazione che avviene per FOSFOROLISI:

La reazione avviene quindi per intervento di una molecola di fosfato che favorisce la reazione di lisi del glucosio dal glicogeno e porta alla formazione di glucosio 1 fosfato; l'enzima che si occupa di catalizzare questa reazione è la GLICOGENO FOSFORILASI. La reazione è reversibile ma viene sbilanciata grazie al consumo del glucosio e dal rapporto fosfato/glucosio1P che ne scaturisce (= 100/1).

- **INCONTRO DI UNA RAMIFICAZIONE:** la glicogeno fosforilasi continua la sua opera di fosforolisi fino ad arrivare ad una distanza di circa quattro unità monosaccaridiche da una ramificazione, giunta a questo punto NON RICONOSCE PIÙ IL SUBSTRATO; a questo punto interviene un enzima detto DERAMIFICANTE che compie due azioni:
 - **GLUCAN TRANSFERASICA:** taglia la ramificazione in corrispondenza del glucosio che la genera e lega la catena di tre unità monosaccaridiche così ricavata alla catena principale.
 - **ALFA 1→6 GLICOSIDASICA:** si occupa di rompere il legame alfa 1→6 che costituiva la base della ramificazione già tagliata; si tratta in questo caso di una azione di idrolisi.

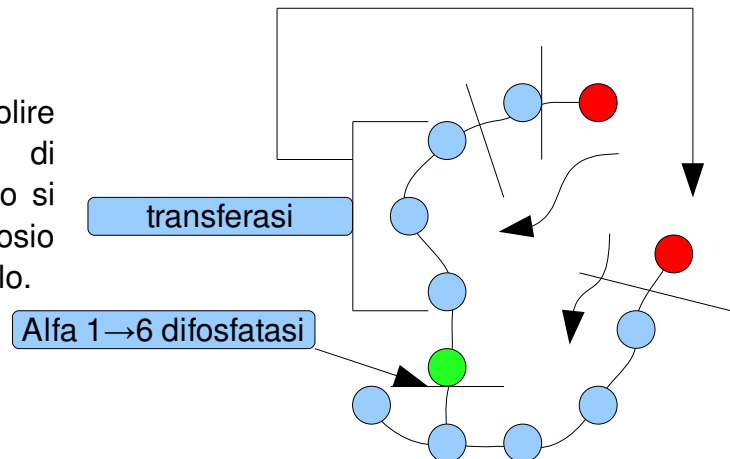
Sostanzialmente la fosforilasi taglia la catena principale mentre l'enzima deramificante si occupa di eliminare i residui più corti e non riconoscibili delle ramificazioni.

- TRASFORMAZIONE DEL GLUCOSIO 1P IN GLUCOSIO 6P:

Interviene a questo punto la FOSFOGLUCOMUTASI che praticamente trasferisce il glucosio dalla posizione 1 alla posizione 6, il tutto in due fasi:

- LEGA UN SECONDO FOSFATO ALLA MOLECOLA IN POSIZIONE 6.
- COMPIE UNA IDROLISI DEL FOSFATO IN POSIZIONE 1.

In questo modo posso demolire gradualmente tutta la molecola di glicogeno; se poi il glicogeno demolito si trova a livello epatico tramite la glucosio 6P fosfatasi è possibile inviarlo in circolo.

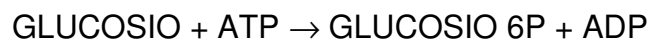


SINTESI DEL GLICOGENO: si tratta di un fenomeno che si verifica in condizioni opposte rispetto a quello di glicogeno lisi; sono necessarie infatti:

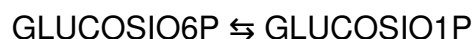
- PRESENZA DI GLUCOSIO LIBERO.
- PRESENZA DI CARICA ENERGETICA SUFFICIENTEMENTE ALTA.

Le fasi di questo tipo di processo sono le seguenti:

- SINTESI DI GLUCOSIO 6P: reazione che avviene normalmente a livello cellulare in conseguenza alla presenza di glucosio per mantenere il glucosio stesso all'interno della membrana:

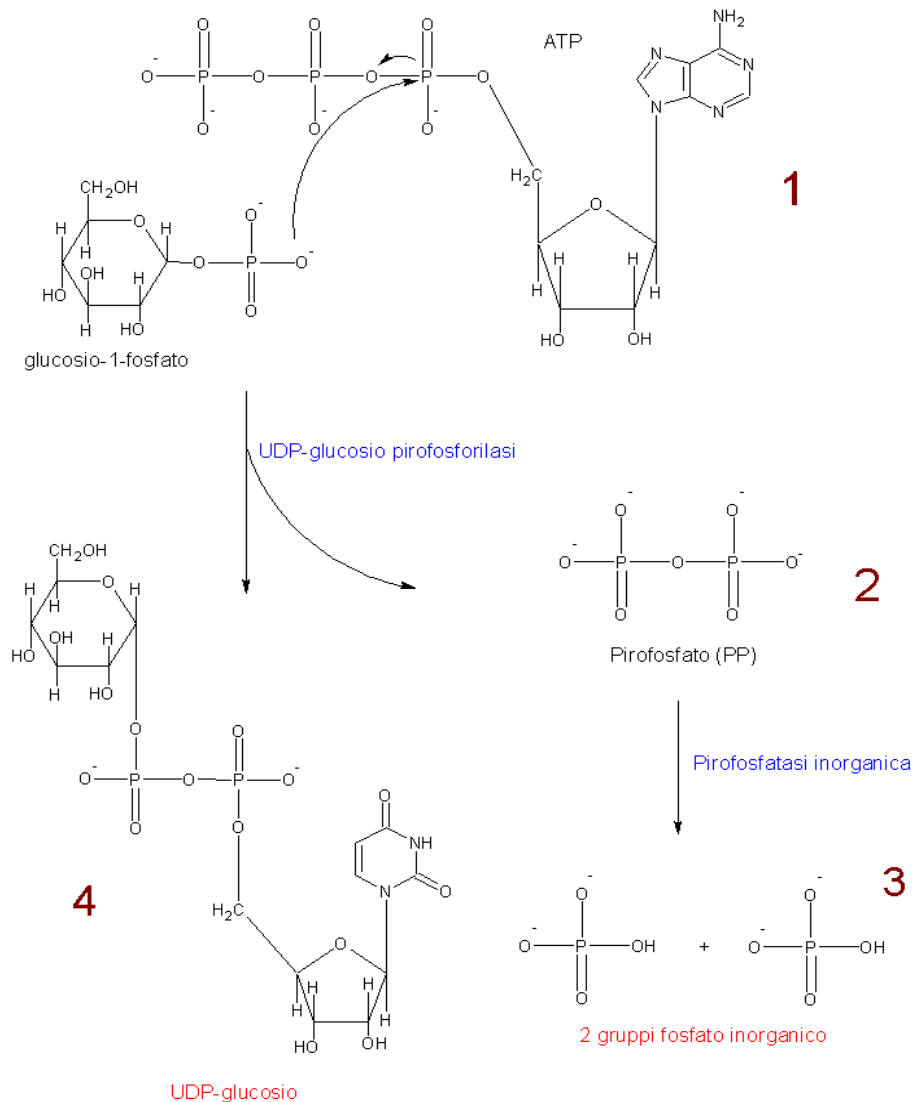


- TRASFORMAZIONE DEL GLUCOSIO 6P IN GLUCOSIO 1P: si tratta della reazione inversa a quella descritta per la catabolizzazione del glicogeno; l'enzima che catalizza questa reazione è la FOSFOGLUCOMUTASI:



- ATTIVAZIONE DEL GLUCOSIO: per consentire la sintesi attiva di glicogeno è necessario attivare il monomero affinché sia predisposto alla reazione di polimerizzazione; il GLUCOSIO 1P deve quindi essere associato ad una uridina per dare UDP GLUCOSIO, cioè la forma attivata del glucosio. Il pirofosfato ottenuto verrà degradato a livello citosolico dalla pirofosfatasi. Di fatto dei due fosfati che compongono la molecola di UDP glucosio, solo uno originariamente era parte della UTP; tuttavia per comodità si definisce la molecola UDP glucosio.

Il legame con l'URIDINA DIFOSFATO genera una attivazione molto forte a livello della molecola glucidica stimolando la reazione di polimerizzazione.



- **ALLUNGAMENTO DELLA CATENA DI GLICOGENO:** si assiste alla lisi del legame fra il glucosio e l'UDP e la sua associazione alla catena preformata di glicogeno presente a livello cellulare; l'unico enzima capace di catalizzare in modo esatto questa reazione (formazione di legame $O\alpha 1 \rightarrow 4$) è la **GLICOGENO SINTASI**:
Appare evidente a questo punto la necessità di avere, per poter ampliare le riserve di glicogeno, una catena preformata di glicogeno stesso. Tuttavia questo non è sempre possibile, in casi di digiuno estremo il glicogeno sparisce completamente dalla cellula e l'unico modo per poter creare glicogeno de novo è utilizzare UNO STAMPO GLICOPROTEICO dato da una proteina glicosilata con quattro unità monosaccaridiche detta proteina primer, si tratta di una famiglia di proteine dette **GLICOGENINE**.
- **CREAZIONE DELLE RAMIFICAZIONI:** raggiunta una certa lunghezza a livello della catena polisaccaridica (circa 10-11 residui) è necessario inserire delle ramificazioni; interviene di nuovo una **TRASFERASI** che preleva una catena di quattro-sei residui monosaccaridici e la lega alla catena del glicogeno attraverso legame alfa $1 \rightarrow 6$.

Facendo un bilancio complessivo della energia spesa nell'allungamento unitario della

molecola di glicogeno ottengo un risultato di questo tipo:

REAZIONE	BILANCIO
Glucosio6P $\rightarrow$ glucosio1P	0 ATP
Glucosio1P $\rightarrow$ UDP glucosio	-2 ATP
Ppi + H ₂ O $\rightarrow$ 2Pi	+1 ATP
UDP glucosio + glicogeno n $\rightarrow$ glicogeno n+1 + UDP	+1 ATP
UDP + ATP $\rightarrow$ UTP + ADP	-1 ATP
TOTALE	-1 ATP

Senza contare però la prima obbligatoria fosforilazione del glucosio, ma questa avverrebbe in ogni caso, sia che la molecola fosse indirizzata alla glicolisi sia alla glicogenosintesi.

REGOLAZIONE DEI DUE PROCESSI: come noto un processo anabolico e uno catabolico non possono mai avvenire in contemporanea, di conseguenza è necessario che gli enzimi responsabili dei due processi non siano mai attivi contemporaneamente. Gli enzimi che principalmente si occupano di questo processo sono:

- GLICOGENO FOSFORILASI
- GLICOGENO SINTASI

entrambi possono essere presenti in due forme diverse:

GLICOGENO FOSFORILASI:

- attiva o A $\rightarrow$ FOSFORILATA
- Inattiva o B $\rightarrow$ NON FOSFORILATA

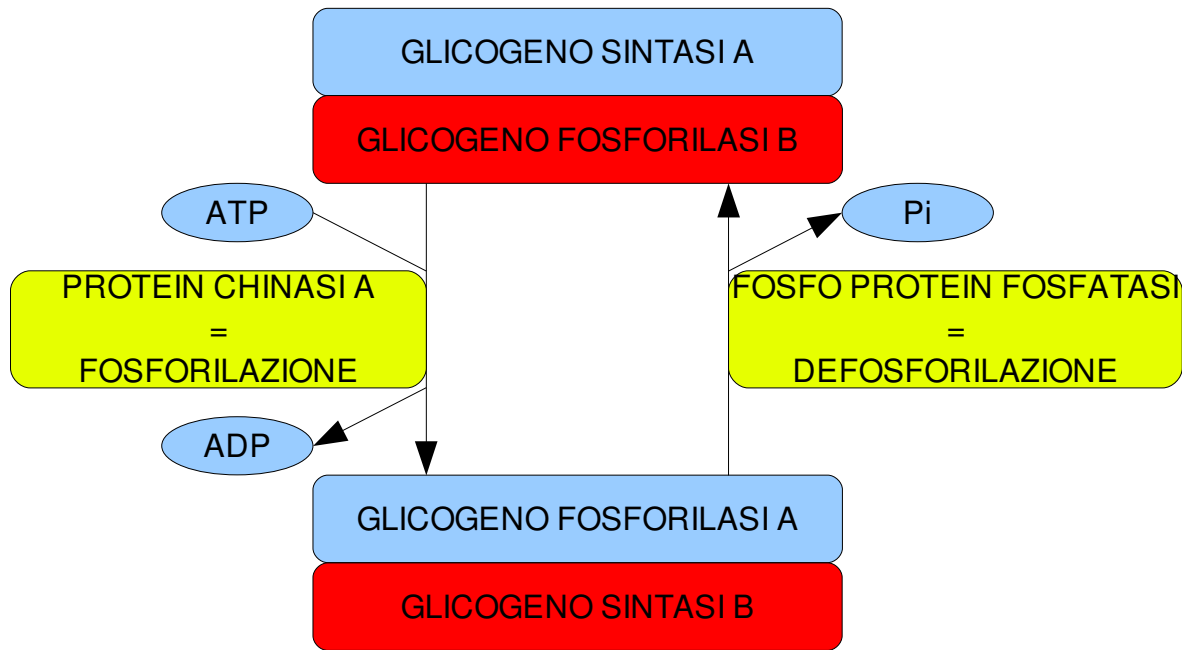
GLICOGENO SINTASI:

- attiva o A $\rightarrow$ NON FOSFORILATA
- inattiva o B $\rightarrow$ FOSFORILATA

Entrambi gli enzimi sono sensibili ai medesimi meccanismi di fosforilazione e defosforilazione, cioè due enzimi si occupano per entrambe le proteine delle medesime reazioni:

- FOSFO PROTEIN FOSFATASI si occupa di defosforilare le molecole in questione.
- PROTEIN CHINASI A si occupa invece di fosforilare la glicogeno sintasi e di attivare una fosforilasi chinasi che fosforila la glicogeno fosforilasi (quindi indirettamente la glicogeno fosforilasi).

Sostanzialmente assistiamo ad un fenomeno di AUTOREGOLAZIONE basato sulla attivazione della chinasi o della fosforilasi:



ORMONI STIMOLATORI DEL CATABOLISMO DEL GLICOGENO: sono sostanzialmente due:

- **GLUCAGONE:** secreto dalla componente endocrina del PANCREAS, agisce a livello epatico; questo ormone viene secreto in conseguenza ad un abbassamento della glicemia, in particolare questo raggiunge gli epatociti e stimola la degradazione del glicogeno che viene scinto in glucosio che si riversa a livello ematico; provoca quindi:
 - INNALZAMENTO DELLA GLICEMIA.
 - CONSUMO DI GLICOGENO.

Per quanto concerne il bersaglio di questo ormone quello principale è sicuramente il FEGATO ma anche altre cellule possono contribuire all'innalzamento del glucosio ematico semplicemente utilizzando il glucosio derivato dal glicogeno senza prelevarne altro.

- **ADRENALINA:** si tratta di un ormone secreto dalla parte midollare della ghiandola surrenale, agisce sostanzialmente a livello MUSCOLARE stimolando la glicogenolisi in risposta ad uno stimolo improvviso proveniente dall'esterno; ha la funzione di incrementare il glucosio disponibile a livello della glicolisi.

Questi ormoni sono di natura peptidica o amminica, non sono in grado di oltrepassare la barriera della membrana cellulare, necessitano quindi di un messaggero intracellulare: il cAMP o AMP ciclico. Si tratta di una molecola nucleotidica caratterizzata dalla presenza di un legame diestereo intrinseco alla molecola stessa, la sua struttura è la seguente:

Il cAMP si forma dall'ATP per idrolisi di un pirofosfato e successiva formazione di un legame diestereo interno. L'enzima che catalizza questa reazione è la ADENILATO CICLASI che si trova a livello della membrana plasmatica e viene attivata proprio dall'arrivo di determinati ormoni.

il caso della adrenalina è sicuramente il più eclatante:

1. ADRENALINA raggiunge la cellula e si lega ad un suo specifico recettore a livello di membrana, questo muta la sua conformazione e ATTIVA LA ADENILATO CICLASI.
2. ADENILATO CICLASI ATTIVATA sintetizza un gran numero di molecole di cAMP che si accumula nel citosol.
3. cAMP CITOSOLICO rende possibile la attivazione di determinate proteine citosoliche dette PROTEIN CHINASI in due modi diversi:
 1. PROVOCA LA LORO FOSFORILAZIONE.
 2. MODIFICA LA LORO STRUTTURA: numerose chinasi sono costituite di due subunità nella loro conformazione non attiva, il cAMP si lega alla subunità regolatrice e la separa dalla subunità catalitica che in questo modo si attiva.
4. PROTEIN CHINASI libere ora possono agire a livello di altri enzimi attivandoli o disattivandoli, in particolare:
 1. GLICOGENO FOSFORILASI viene attivata per fosforilazione, ma interviene in questo caso un ulteriore mediatore, la FOSFORILASI CHINASI, un mediatore specifico che viene attivato dalle chinasi attivate dal cAMP.
 2. GLICOGENO SINTASI viene disattivata per fosforilazione diretta.In questo modo sostanzialmente DISATTIVO LA SINTESI DI GLICOGENO e contemporaneamente ATTIVO LA DISTRUZIONE DEL GLICOGENO STESSO.

Un aspetto rilevante di questo tipo di via metabolica è sicuramente questo: a partire da un numero di trasmettitori relativamente basso (adrenalina viene secreta nell'ordine di nano moli) si giunge ad un livello intracellulare di messaggeri e intermedi via via più alto (ogni molecola agisce su più di una molecola del livello di trasmissione successivo).

Terminata la necessità di ottenere energia l'adrenalina si separa dal suo recettore e la via metabolica si spegne gradualmente per degradazione dei vari intermedi.

Nel muscolo anche lo ione calcio è un attivatore della fosfatasi.

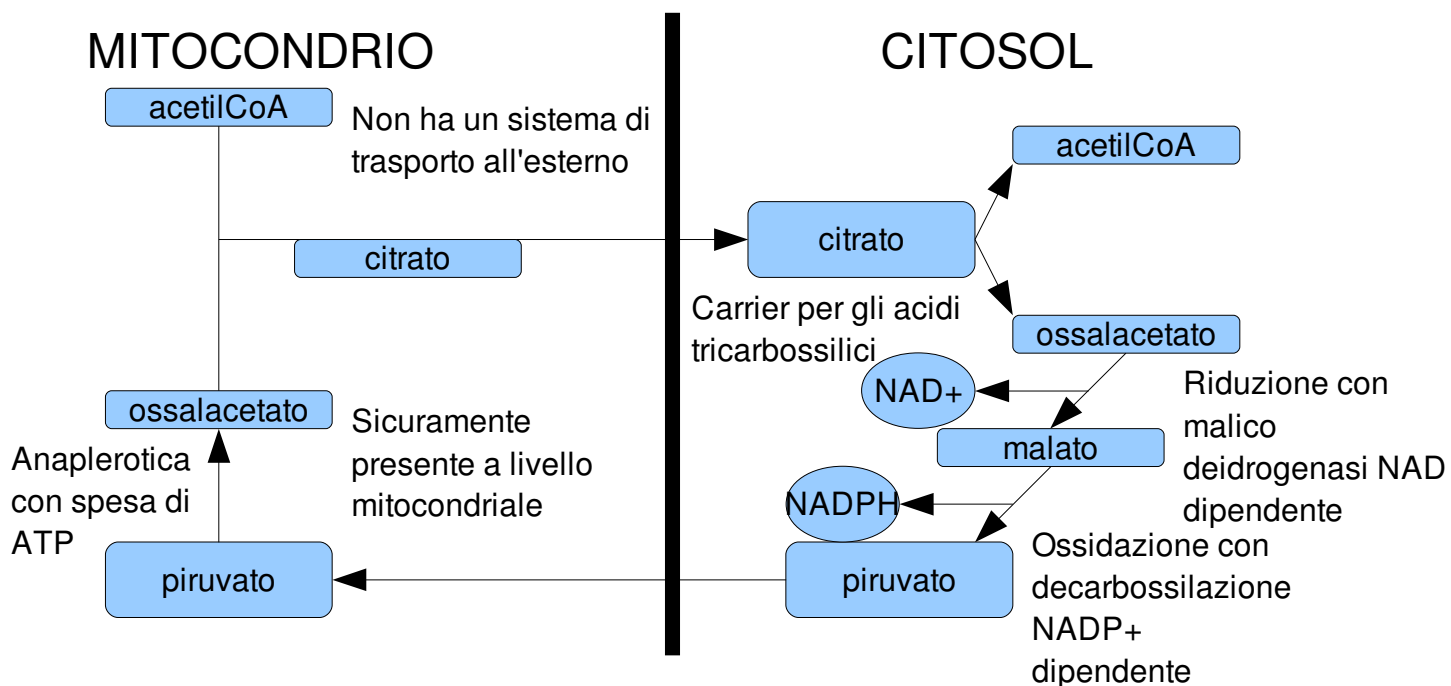
SINTESI DEGLI ACIDI GRASSI

La sintesi dei lipidi a scopo accumulativo è inevitabilmente preceduta dalla sintesi degli ACIDI GRASSI, componente fondamentale sia degli sfingolipidi che dei trigliceridi. Per poter compiere una operazione di questo tipo è essenziale che siano presenti a livello CITOSOLICO, dove di fatto tale sintesi avviene:

- un ATTIVATORE TRASPORTATORE di acili, si tratta di una proteina detta ACP (acil carrier protein).
- Un COMPLESSO ENZIMATICO composto di numerose subunità e detto ACIDO GRASSO SINTASI composto di circa 400mila UMA.
- PRECURSORE DIRETTO dell'acido grasso, cioè l'unità bicarboniosa ACETILCoA.
- AGENTE RIDUCENTE essenziale per compiere reazioni di riduzione del carbonile a semplice carbonio e idrogeno, in questo caso, come per ogni reazione di biosintesi, l'agente sarà l' NADPH .

Attraverso il meccanismo tipicamente citosolico della sintesi degli acidi grassi la cellula è in grado di sintetizzare senza problemi molecole di acidi grassi fino a 16 atomi di carbonio, oltre questa lunghezza non è possibile arrivare se non coinvolgendo altri sistemi enzimatici e altri scompartimenti cellulari (reticolo endoplasmatico) ove la sintesi può procedere anche fino a 24 atomi di carbonio.

La prima necessità da colmare è sicuramente la presenza citosolica di AcetilCoA, questo infatti si colloca nel mitocondrio normalmente e viene prodotto dalla catabolizzazione degli zuccheri. Il processo di esportazione delle molecole di acetilCoA viene eseguito dalla cellula sfruttando un intermedio del ciclo di krebs:



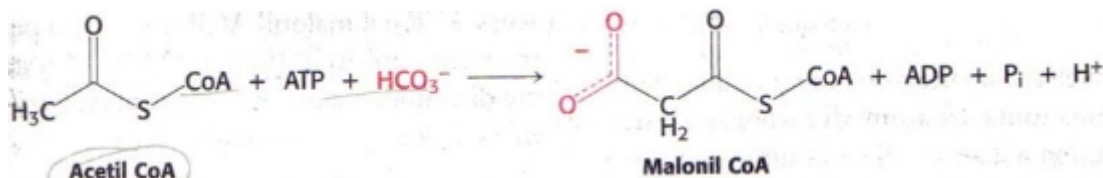
Quindi per ogni molecola di acetilCoA che viene esportata dal mitocondrio:

- FORMIAMO:
 - una molecola di NADPH.
- CONSUMIAMO:
 - due molecole di ATP:
 - nella reazione di lisi del citrato a ossalacetato ed acetilCoA che avviene grazie alla presenza della ATP citrato liasi che consuma appunto una molecola di ATP.
 - Nella reazione anaplerotica di trasformazione del piruvato ad ossalacetato.
 - un NADH(H⁺) per la riduzione dell'ossalacetato a malato.

Questo processo avviene principalmente a livello di tessuti adiposo, epatico ed intestinale nonché nella ghiandola mammaria quando funzionante; moltissime sostanze possono essere praticamente precursori degli acidi grassi

LA SINTESI degli acidi grassi procede per unità bicarboniose che vengono saldate una sull'altra a formare catene via via più lunghe; il tutto attraverso una serie di fasi diverse:

- TRASFORMAZIONE DELL'ACETILCoA IN MALONILCoA:



si tratta di una reazione estremamente semplice, una carbossilazione del metile che costituisce l'acetile legato al coenzimaA; è necessaria la presenza di bicarbonato per eseguire la carbossilazione; l'enzima che esegue questa operazione è la ACETILCoA CARBOSSILASI.

Questa reazione è regolata allostericamente da alcuni composti:

- ATTIVAZIONE viene attivata da indicatori di presenza di energia o ormoni di varia natura come:
 - CITRATO.
 - ISOCITRATO.
 - INSULINA.
- INIBIZIONE viene inibita da indicatori di avvenuta sintesi degli acidi grassi o ormoni che indicano necessità di energia in forma di acetilCoA come:
 - PALMITOILCoA.
 - GLUCAGONE.
 - ADRENALINA.
 - NORADRENALINA.
- TRASFERIMENTO DEL MALONILE DAL COENZIMA A ALLA ACP proteina trasportatrice di acili:

si tratta di una reazione molto facile per due motivi:

 - L'ENERGIA LIBERA DI IDROLISI del legame coenzimaA-malonil è molto elevata, la spontaneità della reazione contribuisce molto.

STRUTTURA DELLA PROTEINA TRASPORTATRICE: si tratta di una struttura di 78 amminoacidi che presenta ad una delle estremità una serina alla quale è

legata una unità di FOSFOPANTOTENATO, la struttura di legame risulta praticamente identica quindi, l'unica differenza sta nella complessità della molecola cui il pantotenato è legato, questa è tale da garantire la possibilità di scivolamento della struttura proteica nel complesso enzimatico facilitando l'intero processo.

Anche gli ACETILI vengono trasferiti dall'acetil CoA alla proteina trasportatrice.

A questo punto comincia il vero e proprio ciclo di allungamento della catena dell'acido grasso, abbiamo infatti ora a livello citosolico presenti sia MALONILCoA sia ACETILCoA. **CONDENSAZIONE** delle due molecole di acetilACP e malonilACP; taglio l'acetile dalla proteina e lo sposto a livello del malonil che contemporaneamente subisce una reazione di decarbossilazione; l'energia libera di idrolisi garantisce:

- IL TRASFERIMENTO.
- LA DECARBOSSILAZIONE; il carbossile era stato aggiunto in origine unicamente per semplificare l'attivazione.

L'enzima che catalizza questa reazione è la 3 CHETOACIL ACP SINTASI o (acil malonil enzima condensante).

Otengo acetacetilACP.

- **RIDUZIONE** della molecola di acetoacetilACP ottenuta, devo infatti rendere il sito maggiormente attaccabile; lo posso fare unicamente tramite meccanismi di riduzione del secondo carbonile a gruppo alcolico secondario. Questo avviene grazie ad una ossidasi NADPH dipendente.
- **DISIDRATAZIONE**: è necessario ora eliminare l'atomo di ossigeno dalla molecola, questo avviene per semplice disidratazione della molecola che assume quindi una insaturazione.
- **RIDUZIONE**: eliminazione cioè della insaturazione attraverso una reduttasi NADPH dipendente detta ENOIL ACP REDUTTASI.

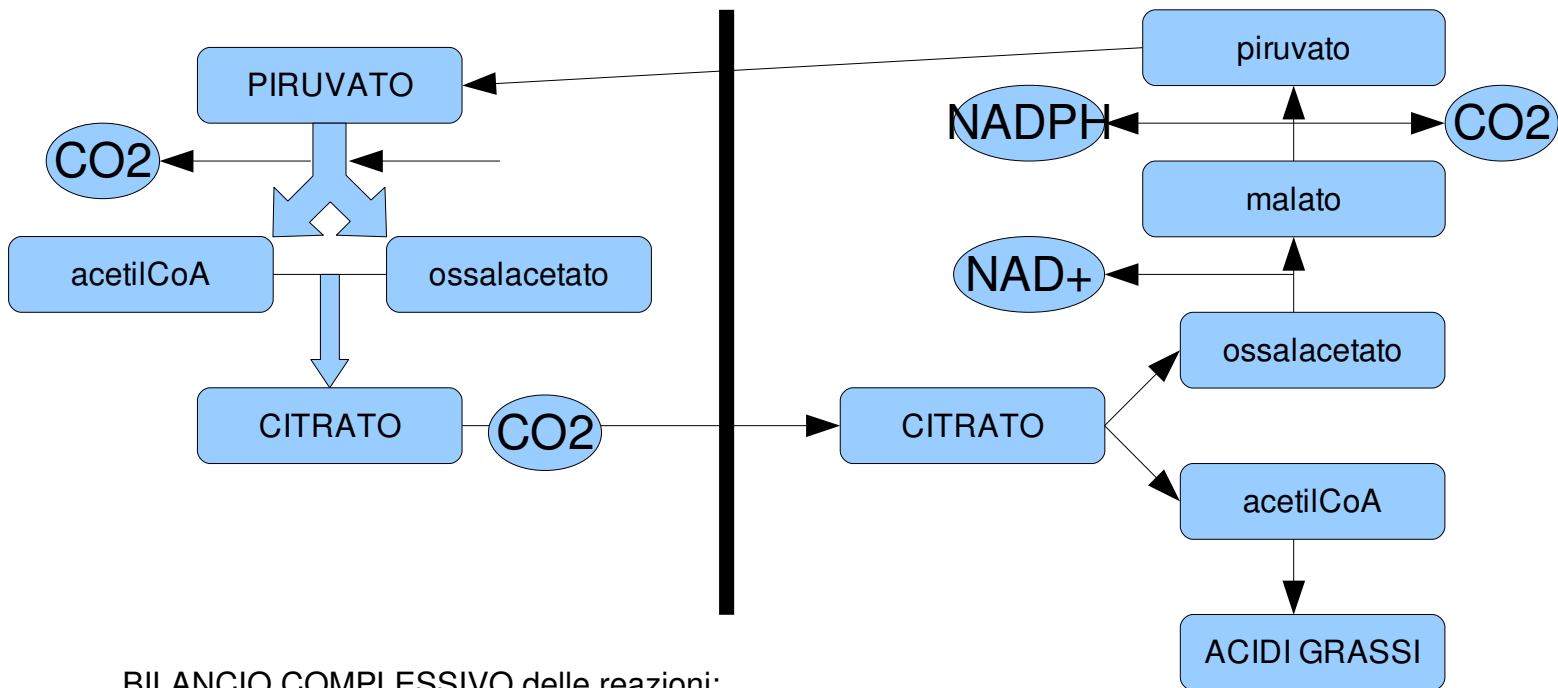
Le tappe successive alla condensazione catalizzata dalla 3CHETOACIL ACP SINTASI sono essenzialmente l'inverso delle reazioni mitocondriali di catabolizzazione degli acidi grassi.

È inoltre importante sottolineare il fatto che ad ogni ciclo mutano i composti coinvolti e muta il loro nome.

Una volta sintetizzato il PALMITOIL ACP cioè l'acido grasso a 16 atomi di carbonio, tappa finale della via metabolica, viene rimossa la proteina e l'acido grasso può:

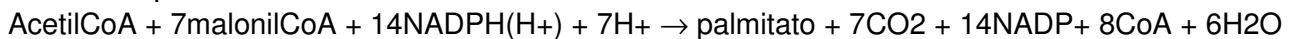
1. **VENIRE ASSOCIATO** a GLICEROLO per formare trigliceridi.
2. **ESSERE TRASPORTATO A LIVELLO DEL RETICOLO ENDOPLASMATICO** ove subisce modificazioni di altro genere.

FLUSSO DI REGOLAZIONE DEI MATERIALI:



BILANCIO COMPLESSIVO delle reazioni:

sintesi del palmitato:



sintesi dei 7 malonilCoA necessari:



Totale:



Si tratta di un procedimento molto conveniente, da una molecola di palmitato posso infatti ricavare 130 molecole di ATP.

CONTROLLO DEL METABOLISMO DEI LIPIDI: regolazione cioè delle due vie metaboliche di costruzione e distruzione:

CATABOLICA

- la via ossidativa dipende dalla disponibilità di acidi grassi ovviamente, in assenza di essi non è possibile.
- Adrenalina e glucagone incrementano il consumo di acidi grassi nel digiuno, questi due ormoni infatti:
 - agiscono prima sul glicogeno.
 - Terminato il glicogeno attivano le lipasi che idrolizzano i trigliceridi incrementando la concentrazione di acidi grassi liberi che stimolano la catabolizzazione di sé stessi.
- L'entrata di acidi grassi a livello mitocondriale che avviene grazie alla acilcarnitina trasferasi viene bloccata dal malonilCoA, indice di presenza di livelli alti di energia.

ANABOLICA:

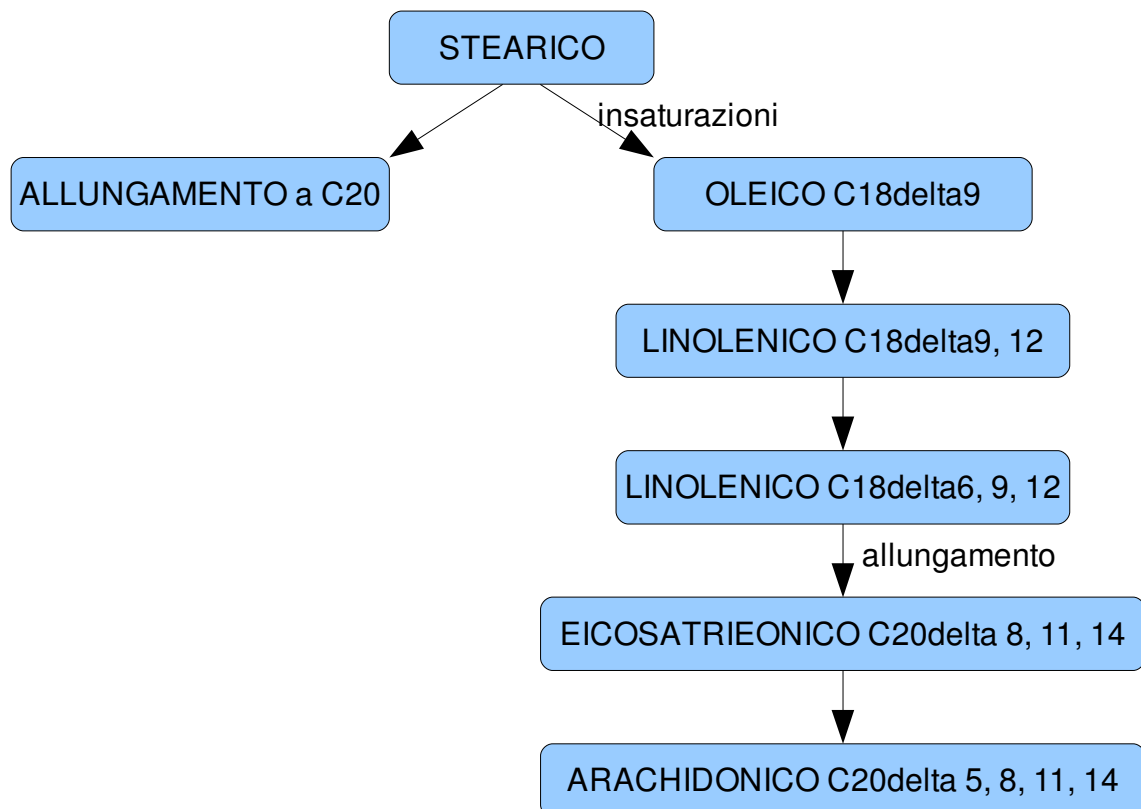
- la via di sintesi risulta elevata nel caso in cui:
 - vi sia alta concentrazione di glucidi nella cellula e conseguente elevata produzione di CoA mitocondriale.
 - Vi sia una bassa concentrazione di acidi grassi inizialmente, con il tempo la loro

concentrazione aumenta e provoca un fenomeno di inibizione allosterica.

- CITRATO stimola la acetilCoA carbossilasi che produce il malonilCoA; il citrato infatti è indice di presenza di energia a livello metabolico e quindi di disponibilità potenziale e attiva di unità bicarboniose. Il citrato inoltre viene esportato a livello citosolico e idrolizzato ad acetilCoA e citrato grazie alla ATP citrato liasi.
- PALMITATO si tratta di un effettore allosterico con effetto opposto, inibisce infatti sia la acetilCoA carbossilasi che la traslocasi che la glucosio6P deidrogenasi:
 - CoA CARBOSSILASI → inibizione della produzione di malonilCoA.
 - TRASLOCASI → inibizione della reazione di uscita dal mitocondrio dell'acetilCoA e conseguente interruzione della correlata produzione di NADPH.
 - GLUCOSIO6P DEIDROGENASI → interruzione della produzione di NADPH dalla via del pentosoP.
- Anche gli ormoni secreti dal pancreas endocrino hanno effetto a questo livello:
 - GLUCAGONE: ormone iperglicemizzante, protein chinasi da esso attivate fosforilano la acetilCoA carbossilasi che viene bloccata (enzima anabolico, bloccato da fosforilazione).
 - INSULINA: ormone ipoglicemizzante, favorisce l'ingresso a livello cellulare del glucosio; praticamente ha effetto opposto sulla sintesi degli acidi grassi.

A livello del reticolo endoplasmatico avvengono tipicamente numerose reazioni funzionali alla formazione di acidi grassi diversi dal palmitato, in esso sono possibili:

- ULTERIORI ALLUNGAMENTI DELLA CATENA.
- CREAZIONE DI INSATURAZIONI.



ACIDO ARACHIDONICO: si tratta di un acido grasso essenziale per quanto concerne la formazione di prostaglandine.

I sistemi di modifica sono estremamente malleabili, possono creare acidi grassi molto diversi fra loro.

SINTESI DEI TRIGLICERIDI: si tratta di una via anabolica che richiede come precursore il gliceroloP e prosegue in una serie di elaborazioni successive:

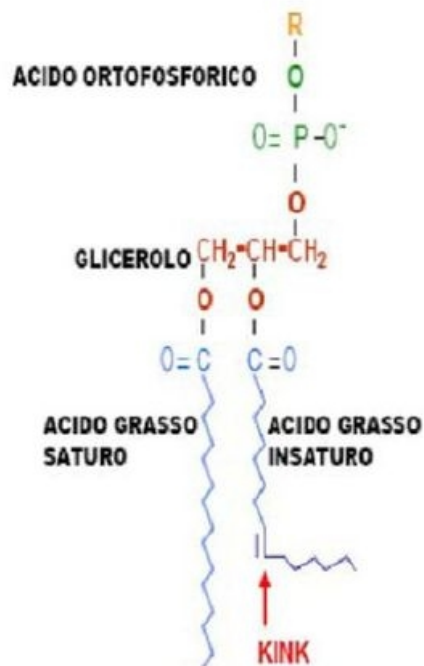
- **ACILAZIONE DEL GLICEROLO3P:**
il tutto con l'ingresso di due molecole di acilCoA che subiscono un fenomeno di idrolisi divenendo CoA libero e fornendo sia l'acile che l'energia per legarlo al glicerolo; l'enzima che catalizza questa reazione è la GLICEROLO P ACIL TRASFERASI.
- **DEFOSFORILAZIONE DEL FOSFATIDATO:** tappa fondamentale per l'ottenimento del trigliceride; sostanzialmente attraverso l'ingresso di una molecola di acqua provocho idrolisi del fosfato che viene liberato nel citosol e formazione di diacilglicerolo; l'enzima che catalizza questa reazione è la FOSFATIDATO FOSFATASI.
- **SINTESI DEL TRIGLICERIDE:**
si assiste alla terza reazione di idrolisi di acile dalla molecola di coenzimaA, la reazione fornisce l'energia necessaria per la formazione del legame estereo. L'enzima che catalizza la reazione in questione è il CoA-SH DIGLICERIDE ACIL TRASFERASI.

LIPIDI DI MEMBRANA: si tratta di lipidi particolari caratterizzati dalla presenza di legami con strutture fondamentali associate generalmente attraverso legami di natura esterea, i FOSFOLIPIDI sono classificabili in queste due grandi categorie:

- **FOSFOGLICERIDI:** si tratta di acidi grassi che presentano un'anima costituita di glicerolo al quale sono legati:
 - 2 ACIDI GRASSI a formare di fatto due lunghe code idrofobiche (diacilglicerolo).
 - 1 TESTA POLARE costituita da una molecola di fosfato esterificata all'ossidrile del terzo carbonio del glicerolo; al fosfato può essere a sua volta esterificato un composto diverso a formare uno schema generale di questo tipo:

dove il gruppo R può essere rappresentato da:

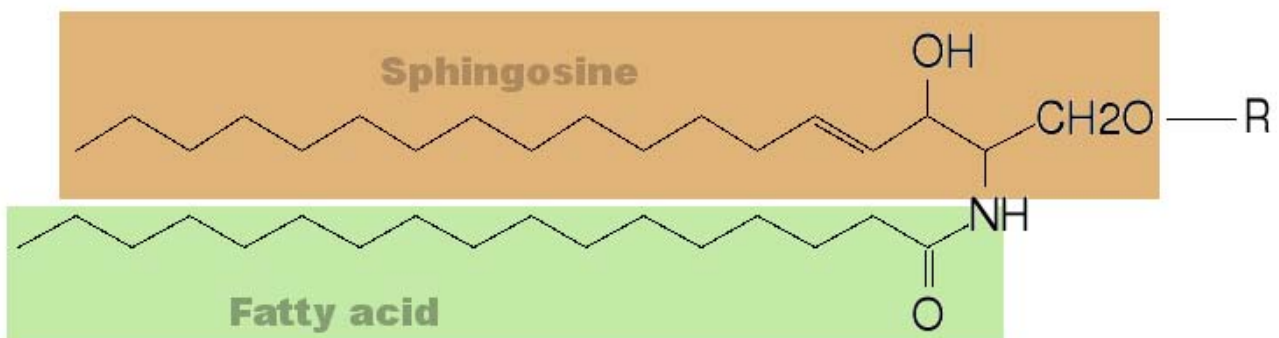
nel momento in cui sia presente unicamente il fosfato la molecola di chiama FOSFATIDATO (acido fosfatidico), i sostituenti possibili in realtà sono estremamente numerosi.



R (RADICALE)	FORMULA
COLINA	$\text{OH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$
ETANOLAMINA	$\text{OH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+\text{H}_3$
SERINA	$\text{OH}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{C}(=\text{O})\text{OH})-\text{N}^+\text{H}_3$

DI-ACIL-FOSFO-GLICERIDE

- **SFINGOLIPIDI:** gli sfingolipidi sono dei lipidi che presentano in sostituzione alla molecola di glicerolo una molecola detta **SFINGOSINA**, si tratta di un amminoalcol:



l'organizzazione strutturale complessiva delle componenti è la seguente:

- **R:** testa polare costituita da una molecola di fosfato esterificata sull'ossidrile del carbonio terminale della struttura della sfingosina; al fosfato, come per i fosfolipidi, possono essere esterificate molecole di vario tipo come quelle viste precedentemente.
- **MARRONE:** coda apolare dell'amminoalcol sfingosina.
- **VERDE:** acido grasso legato con legame ammidico alla struttura della

sfingosina.

A livello strutturale non ci sono grosse differenze fra le strutture fosfolipidiche.

È importante sottolineare che esistono e sono estremamente diffusi i cosiddetti GLICOLIPIDI, si tratta di lipidi caratterizzati dalla presenza a livello della testa di glucidi legati tramite legame etereo.

BIOSINTESI DEI LIPIDI DI MEMBRANA: a seconda del tipo di lipide che viene preso in considerazione vengono utilizzate vie di biosintesi differenti, in particolare:

SINTESI DEI FOSFOGLICERIDI: la sintesi dei fosfogliceridi prevede che vi sia almeno la attivazione di una delle due componenti che li costituiscono; in ogni caso la attivazione prevede il legame della componente con un nucleotide, la citosina trifosfato, in particolare a seconda del fosfolipide di cui è necessaria la sintesi possiamo avere:

- **ATTIVAZIONE DELLA COMPONENTE POLARE:** si attiva la componente polare della molecola, in questo caso la ETANOLAMMINA:
 - **FOSFORILAZIONE DELLA ETANOLAMMINA:** reazione che avviene con spesa di ATP e sempre accompagnata da ione magnesio; si tratta di una reazione di attivazione ma non provoca una attivazione sufficiente alla formazione di fatto della struttura del fosfolipide.
 - **ASSOCIAZIONE ALLA CITOSINA:** si assiste alla formazione di un legame anidrico fra la molecola di citidina e la molecola di etanolammina; il tutto con lisi di un PIROFOSFATO che viene degradato a livello citosolico. Il nome del composto formatosi sarà comunque CITOSINA DIFOSFATO ETANOLAMMINA anche se formalmente i fosfati derivano uno dalla CTP e l'altro dalla P etanolammina.

A questo punto la molecola è attivata ed è possibile il trasferimento attivo della stessa a livello della struttura del diacil glicerolo.

- **TRASFERIMENTO DELLA ETANOLAMMINA SUL DIACILGLICEROLO:** si assiste alla formazione della fosfatidiletanolammina, il fosfolipide completo, il tutto avviene grazie alla presenza di un enzima detto ETANOLAMMINA FOSFOTRASFERASI.

Di fatto la reazione realizzata è la formazione di un legame di natura anidrica che ha fornito sufficiente energia alla formazione di un legame di natura estera altrimenti difficilmente ottenibile. La reazione in questione avviene per la formazione in particolare di FOSFATIDILETANOLAMMINA E FOSFATIDILCOLINA.

- **ATTIVAZIONE DELLA COMPONENTE APOLARE:** si tratta in questo caso della attivazione della componente del diacilglicerolo che sarà proprio per questo capace di formare un legame di natura ANIDRICA con strutture di natura polare. In particolare il processo avviene in questo modo:
sostanzialmente assistiamo alla associazione del fosfatidato (diacilglicerolo fosforilato) alla citosina trifosfato con idrolisi di un pirofosfato che verrà poi degradato nella cellula, si forma quindi l'equivalente attivo del diacil glicerolo che è pronto per essere utilizzato.
la reazione di fatto è la medesima: formazione di un legame anidrico la cui energia di idrolisi è sufficiente a garantire la associazione delle molecole fra loro.

SINTESI DEGLI SFINGOLIPIDI: la sintesi degli sfingolipidi è una reazione che avviene tipicamente in due fasi, una prima nella quale viene formata di fatto la SFINGOSINA, e una seconda nella quale vengono ad essa associate le componenti necessarie. Il precursore più immediato della sfingosina è il PALMITATO acido grasso a 16 atomi di carbonio.

La catena di reazioni avviene in questo modo:

- **CONDENSAZIONE DEL PALMITATO CON LA SERINA:**

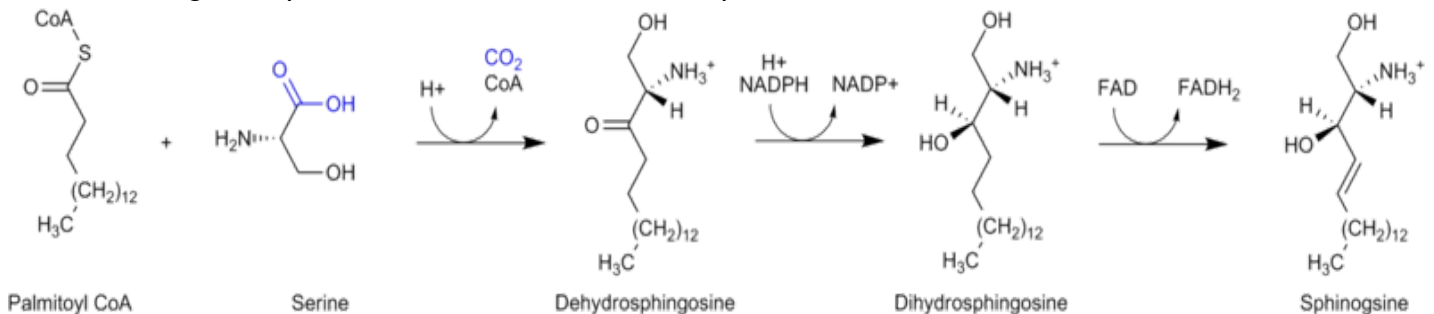
sostanzialmente si assiste alla formazione di un composto a 16+2 atomi di carbonio: la serina viene decarbossilata grazie alla energia di idrolisi del legame palmitato-CoA che si scioglie, si liberano quindi una molecola di CoA e una di CO₂; ora ho raggiunto il numero di atomi di carbonio necessari alla formazione dell'amminoalcol, il composto ottenuto è detto deidrosfingosina o tre cheto diidrosfingosina; la reazione è catalizzata dalla deidrosfingosina sintasi.

- **RIDUZIONE DELLA DEIDROSFINGOSINA:**

la deidrosfingosina presenta un gruppo chetonico che nella molecola di sfingosina è in forma alcolica, devo quindi ridurre il gruppo chetonico ad alcolico; questo avviene grazie ad una idrogenasi NADPH dipendente che produce una molecola di NADP⁺.

- **CREAZIONE DELLA INSATURAZIONE:**

si tratta della reazione finale dell'intero processo di sintesi, si assiste alla fuoriuscita di due atomi di idrogeno a creare di fatto la insaturazione presente sulla molecola completa. La reazione è catalizzata da UNA DEIDROGENASI FAD dipendente che agisce specificamente fra i carboni cinque e sei.



Ho a questo punto la molecola di sfingosina completa, la prossima fase è la costruzione del lipide di membrana completo:

- **FORMAZIONE DI LEGAME AMMIDICO CON UN ACIDO GRASSO:**

si tratta di una reazione che porta alla formazione di quella che viene chiamata CERAMMIDE o N ACILSFINGOSINA (sfingosina+acido grasso); si forma un legame ammidico fra la molecola di acido grasso e il gruppo amminico della sfingosina.

Formata questa struttura di base che di fatto accomuna tutti gli sfingolipidi le strade percorribili sono numerose, in particolare possiamo assistere alla formazione di:

SFINGOMIELINA: si tratta di un lipide tipicamente presente a livello delle guaine mieliniche, si ottiene con l'aggiunta di una molecola di colina alla struttura della ceramide.

CEREBROSIDI: si tratta di molecole che si ottengono per semplice formazione di legame estereo da parte della ceramide con una molecola singola di uno zucchero attivato (legato cioè ad una molecola nucleotidica come in questo caso).

GANGLIOSIDI: si tratta di molecole che presentano una catena di glucidi a costituire la testa polare della molecola. Questi ultimi spesso sono utilizzati nella formazione di strutture di membrana fondamentali come per esempio il glicocalice o segnalatori di membrana (nei globuli rossi e negli spermatozoi per esempio).

Naturalmente la sintesi di questi derivati prevede la formazione di un legame fosfoestereo grazie ai meccanismi di attivazione tipici delle molecole che vengono alla sfingosina condensate; nel caso della sintesi della sfingomielina le possibilità sono due:

- trasferimento della colina fosfato a partire da una molecola di fosfatidil colina.
- Legame diretto della molecola di colina a partire dalla forma attivata di CDPcolina.

IL METABOLISMO DEL COLESTEROLO: il colesterolo può avere due origini:

- ENDOGENA cioè di natura biosintetica.
- ESOGENA cioè assunto attraverso la dieta.

SEDE DELLA BIOSINTESI DEL COLESTEROLO è il FEGATO; è importante sottolineare che questo processo avviene unicamente nel caso in cui vi sia carenza effettiva di colesterolo a livello della dieta; se assumiamo colesterolo assistiamo quindi ad un fenomeno di inibizione da feed back.

Il colesterolo è una molecola lipidica non saponificabile, tuttavia viene trasportato a livello del sangue in forma di esteri:

1. ESTERI DEL COLESTEROLO ingeriti con la DIETA sono i chilomicroni.
2. ESTERI DEL COLESTEROLO dati da elaborazione ENDOGENA sono:
 1. IDL
 2. LDL
 3. VLDL

CHILOMICRONI rappresentano la maggior parte del colesterolo presente nell'organismo, si tratta di BOLLE di lipidi e proteine con le seguenti caratteristiche:

- 0,94g/cm³ di densità.
- Diametro 80-500nm.
- 2% della struttura composto di proteine.

Si occupano del trasporto dei lipidi al fegato e al tessuto adiposo.

Per elaborazione di queste strutture si ottengono:

- VLDL: very low density lipoprotein; vengono ricavate dai chilomicroni e sono caratterizzate da:
 - PREDOMINANZA DI TRIGLICERIDI.
 - PRESENZA DI NUMEROSE SPECIE LIPIDICHE E PROTEICHE.
- IDL: sono una classe intermedia come densità, sono:
 - più ricche in colesterolo.
 - Caratterizzate da percentuale minore di trigliceridi.
- LDL: low density lipoprotein; si tratta del principale trasportatore di colesterolo ematico, presenta:
 - DIAMETRO circa 22nm.

- PESO MOLECOLARE circa 2000Kd
- HDL: si tratta di molecole ad elevata densità, maggiore di 1g/cm³; il nostro corpo le raccoglie da membrane in disfacimento.

In seguito al trasporto nel sangue il colesterolo viene portato a livello cellulare grazie alla presenza di recettori a livello della membrana cellulare che legano parti proteiche presenti a livello delle strutture delle LDL, in particolare una, B100, è fondamentale:

- complesso LDL e recettore vengono integrati a livello della cellula.
- Il tutto si fonde con i lisosomi e viene degradato da proteasi.
- Il colesterolo trova delle esterasi che lo liberano dalla componente proteica rendendolo utilizzabile a livello cellulare:
 - SINTESI DI MEMBRANE non solo plasmatiche ma anche di organelli cellulari.
 - COMPOSIZIONE che varia da membrana a membrana.
 - UTILIZZI DIVERSI come per esempio la formazione di sali biliari.
 - ESTERIFICAZIONE per la conservazione a livello cellulare.

Un fenomeno essenziale per l'organismo è sicuramente la regolazione in feedback del colesterolo; la sua presenza ematica provoca:

- inibizione della sintesi del colesterolo.
- Inibizione della sintesi del recettore.

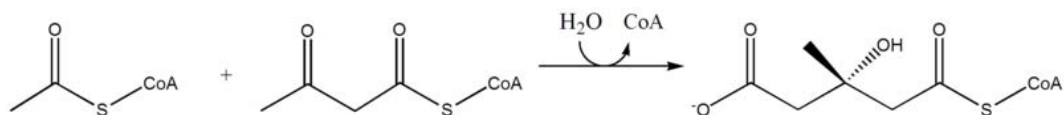
La molecola è caratterizzata dalla presenza di strutture di natura sia polare che apolare:

- anelli e catena carboniosa sono tipicamente apolari e paraffinici.
- La presenza di:
 - ossidrilico.
 - Doppio legamecostituiscono al componente polare della molecola.

Generalmente essendo una struttura di natura sia apolare che polare nonché rigida, presenta a livello della membrana una influenza particolare, generalmente più colesterolo c'è meno fluida è la membrana.

SINTESI DEL COLESTEROLO: la sintesi è un processo complesso che richiede numerose tappe intermedie ma non richiede molecole di partenza complesse: acetilCoA e acetacetilCoA facilmente ricavabili a livello cellulare:

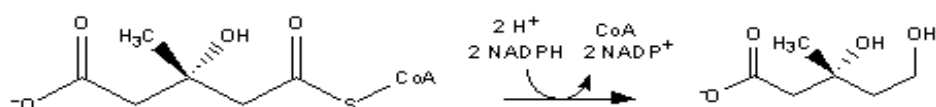
- **CONDENSAZIONE DI ACETACETILCoA E ACETILCoA:**



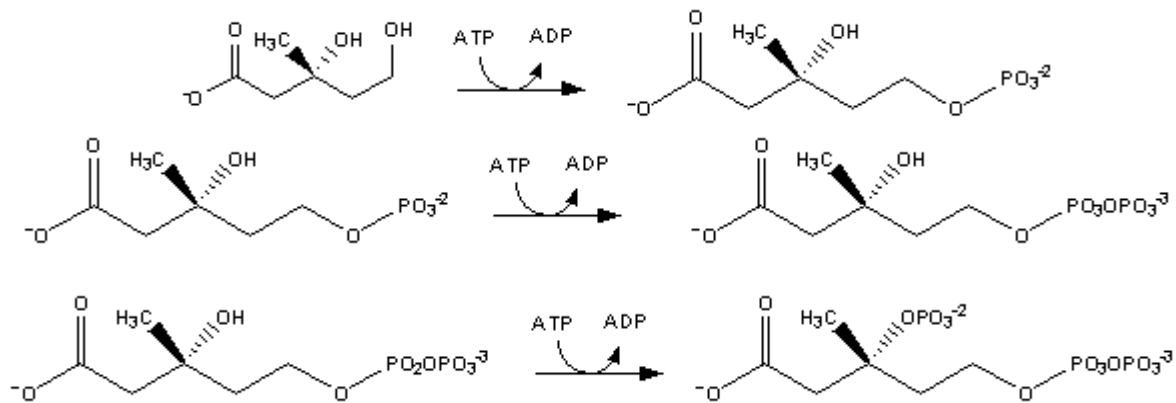
le due molecole condensano insieme a formare un intermedio tipico anche della sintesi dei corpi chetonici, si tratta del 3idrossi3metil glutarilCoA

- **RIDUZIONE A MEVALONATO E IDROLISI DEL COENZIMA A:**

si tratta di un fenomeno che avviene esclusivamente a livello citosolico, nel mitocondrio infatti il 3metil3idrossi glutarilCoA viene degradato ad acetilCoA e ossalacetato. La reazione prevede il consumo di una molecola di NADPH.

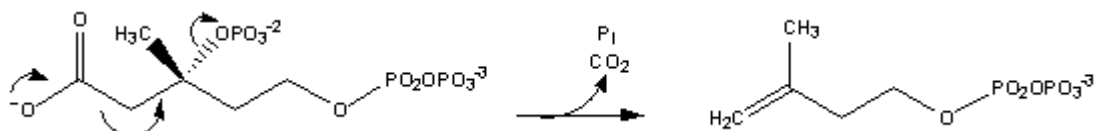


- FOSFORILAZIONI ATTIVATIVE DEL MEVALONATO:



sostanzialmente assistiamo alla formazione per graduali fosforilazioni di una molecola di mevalonato caricata di tre molecole di fosfato, si tratta di una molecola ESTREMAMENTE INSTABILE detta mevalonato5pirofosfato3fosfato. A questo punto il mevalonato attivato degraderà spontaneamente.

- FORMAZIONE SPONTANEA DELL'UNITÀ ISOPRENOIDE:



Il mevalonato spontaneamente degrada a 3isopentenil pirofosfato con uscita di una molecola di fosfato e di anidride carbonica, il mevalonato infatti per la lisi del legame con il fosfato decarbossila.

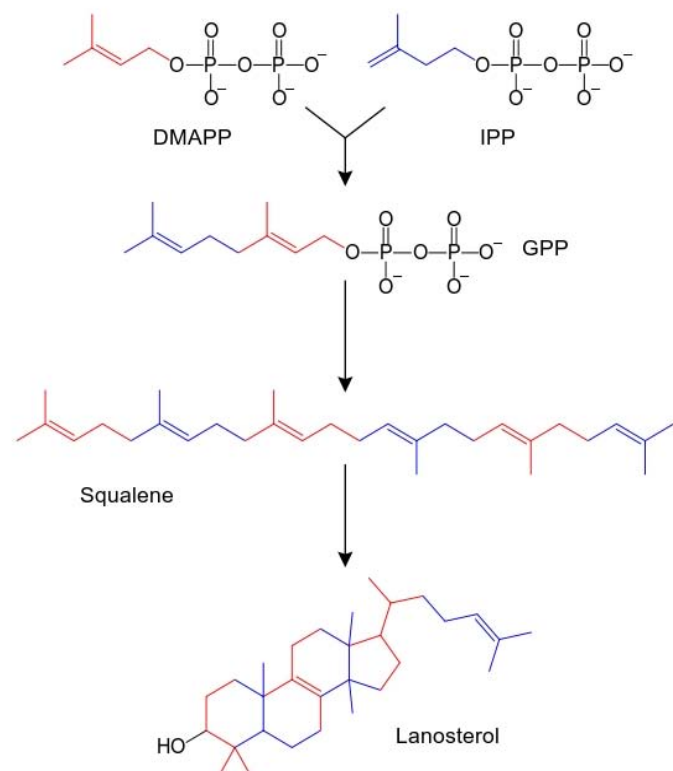
TUTTE QUESTE REAZIONI hanno come UNICO FINE QUELLO DI FORMARE UNA STRUTTURA ISOPRENOIDE ATTIVA, il 3isopentenil pirofosfato è il diretto precursore del colesterolo. Le reazioni successive di condensazione sono molto complesse, ma il tutto si può riassumere in queste tappe:

SQUALENE: si tratta di un polimero non ciclizzato di unità isoprenoidi ottenuto per allungamenti progressivi della catena, ora è possibile procedere nella ciclizzazione vera e propria.

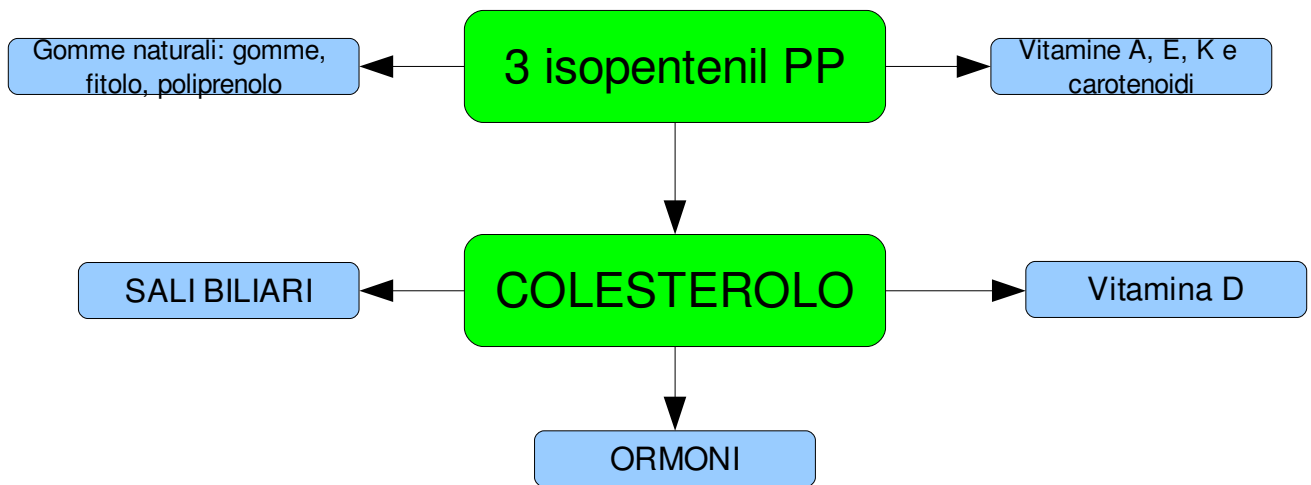
LANOSTEROLO: si tratta di uno dei precursori più immediati del colesterolo, a livello chimico si presenta già IDROSSILATO e INSATURO, per la sintesi del colesterolo sono necessari la demetilazione di alcuni punti e lo spostamento della insaturazione.

COLESTEROLO è la tappa finale dell'intero processo di sintesi; dal LANOSTEROLO sono stati necessari ben 19 passaggi.

Da questo processo di sintesi sicuramente il



colesterolo è il composto più comune che si può ricavare, tuttavia è possibile generare numerose altre strutture:

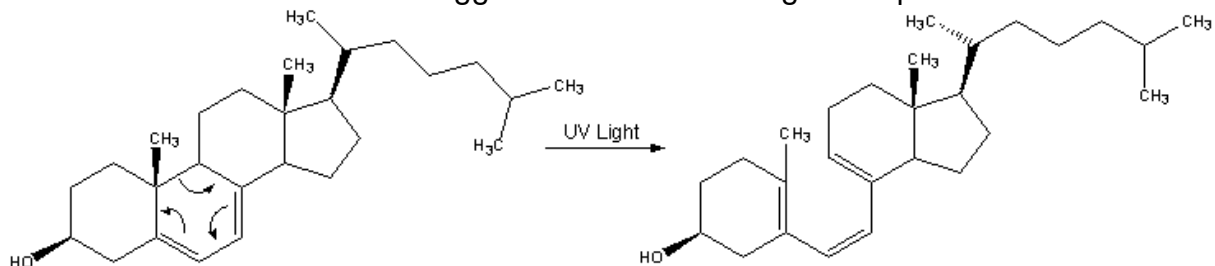


OMEOSTASI DEL CALCIO

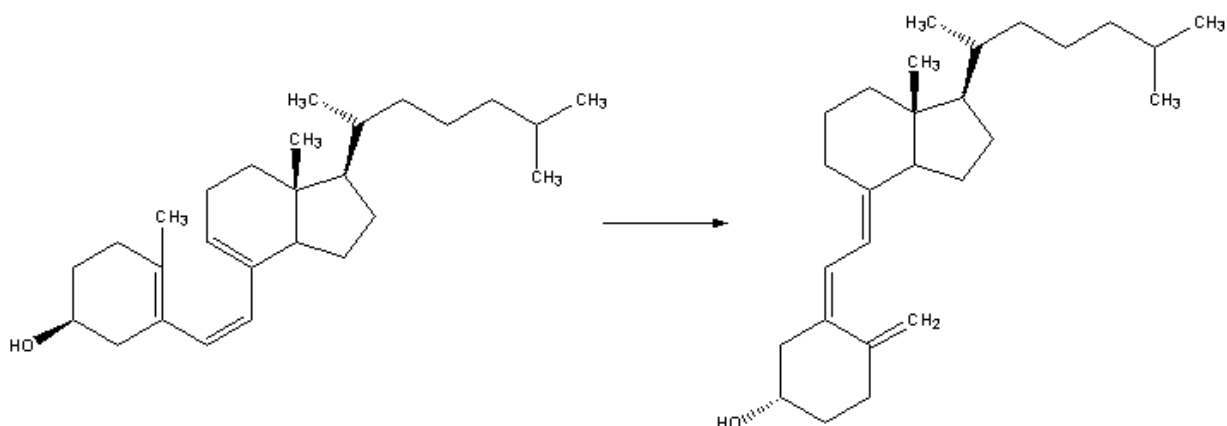
L'omeostasi del calcio è un processo complesso che coinvolge una serie molto ampia di ormoni e un composto derivato dalla struttura del colesterolo, la vitamina D.

le modifiche necessarie per l'ottenimento della molecola di vitamina D sono le seguenti:

- INSERIMENTO DI UNA ULTERIORE INSATURAZIONE fra i carboni 7 e 8 creando in questo modo il delta 7 deidro colesterolo.
- APERTURA DELL'ANELLO D che avviene generalmente per bombardamento con raggi ultravioletti (per questo l'esposizione al sole è un fattore che aiuta nella prevenzione del rachitismo); otteniamo in questo modo la formazione di un composto detto D3 o COLECALCIFEROLO, si tratta del precursore diretto del 1,25diidrossi colecalciferolo, ma non è ancora dotato di attività ormonale. Le sue concentrazioni ematiche si aggirano intorno ai nanogrammi per millilitro.

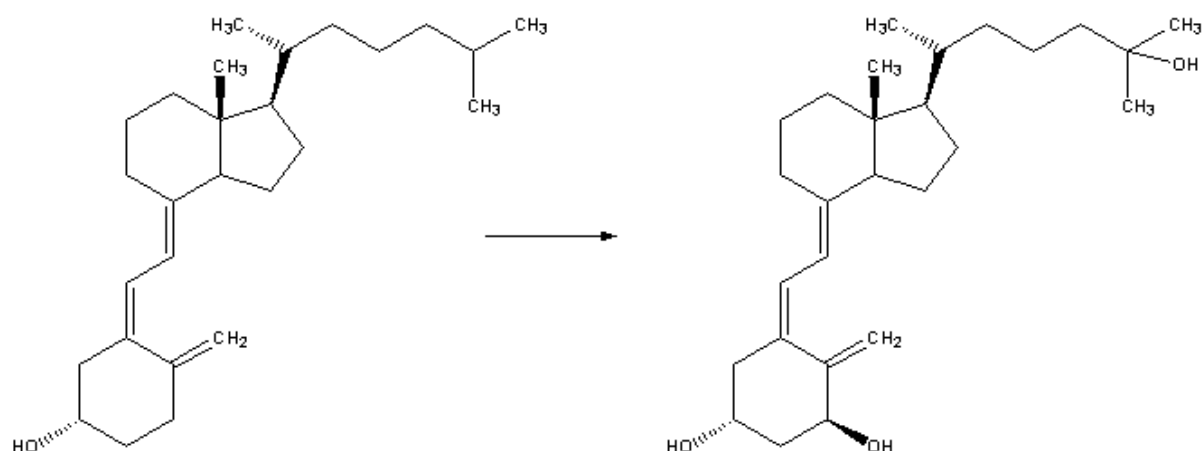


- PRIMA IDROSSILAZIONE avviene nel FEGATO ad opera della 25idrossilasi, questo enzima inserisce un ossidrilile a livello del carbonio 25 della struttura del colecalciferolo. Questo composto:
 - NON È SOLUBILE viene quindi riversato a livello ematico associato a proteine che lo legano in forma esterea.
 - NON PRESENTA ATTIVITÀ, deve subire ancora delle trasformazioni.



- SECONDA OSSIDRILAZIONE avviene invece a livello RENALE e interessa una idrossilasi detta 1 idrossilasi che inserisce un ossidrilile a livello del carbonio 1 della

struttura molecolare, da questa reazione nasce il primo derivato ATTIVO DELLA VITAMINA D: l'1,25 diidrossi colecalciferolo che nel sangue è presente in concentrazioni di livello ORMONALE, intorno ai pg/ml.



Esistono numerosi altri derivati della vitamina D ma l'unico attivo metabolicamente oltre all'1,25 diidrossi colecalciferolo, è il 24,25 diidrossi colecalciferolo presente a livelli di ng/l; anche in questo caso la seconda idrossilazione avviene a livello renale (24idrossilasi).

QUESTI ORMONI derivati dalla vitamina D sono essenziali per la regolazione della costruzione dello scheletro attraverso la regolazione della concentrazione ematica del calcio.

In caso di danni a livelli diversi si hanno conseguenze diverse:

- **DANNO AL FEGATO** → a seconda dei casi, in particolare in presenza di forme cancerose o di forme di cirrosi possiamo avere inibizione della produzione di 25 idrossi colecalciferolo, con conseguente mancanza di substrato per la 1idrossilasi e avitaminosi da vitamina D, o una sua sovrapproduzione; in ogni caso i livelli della componente attiva sono regolati dalla attività della 1idrossilasi renale.
- **DANNO AL RENE** → si possono verificare fenomeni molto diversi a questo livello: posso avere una sovra o una sotto produzione dell'ormone che può essere sia legata a problemi intrinseci al rene stesso, sia a problemi collegati alla presenza di danni ad altri organi ghiandolari del nostro corpo. In ogni caso il problema si ripercuote a livello intestinale dove risulta insufficiente il livello di assorbimento dello ione calcio.

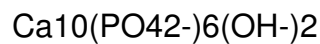
OMEOSTASI DEL CALCIO: si tratta di un processo che coinvolge principalmente tre ormoni:

1. **PARATORMONE:** ormone costituito di circa 80 amminoacidi:
 1. **SINTETIZZATO** in forma di **PREPRO PARATORMONE**, necessita cioè di due tagli proteolitici per essere attivato, in particolare:
 1. **RETICOLO ENDOPLASMATICO** = **proprePTH** → **prePTH**.
 2. **GOLGI** = **prePTH** → **PTH attivo**.
 2. La quantità circolante di questo ormone è inversamente proporzionale alla concentrazione ematica del calcio.

3. HA EFFETTO IPERCALCEMIZZANTE, serve a bilanciare la caduta della concentrazione del calcio a livello ematico.
2. TIREOCALCITONINA: prodotto dalle cellule T della tiroide:
 1. la sua concentrazione è direttamente proporzionale alla concentrazione ematica del calcio.
 2. HA EFFETTO IPOCALCEMIZZANTE cioè si occupa di abbassare la concentrazione di ione calcio circolante.
3. 1,25 DIIDROSSI COLECALCIFEROLO: si occupa a lungo termine (dopo 12-24 ore di carenza) di stimolare e preparare l'organismo all'assunzione di ioni calcio con la dieta.

3 sono gli ormoni che si occupano principalmente della omeostasi del calcio quindi.

Il nostro scheletro è composto per la stragrande maggioranza della sua componente inorganica di IDROSSIAPATITE, si tratta di un composto caratterizzato dalla seguente formula:



il fosfato di calcio, Ca_3PO_4 , ha un prodotto di solubilità bassissimo, per questo a livello del citosol degli osteoblasti forma idrossiapatite; a livello ematico, per prevenire una CALCIFICAZIONE DIFFUSA dovuta all'incontro fosfato-calcio, lo ione calcio viene trasportato in forme diverse:

- LEGATO A PROTEINE come l'albumina.
- ASSOCIATO IN COMPLESSI.

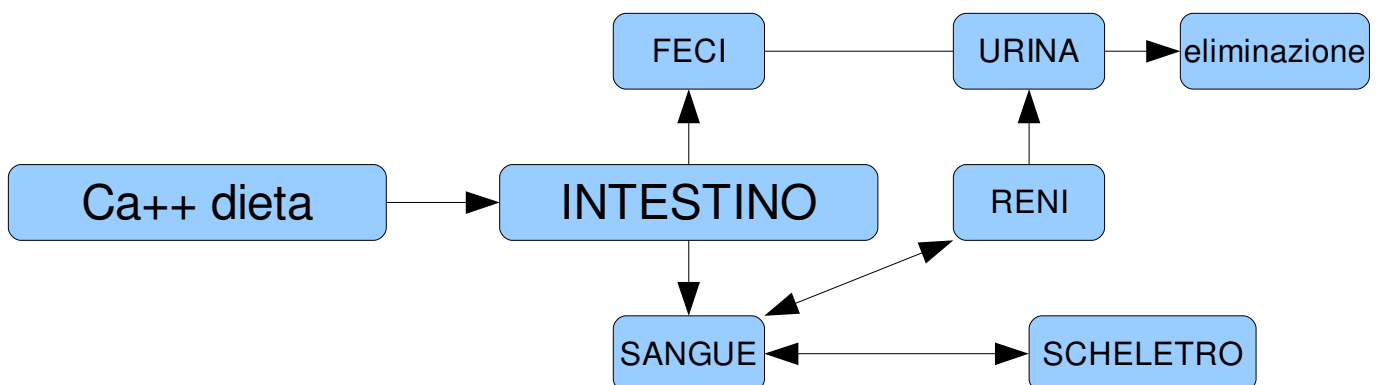
In questo modo lo ione libero è presente in quantità minime, tali da rendere irrilevante ogni eventuale calcificazione.

Altro importante fattore da prendere in considerazione relativamente al livello di calcemia è sicuramente la differenza di concentrazione fra il calcio circolante e il calcio intracellulare:

- LIVELLO EMATICO = mM
- LIVELLO INTRACELLULARE = μM

il calcio, quindi, dovrebbe fluire normalmente dall'esterno all'interno della cellula, questo avviene, ma il gradiente viene mantenuto da una POMPA AD ATP; tutto questo avviene perché lo ione calcio è un secondo messaggero intracellulare essenziale, la sua azione si estrinseca attraverso variazioni di concentrazione.

L'EQUILIBRIO EXTRACELLULARE DEL CALCIO è quindi un processo essenziale per la regolazione della funzionalità cellulare stessa, non solo dell'apparato locomotore.



La causa di alcune forme di osteoporosi è da ricercarsi a livello intestinale e può essere legata a cattivo assorbimento del calcio ingerito con la dieta.

EQUILIBRIO DINAMICO; la gestione dei passaggi e dei flussi da un comparto all'altro è strettamente e finemente regolata principalmente dai tre ormoni sopracitati.

Per quanto riguarda il livello ematico del calcio possono verificarsi due eventualità:

IPOCALCEMIA:

la reazione dell'organismo in questo caso si svolge attraverso due meccanismi diversi ma fortemente correlati:

1. LA PARATIROIDE AVVERTE IMMEDIATAMENTE IL CALO DEL CALCIO EMATICO attraverso un sistema di recettori sensibili alla sua presenza/assenza:
 1. presenza di Ca^{++} normale → recettore normale, è legato al calcio e resta tale.
 2. Presenza di Ca^{++} bassa → recettore è libero, muta la sua conformazione e agisce a livello intracellulare:
 1. ATTIVAZIONE DELLA ADENILATO CICLASI con conseguente formazione di cAMP.
 2. ATTIVAZIONE DI UNA CASCATA DI CHINASI che provocano la fosforilazione di proteine intracellulari.
 3. ATTIVAZIONE DELLA SECREZIONE che provoca uscita del paratormone dalle cellule.
2. AZIONE DEL PTH: l'ormone agisce a livello renale e scheletrico principalmente:
 1. SUL RENE:
 1. PROVOCA FOSFATURIA: si tratta del processo di eliminazione del fosfato tramite le urine, un abbassamento del fosfatemia provoca inevitabilmente una diminuzione della calcificazione e un aumento del calcio ematico che viene invece riassorbito notevolmente.
 2. SINTESI DI 1IDROSSILASI: stimola la sintesi dell'enzima deputato alla sintesi dell' 1, 25 colecalciferolo che fornisce un aiuto fondamentale a livello omeostatico.
Questa azione avviene in un secondo momento, anche 24 ore dopo l'attivazione del paratormone.
 2. SULLO SCHELETRO: va ad influire sull'operato delle diverse cellule dell'osso:
 1. ATTIVAZIONE DEGLI OSTEOCLASTI stimola quindi la demolizione dell'osso; gli osteoclasti sfruttano per la demolizione delle componenti minerali l'acido lattico che viene prodotto in presenza di glicolisi; il tessuto osseo che per primo viene attaccato da questo meccanismo è sicuramente il tessuto osseo spugnoso.
 2. STIMOLAZIONE DEGLI OSTEOCITI di cui ancora non sono note né la natura né la motivazione.
3. AZIONE DELL' 1,25 DIIDROSSI COLECALCIFEROLO: come già sottolineato questo ormone si attiva unicamente in presenza di un calo ematico del calcio duraturo, anche di 24 ore; l'azione dell'1,25 diidrossi colecalciferolo si estrinseca principalmente a livello intestinale, in particolare:
 1. RECUPERA IL CALCIO MITOCONDRIALE che viene importato in virtù del

gradiente di concentrazione ionico negativo generato dalla catena respiratoria.

2. A LIVELLO INTESTINALE nello specifico le cellule intestinali presentano un recettore citosolico per l'1,25 diidrossi colecalciferolo, legandosi a questo recettore il composto stimola la produzione di proteine capaci di assorbire il calcio a livello intestinale, in particolare la CALBINDINA.
3. L'1,25 diidrossi colecalciferolo esegue inoltre azioni paragonabili a quelle del PTH a livello osseo e renale, anche se in misura minima.

Per quanto concerne l'1,25 diidrossicolecalciferolo è possibile un uso di natura terapeutica per forme di osteoporosi legate a cattivo assorbimento intestinale del calcio; a livello clinico la sua somministrazione può aiutare nel controllo di problemi come:

- OSTEODISTROFIA RENALE → mancanza di 1idrossilasi a livello renale, mancanza quindi di 1,25 diidrossi colecalciferolo.
- IPOPAROTIROIDISMO → l'ormone paratiroideo non si attiva, non c'è quindi risposta ad una mancanza ematica di calcio.
- INSUFFICIENZE RENALI CRONICHE → anche in questo caso mancanza di 1,25 diidrossi colecalciferolo.
- RACHITISMO che può presentarsi in due forme:
 - VITAMINA D DIPENDENTE → che può essere causato da varie motivazioni enzimatiche.
 - VITAMINA D RESISTENTE → blocco generico del metabolismo della vitamina D non compensabile con assunzione di colecalciferolo.
- OSTEOPOROSI → che può instaurarsi in vari casi, si tratta in ogni caso di una mancanza di equilibrio fra gli scomparti sopra descritti, generalmente si somministrano tutti e tre gli ormoni PER MIMARE L'EQUILIBRIO FISIOLOGICO VENUTO MENO attraverso una tempistica studiata.

IPERCALCEMIA:

si tratta di un aumento della concentrazione di calcio ematico, di questa situazione vengono informati:

- PARATIROIDI → nelle quali viene bloccata la produzione di PTH e conseguentemente la produzione di 1,25 DIIDROSSI COLECALCIFEROLO.
- TIROIDE → che secerne CALCITONINA (o tireocalcitonina) che provoca:
 - INIBIZIONE DELLA DEMOLIZIONE DELLE STRUTTURE OSSEE agisce cioè sugli osteoclasti.
 - DISATTIVAZIONE dei meccanismi di FOSFATURIA e normale espulsione del calcio con le urine.

1

BIOCHIMICA NUTRIZIONALE



METABOLISMO DEGLI AMMINOACIDI

GLI AMMINOACIDI sono una componente essenziale di una dieta equilibrata, la nostra alimentazione, sia dal punto di vista energetico che anabolico, è basata anche sulla presenza di proteine.

Il fabbisogno giornaliero per un uomo è di 1grammo di proteine per chilogrammo di massa corporea al giorno; il sistema di digestione è talmente evoluto e specializzato che meno di un decimo di quanto viene assunto normalmente da un uomo adulto si trova poi nelle feci. L'assunzione delle proteine è essenziale per fornire al nostro organismo i 20 amminoacidi, di questi:

- 10 sono non essenziali.
- 10 sono essenziali, cioè non sintetizzabili a partire da carbonio e azoto, e devono essere assunti con la dieta; derivano sia da alimenti di natura vegetale che da alimenti di origine animale; di questi:
 - 8 sono essenziali sempre:
 - fenilalanina.
 - Triptofano.
 - Valina.
 - Leucina.
 - Isoleucina.
 - Treonina.
 - Metionina.
 - Lisina.
 - 2 sono essenziali unicamente nell'infanzia:
 - arginina.
 - Istidina.

Li assumiamo in ogni caso tutti con la dieta.

L'utilizzo di queste molecole è molto vario, una volta eseguita l'idrolisi del polipeptide, l'amminoacido viene indirizzato a vie anaboliche o cataboliche a seconda delle necessità, possono essere quindi utilizzati sia come SUBSTRATO ENERGETICO che per la BIOSINTESI DI NUOVE PROTEINE per le cellule. A seconda poi della natura della cellula gli usi possono essere diversi:

- cellule perenni → utilizzano gli amminoacidi unicamente per creare proteine o per necessità energetica.
- cellule che si moltiplicano → utilizzano gli amminoacidi anche come precursori delle basi azotate pirimidiniche e puriniche.

Ma in tutte le cellule la necessità di PARTI DI RICAMBIO è molto forte, le proteine possono infatti nascere in forme difettose o possono subire una modificazione chimica (tipicamente causata da RADICALI LIBERI DELL'OSSIGENO, fenomeno detto STRESS OSSIDATIVO causa molto importante dell'invecchiamento visibile soprattutto a livello della

cute) che ne preclude la funzionalità.

L'utilizzo degli amminoacidi risulta quindi essenziale per:

- SINTESI DI PROTEINE molto varie (come ORMONI peptidici per esempio).
- SINTESI DI ORMONI derivati da amminoacidi come per esempio:
 - CATECOLAMINE derivate dalla tirosina.
 - ORMONI TIROIDEI derivati della tirosina anch'essi.
- SINTESI DI NEUROTRASMETTITORI, molecole rilasciate dalla terminazione presinaptica nella fessura sinaptica e che si legano al terminale postsinaptico trasmettendo l'impulso nervoso:
 - SEROTONINA derivato del triptofano.
 - GABA derivato dalla decarbossilazione del glutammato.
- SINTESI DI NUCLEOTIDI, IN PARTICOLARE PER QUANTO CONCERNE LE BASI AZotate:
 - puriniche.
 - Pirimidiniche.da cui derivano poi i polinucleotidi, operazione che avviene tipicamente in cellule in divisione che di conseguenza presentano un FABBISOGNO PIÙ ELEVATO.
- SINTESI DI ALTRE MOLECOLE COME EME gruppo prostetico dell'emoglobina sintetizzata a livello cellulare a partire da amminoacidi, ma anche ISTAMINA derivato della decarbossilazione della istidina.

DIGESTIONE DELLE PROTEINE:

le proteine vengono digerite a diversi livelli in diversi comparti del nostro sistema digerente; l'intero sistema di digestione di queste molecole prevede l'utilizzo di numerosi enzimi; questi enzimi possono essere classificati in due grandi categorie funzionali:

- ENDOPROTEASI o ENDOPEPTIDASI che tagliano la molecola proteica all'interno della molecola stessa.
- ESOPROTEASI o ESPEPTIDASI che tagliano invece la molecola a partire da una delle due estremità.

LIVELLO GASTRICO: nello stomaco comincia la digestione delle proteine:

1. il BOLO, cibo parzialmente digerito a livello del cavo orale, entra nello stomaco con il suo contenuto proteico.
2. DISTENSIONE dello stomaco che accoglie il bolo.
3. Aumentata concentrazione delle PROTEINE.

Questi fattori stimolano la secrezione della GASTRINA da parte delle cellule della ghiandola gastrica(strutture a dito di guanto sul cui fondo si collocano cellule ETERO Cromaffini che possono rilasciare ormoni nei capillari della mucosa gastrica) che si collocano in particolare a livello della parte pilorica dello stomaco stesso ; questo ormone entra in circolo e agisce su due bersagli specifici:

- CELLULE PARIETALI DELLO STOMACO che secernono ACIDO CLORIDRICO H^+Cl^- .
- CELLULE PRINCIPALI dello stomaco che secernono PEPSINOGENO.

queste componenti, liberate a livello del lume dello stomaco, hanno numerosi effetti diversi:

HCl → abbassa pH del lume da 4 a 1-2, ACIDITÀ estremamente elevata funzionale a:

- DISINFETTARE IL BOLO: produce infatti la morte di microorganismi presenti nel cibo ingerito, parecchi microbi ingeriti con il cibo sono potenzialmente patogeni, non devono transitare oltre lo stomaco qui il pH acido li elimina; la funzione BATTERICIDA della secrezione gastrica è stata accettata con tale rigore da ritenere che la mucosa gastrica fosse sterile, MA NON È COSÌ: l'*helicobacter pylori* è l'agente che causa l'ulcera gastrica nel 90% dei casi si tratta di un batterio che riesce a vivere nella mucosa gastrica.
- AGISCE SULLE PROTEINE IN SOLUZIONE COME AGENTE DENATURANTE è capace quindi di alterare la struttura delle proteine a livello gastrico rendendo più facile l'aggressione da parte di enzimi proteolitici.
- PROMUOVE INOLTRE LA PROTEOLISI DEL PEPSINOGENO operazione necessaria per la liberazione delle pepsina che è la componente attiva dell'enzima.

PEPSINOGENO → si tratta dello zimogeno della pepsina, viene secreto a livello gastrico e si attiva a pH 2 circa, per la sua attivazione è quindi essenziale la presenza dell'acido cloridrico; l'enzima è inoltre capace di AZIONE AUTOCATALITICA: una molecola di pepsina stimola la proteolisi del pepsinogeno vicino. L'azione di proteolisi prevede la lisi di cinque peptidi dallo zimogeno per raggiungere l'enzima attivo.

PEPSINA ATTIVA è una molecola caratterizzata da un peso molecolare di 32700 UMA circa e presenta pH ideale, come già sottolineato, uguale a 2; si tratta di un enzima aspecifico, tuttavia agisce prevalentemente a livello di amminoacidi aromatici come:

- FENILALANINA.
- TIROSINA.
- TRIPTOFANO.

Il taglio proteolitico avviene dal lato della estremità N terminale, l'amminoacido in definitiva appartiene alla frazione C terminale della molecola. Possiamo dire che aggredisce legami peptidici nei quali siano coinvolte estremità amminiche di amminoacidi aromatici.

LIVELLO INTESTINALE: terminata la digestione a livello gastrico quello che prima veniva definito BOLO, ora detto CHIMIO discende verso la regione intestinale:

IL PILORO RILASCIAMO il contenuto gastrico che viene fatto avanzare verso il duodeno, a livello duodenale la stimolazione alla digestione si estrinseca nella secrezione di diversi composti in diversi compartimenti del nostro organismo:

A LIVELLO EMATICO:

- SECRETINA ormone peptidico che giunge a livello pancreatico e stimola la secrezione di NaHCO_3 che viene rilasciato nel dotto pancreatico e quindi nel duodeno; il pH del duodeno si abbassa così da TAMPONARE QUELLO CHE ARRIVA DALLO STOMACO portando il pH a circa 7. La secretina stimola inoltre la secrezione della bile e la secrezione di insulina.
- COLECISTOCININA O CCK che ha come bersaglio:
 - CELLULE DEL PANCREAS che producono gli enzimi proteolitici.
 - COLECISTI dove provoca secrezione BILIARE (assunzione di carne o pesce, cioè di fonti proteiche, è accompagnata praticamente sempre da assunzione di lipidi, risulta essenziale quindi la secrezione biliare).

- Stimola inoltre la LIPASI PANCREATICA.
- La CCK presenta inoltre capacità stimolatorie rispetto al neurone ANORESSIGENICO e quindi alla sensazione di sazietà.

A LIVELLO DEL LUME:

- NEL LUME VIENE SECRETA LA ENTEROCHINASI o ENTEROPEPTIDASI, si tratta di un enzima fondamentale per quanto concerne la attivazione delle proteasi.

Gli enzimi proteolitici PANCREATICI agiscono di fatto a livello intestinale e sono secreti dalla componente esocrina del pancreas:

1. TRIPSINOGENO → TRIPSINA, questa conversione avviene attraverso un taglio proteolitico con conseguente rilascio di peptide, la proteasi che si occupa della attivazione è la ENTEROCHINASI o ENTEROPEPTIDASI rilasciata nel lume, come già sottolineato, dal duodeno. Anche la TRIPSINA, come la PEPSINA, presenta attività autocatalitica, inoltre presenta una azione di natura catalitica su tutti gli altri enzimi proteolitici pancreatici:
2. CHIMOTRIPSINOGENO → CHIMOTRIPSINA
3. PROELASTASI → ELASTASI.
4. PROCARBOSSIPEPTIDASI A → CARBOSSIPEPTIDASI A.
5. PROCARBOSSIPEPTIDASI B → CARBOSSIPEPTIDASI B.

Questi enzimi generalmente vengono sintetizzati nelle cellule in forma INATTIVA per evitare danni a livello cellulare. Quando avviene una attivazione prematura di questi enzimi (infiammazioni del pancreas per esempio, che determinano un danno cellulare e possono portare alla formazione di una proteasi attiva) questa agisce sulle cellule vicine provocando una autocatalisi e conseguente ATTIVAZIONE DI UNA GRANDE QUANTITÀ DI ENZIMI CHE DIGERISCONO LE CELLULE; una ulteriore complicazione può essere dovuta al passaggio nel sangue di questi enzimi che può causare una EMORRAGIA = pancreatite fulminante). Per questo la enterochinasi è così importante; una volta attivato il sistema da parte della enterochinasi la digestione procede molto velocemente: liberati gli enzimi pancreatici questi vengono attivati e comincia il processo. Il pericolo di una attivazione non corretta di TRIPSINOGENO in TRIPSINA in particolare è così pericolosa che a livello delle cellule pancreatiche esiste una molecola detta INIBITORE PANCREATICO DELLA TRIPSINA, funzionale alla inibizione della tripsina casomai dovesse essere attivata a livello cellulare.

Il CIBO di natura proteica è costituito principalmente di ELASTINA E COLLAGENE.

PEPTIDASI SONO ENZIMI SPECIFICI:

- CHIMOTRIPSINA, si tratta di una endopeptidasi; come la pepsina agisce a livello degli amminoacidi aromatici rompendo il legame posto più vicino alla estremità ammino terminale. Possiamo dire che aggredisce legami peptidici nei quali siano coinvolte estremità amminiche di amminoacidi aromatici.
- TRIPSINA, si tratta di una endopeptidasi, taglia legami nei quali sono coinvolte le estremità carbossiliche di residui di lisina e arginina. Si tratta di un enzima che presenta pH ideale di lavoro intorno a 7-8.
- ELASTASI: si tratta di una endopeptidasi che attacca preferenzialmente legami peptidici che coinvolgono estremità carbossiliche di amminoacidi apolari non

aromatici.

- CARBOSSIPEPTIDASI sono delle esopeptidasi: idrolizzano amminoacidi a partire dalle estremità carbossilica della catena; esistono due tipi di carbossipeptidasi, entrambe ATTACCANO LA MOLECOLA A LIVELLO DEL C TERMINALE e ENTRAMBE NECESSITANO DI Zn^{++} per funzionare, differiscono perché:
 - A riconosce e aggredisce peptidi che presentano al C terminale un amminoacido aromatico (agisce in pratica dopo la chimotripsina).
 - B invece aggredisce peptidi che presentano al C terminale amminoacidi basici (prosegue il lavoro della tripsina).

A LIVELLO INTESTINALE: anche le cellule intestinali addette all'assorbimento presentano una componente di natura proteolitica, si tratta di enzimi proteolitici INTRACELLULARI:

- AMMINOPEPTIDASI.
- DIPEPTIDASI.

che terminano il processo di digestione.

AL TERMINE DEL PROCESSO abbiamo degli amminoacidi liberi a livello del lume intestinale, questi devono essere prelevati sia per la loro utilità sia per il fatto che la loro presenza nel lume eserciterebbe una azione osmotica enorme che si estrinsecerebbe in:

1. aumento del diametro intestinale.
2. Contrazione robusta della muscolatura.
3. Flusso di acqua verso l'interno.

= DIARREA

ASSORBIMENTO DA PARTE DELLA CELLULA INTESTINALE (enterocita solo 2g di vita) la cellula presenta microvilli con recettori carrier apposti per endocitosi di AMMINOACIDI, il processo di assorbimento procede velocemente perché:

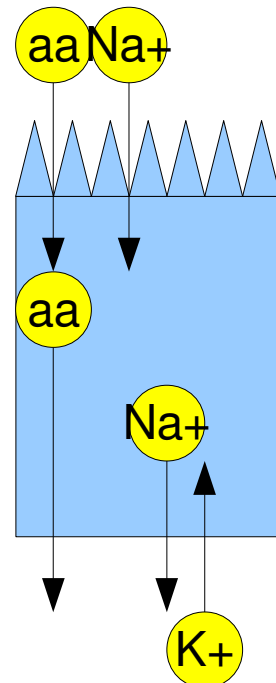
- GRADIENTE DI CONCENTRAZIONE è estremamente favorevole.
- NECESSITÀ RIPRODUTTIVE della cellula che sono estremamente elevate (necessità di amminoacidi per sintetizzare nucleotidi).
- ACCOPPIAMENTO del trasporto dell'amminoacido con lo ione sodio in un meccanismo di simporto. Il gradiente del sodio è elevatissimo per l'operato della POMPA Na^+K^+ ATP asi che idrolizza ATP per far entrare nella cellula potassio e buttare fuori sodio (con un consumo del 30% di tutto l'ATP cellulare) il sodio ha un gradiente molto elevato quindi, anche di 3 ordini di grandezza; in questo modo inoltre viene recuperato il Na^+ secreto dal pancreas come $NaHCO_3$.
- I 20 AMMINOACIDI SONO FRA LORO DIVERSI, ma non abbiamo 20 trasportatori bensì solamente 4 o 5 caratterizzati da substrato sovrapponibile. Il meccanismo di trasporto prevede quindi la presenza di due trasportatori:
 - UNO IN DOMINO APICALE.
 - UNO IN DOMINO BASOLATERALE.

Per garantire il passaggio dell'amminoacido dalla superficie intestinale al connettivo sottostante.

È importante inoltre sottolineare la presenza sul versante LATERALE della membrana di TIGHT JUNCTION che proteggono le strutture sottostanti dal passaggio di microorganismi potenzialmente nocivi.

A livello strutturale, quindi, sono necessari per garantire il flusso di amminoacidi dall'intestino al sangue più tipi di trasporto:

- MEMBRANA APICALE → trasporto attivo secondario o simporto che non comporta consumo di ATP diretto.
- MEMBRANA BASOLATERALE → pompa sodio potassio, trasporto attivo primario che comporta consumo di ATP diretto.



UTILIZZO DEGLI AMMINOACIDI:

Gli amminoacidi possono essere utilizzati in numerose vie metaboliche, sia anaboliche che cataboliche come già sottolineato, si tratta in ogni caso di fonti energetiche che vengono sfruttate una volta esaurite le riserve di natura glucidica. A seconda della riserva di energia che di fatto vanno ad implementare gli amminoacidi sono classificabili in:

1. GLUCOGENETICI: che contribuiscono alla formazione di glucosio tramite la gluconeogenesi.
2. CHETOGENICI: che contribuiscono alla formazione di corpi chetonici.

CATABOLISMO DEGLI AMMINOACIDI: particolarmente sviluppato in situazioni e persone per cui la fonte proteica è la fonte energetica principale:

- ESQUIMESI per i quali l'unica fonte di glicogeno è quello dei muscoli di animali.
- UOMO DI NEHANDERTAL che viveva in Europa nell'era glaciale mangiava solo carne.

Per essere sfruttato come FONTE ENERGETICA L'AMMINOACIDO deve essere trasformato in chetoacido per sfruttare lo scheletro carbonioso di cui è dotato nel ciclo di krebs, è quindi necessaria la TRASFORMAZIONE DI AMMINOACIDO IN ALFA CHETOACIDO. Il processo in questione è piuttosto complesso e a complicare il problema c'è anche il fatto che è necessario conservare l'azoto degli amminoacidi dato che si tratta di azoto organicato (fissato); per risolvere questo tipo di problema il nostro corpo sfrutta una serie di reazioni di varia natura:

- TRANSAMINAZIONE → cessione del gruppo amminico ad un composto (CHETOACIDO) che diverrà un amminoacido esso stesso. Questo tipo di reazione è particolarmente importante per numerosi aspetti:
 - Gli amminoacidi risultano in questo modo interconvertibili.
 - Non viene mai perso il gruppo amminico; qualora questo dovesse accadere il gruppo darebbe origine ad AMMONIACA con conseguente VARIAZIONE DEL

pH DEL MEZZO alcalinizzazione (perdita dell'eq acido base).

○ QUESTA REAZIONE INDIRIZZA IL CATABOLISMO infatti:

- viene indotta da eccesso proteico della dieta e consente utilizzo delle proteine unicamente nel caso non siano utili per altre vie di natura anabolica.
- Gli enzimi che si occupano di questa reazione lavorano solo a concentrazione elevata, km da 1 a 50 mM, cioè divengono effettivamente efficaci nel momento in cui vi sia un surplus di proteine.

TRANSAMINASI O AMMINOTRASFERASI sono gli enzimi che svolgono questo tipo di reazione, OGNI AMMINOACIDO VIENE DEAMINATO DA UNA SPECIFICA TRANSAMINASI, tuttavia due sono le più importanti e sono:

1. ALT alanina ammino transferasi.
2. AST aspartato ammino trasferasi.

Prendono il nome dal donatore del gruppo amminico infatti catalizzano rispettivamente le reazioni:

ALANINA → PIRUVATO.

ASPARTATO → OSSALACETATO.

in ogni caso l'ACCETTORE del gruppo amminico è l'alfachetoglutarato che si trasforma in glutammato (ALFA CHETOGLUTARATO → GLUTAMMATO); esistono anche altri accettori di gruppi amminici, in particolare a seconda della situazione possono essere utilizzati:

- PIRUVATO che viene convertito ad alanina.
- OSSALACETATO che viene convertito ad aspartato.
- OSSIDAZIONE DEL GLUTAMMATO o DEAMINAZIONE OSSIDATIVA: si tratta di una reazione che avviene tipicamente a livello mitocondriale e consente di trasformare il glutammato prodotto di nuovo in alfa chetoglutarato, in questo modo viene recuperato il materiale necessario per il ciclo di degradazione degli amminoacidi. Il fatto che la reazione possa essere sia NAD⁺ che NADP⁺ dipendente è particolarmente interessante:
 - tolgo gruppo amminico.
 - Recupero un chetoacido UTILIZZABILE NEL CICLO DI KREBS.
 - Genero equivalenti riducenti che possono INFLUIRE SUL IL CICLO DI KREBS in quanto si tratta di composti energetici utili nella catena respiratoria.

ATTRAVERSO QUESTE DUE AZIONI C'È UNA EFFETTIVA PRODUZIONE DI ENERGIA.

L'AZIONE DELLE TRANSAMINASI dipende da una vitamina, la VITAMINA B6 che da origine al PIRIDOSSALFOSFATO coenzima essenziale per il catabolismo degli amminoacidi.

IL PIRIDOSSAL FOSFATO strutturalmente deriva dalla piridina.

L'azione del coenzima si svolge in questo modo:

- gruppo carbonilico in posizione 3 è legato in forma di BASE DI SCHIFF con il gruppo amminico di una LISINA, si colloca quindi legata in modo covalente con la struttura della proteina in forma di aldimmina o base di schiff come già detto.

- L'amminoacido giunto nel sito attivo viene bloccato in posizione vicina alla piridossalfosfato.
- SI ROMPE IL LEGAME fra il gruppo AMMINICO DELL'ENZIMA e il piridossalfosfato, ad esso si lega quindi l'amminoacido DA DEAMINARE, a questo punto:
 - VIENE TOLTO L'IDROGENO LEGATO AL CARBONIO ALFA dell'amminoacido. IL GRUPPO AMMINICO RESTA LEGATO ALLA PIRIDOSSALE.
 - La piridossale quindi ospita il gruppo amminico e viene detta PIRIDOSSAMINA.
 - Viene quindi liberato il CHETOACIDO RESIDUO.

La medesima reazione ma in senso opposto avviene a carico dell'ALFACHETOGLUTARATO che viene così trasformato in GLUTAMMATO.

LA PIRIDOSSALE IN FORMA DI PIRIDOSSAMINA è una forma intermedia per tenere legato il gruppo amminico degli amminoacidi prima della definitiva cessione all'accettore.

ALT E AST sono enzimi PARTICOLARMENTE ABBONDANTI A LIVELLO EPATICO questo avviene perché il fegato tipicamente è sede di:

- DIGESTIONE DEI GRUPPI AMMINICI.
- PRODUZIONE DELL'UREA.

Questi enzimi possono però in caso di danno uscire dall'epatocita (come in caso di epatite o altri danni come MICRODANNI dovuti ad eccesso di assunzione di alcool o da solventi nocivi) e riversarsi a livello serico dove si presentano come:

- SGOT = SIERICO glutammato ossalacetato transaminasi.
- SGPT = SIERICO glutammato piruvato transaminasi.

TRANSAMINASI MUSCOLARI: nel muscolo la transaminasi più importante usa come accettore il PIRUVATO che si trasforma in ALANINA, si tratta infatti del chetoacido più abbondante in quanto generato nei processi di glicolisi. Il processo ciclico di utilizzo degli amminoacidi con transaminazione a carico del piruvato si può riassumere nel ciclo GLUCOSIO-ALANINA:

- la necessità di contrazione stimola la GLICOLISI con produzione di piruvato.
- Una volta consumata la fonte glucidica si attiva un fenomeno di PROTEOLISI MUSCOLARE alla quale consegue l'utilizzo di amminoacidi in particolare quelli ramificati come:
 - VALINA.
 - LEUCINA.
 - ISOLEUCINA.

Questa produce per varie vie acetilCoA e naturalmente, con i processi di DEAMINAZIONE, ALANINA.

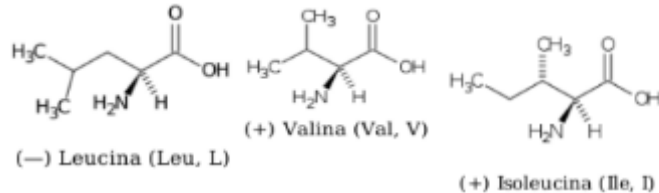
- L'ALANINA prodotta ESCE DAL MUSCOLO e va nel sangue.
- ARRIVA AL FEGATO dove viene trasformata in GLUCOSIO e rilasciata nuovamente a livello ematico.
- DAL SANGUE passa quindi di nuovo al MUSCOLO dove viene utilizzata.

Questo sistema consente L'UTILIZZO DI FONTI ENERGETICHE E IL LORO RECUPERO SENZA PRODUZIONE DI ACIDO LATTICO. Il CICLO GLUCOSIO-ALANINA è molto importante nella medicina sportiva proprio perché consente di produrre energia senza

produzione eccessiva di acido lattico.

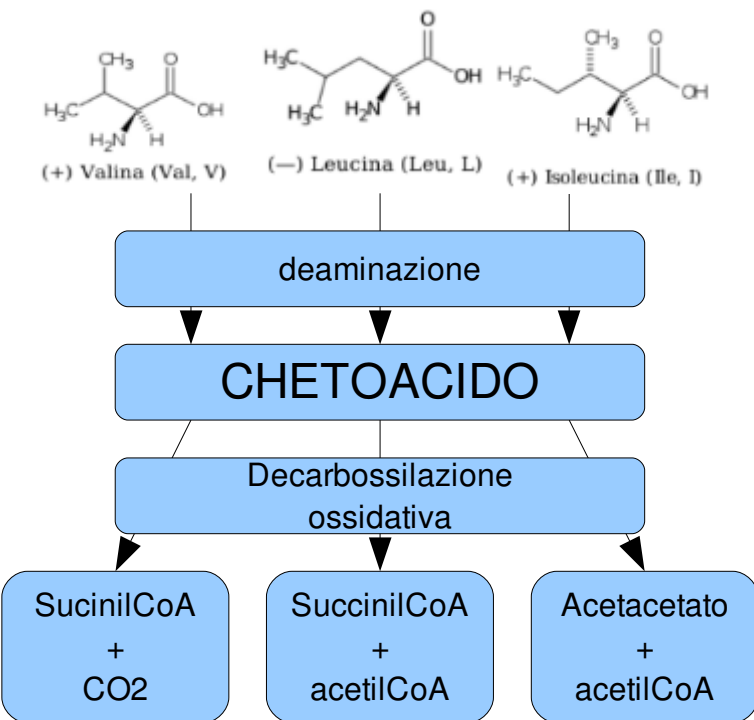
AMMINOACIDI RAMIFICATI vengono utilizzati principalmente a livello muscolare e parzialmente a livello renale; sono:

- **VALINA**
- **ISOLEUCINA**
- **LEUCINA**



sono gli unici tre amminoacidi il cui catabolismo non è affidato al fegato ma al muscolo (principalmente) e al rene (parzialmente); il catabolismo procede in questo modo:

- **TRANSAMINAZIONE**: in tutti e tre i casi vengono creati per transaminazione i chetoacidi corrispondenti:
 - VALINA → acido alfa cheto beta metil butirrico
 - ISOLEUCINA → acido alfa cheto gamma metil valerico
 - LEUCINA → acido alfa cheto beta metil valerico
- ognuno di questi chetoacidi fa da substrato ad una **DEIDROGENASI NAD⁺ DIPENDENTE** che provoca ossidazione del chetoacido con **DECARBOSSILAZIONE** del gruppo carbossilico di testa e **OSSIDAZIONE A CARBOSSILE** del gruppo chetonico sottostante, contemporaneamente avviene l'associazione dell'acile neoformato con il coenzimaA; la reazione è, a livello chimico, identica a quella che avviene a livello mitocondriale nella formazione dell'acetilCoA a partire da piruvato o del succinilCoA da alfa chetoglutarato; ottengo quindi, attraverso una serie di reazioni:
 - VALINA → SUCCINILCoA + CO₂; otteniamo quindi un composto integrabile a livello del ciclo di krebs, si tratta di un amminoacido **GLUCOGENETICO**.
 - ISOLEUCINA → SUCCINILCoA + ACETILCoA; otteniamo quindi due prodotti:
 - **CORPO CHETONICO**.
 - **COMPONENTE DEL CICLO DI KREBS**.Si tratta quindi di un amminoacido sia **CHETOGENETICO** che **GLUCOGENETICO**, in caso di digiuno risulta essere estremamente importante; lo sfruttamento di questi amminoacidi nel digiuno prolungato provoca di fatto la riduzione della massa muscolare, questi vengono infatti ricavati dalla demolizione delle proteine muscolari.
 - LEUCINA → ACETOACETATO + ACETILCoA. Ci da quindi un corpo chetonico e una molecola che potenzialmente ci può dare un corpo chetonico, ma che non può entrare direttamente a livello di processi glucogenetici, si tratta quindi di un amminoacido **CHETOGENETICO**.



IN PARTICOLARE QUESTI ENZIMI POSSONO ESSERE OGGETTO DI PROBLEMI DI NATURA GENETICA, si accumulano quindi chetoacidi nel sangue che vengono smaltiti a livello delle urine, le urine assumono per una serie di conseguenze a livello molecolare un odore e una consistenza particolari, la patologia assume il nome di MALATTIA DELL'URINA A SCIROPPO D'ACERO.

Tutti questi amminoacidi sono amminoacidi essenziali: la reazione di formazione dei chetoacidi risulta di fatto irreversibile; inoltre non esistono vie metaboliche capaci di sintetizzare catene ramificate come quelle di questi tre amminoacidi.

IL CICLO DELL'UREA

IL DESTINO DELLO IONE AMMONIO dopo la deaminazione ossidativa del glutammato è quello di essere eliminato come scarto o di essere riciclato in diverse forme organiche.

L'ammoniaca è estremamente tossica: la sua natura di base debole provoca innalzamento del pH con ovvie conseguenze a livello di tutte le strutture proteiche. Il processo di smaltimento prevede la trasformazione dello ione ammonio in urea che verrà eliminata con l'urina; il processo avviene in parte a livello citosolico e in parte a livello mitocondriale (uomo = organismo UROTELICO, altri animali sono in grado di eliminare direttamente lo ione ammonio e sono detti AMMONIOTELICI, come per esempio i pesci che hanno la possibilità costante di uno scambio diretto con l'acqua; altri ancora sono capaci di eliminare l'azoto tramite ACIDO URICO e sono detti URICOTELICI, quest'ultimo sistema è conveniente perché l'acido urico tende a cristallizzare e rende possibile la eliminazione dello scarto in forma solida, in questo modo è possibile eliminare la massa senza assunzione di liquidi) la finalità del processo è la creazione di un intermedio inerte capace di contenere l'azoto, eliminabile quindi in un secondo momento.

FASE MITOCONDRIALE: a livello del mitocondrio troviamo tre precursori fondamentali:

- IONE AMMONIO derivato dalla deaminazione ossidativa.
- ANIDRIDE CARBONICA in forma di acido carbonico prodotto principalmente dal ciclo di krebs.
- ATP generato anch'esso dalla catena respiratoria.

La reazione procede quindi in questo modo:

- FORMAZIONE DEL CARBAMMILFOSFATO:

catalizzata dalla carbammilfosfato sintetasi, la reazione provoca idrolisi di due molecole di ATP in ADP, si tratta di un composto costituito di ammoniaca, una

molecola di anidride carbonica e un fosfato. La reazione in realtà avviene in due fasi distinte:

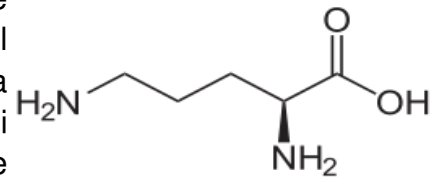
- **FORMAZIONE DELL'ACIDO CARBAMMICO:**
questa reazione di fatto consuma la prima molecola di ATP richiesta e porta alla formazione di un composto molto simile all'urea.
- **FORMAZIONE DEL CARBAMIL FOSFATO:**
in questo caso si assiste alla formazione di un comune legame fosfoestereo fra la componente idrossilata dell'acido carbammico e una molecola di fosfato.

La reazione in questione è praticamente irreversibile, l'attività dell'enzima dipende da:

- effettore allosterico positivo, l'N-acetil glutammato.
- Concentrazione di ammoniaca.
- Dall'operatività della **GLUTAMMATO DEIDROGENASI** che in fatto libera quanto la carbamil fosfato sintasi utilizza (NH_3).
oltre alla forma mitocondriale dell'enzima esiste anche una forma citosolica che interviene nella medesima reazione ma che si colloca in una via anabolica di sintesi delle basi azotate pirimidiniche.

- **FORMAZIONE DELLA ORNITINA:**

l'ornitina è un amminoacido con catena laterale basica costituita di tre atomi di carbonio, si tratta di un alfa amminoacido, ma non viene utilizzato nella formazione di proteine, viene sintetizzato nel citosol al termine del ciclo dell'urea stesso per idrolisi della arginina e migra successivamente nel mitocondrio; come si può notare si tratta di un amminoacido a catena laterale basica.



- **FORMAZIONE DI CITRULLINA:**

vengono legate insieme una molecola di carbammilfosfato e una di ornitina, la reazione viene catalizzata dalla **ORNITINA TRANSCARBAMILASI**: assistiamo ad idrolisi del gruppo fosfato del carbammilfosfato che viene montato in forma di carbamil sul gruppo amminico della catena laterale della ornitina. A QUESTO PUNTO LA CITRULLINA ESCE DAL MITOCONDRIO.

FASE CITOSOLICA:

- **CONDENSAZIONE DI CITRULLINA E ASPARTATO:**

si assiste alla condensazione fra una molecola di aspartato citosolico e la citrullina, questo avviene grazie alla formazione di un legame fra il gruppo carbonilico terminale della citrullina e il gruppo amminico dell'aspartato, si forma quindi un intermedio molto voluminoso detto **ARGININ SUCCINATO**. La reazione è catalizzata dalla **ARGININ SUCCINATO SINTETASI** e provoca l'idrolisi di una molecola di ATP in AMP con perdita di pirofosfato.

- **LIBERAZIONE DELL'ARGININA:**

reazione catalizzata da una liasi che libera a livello citosolico due molecole:

- **ARGININA** che prosegue il ciclo dell'urea.
- **FUMARATO** che viene prelevato dalla fumarasi che lo idrata a malato che sarà

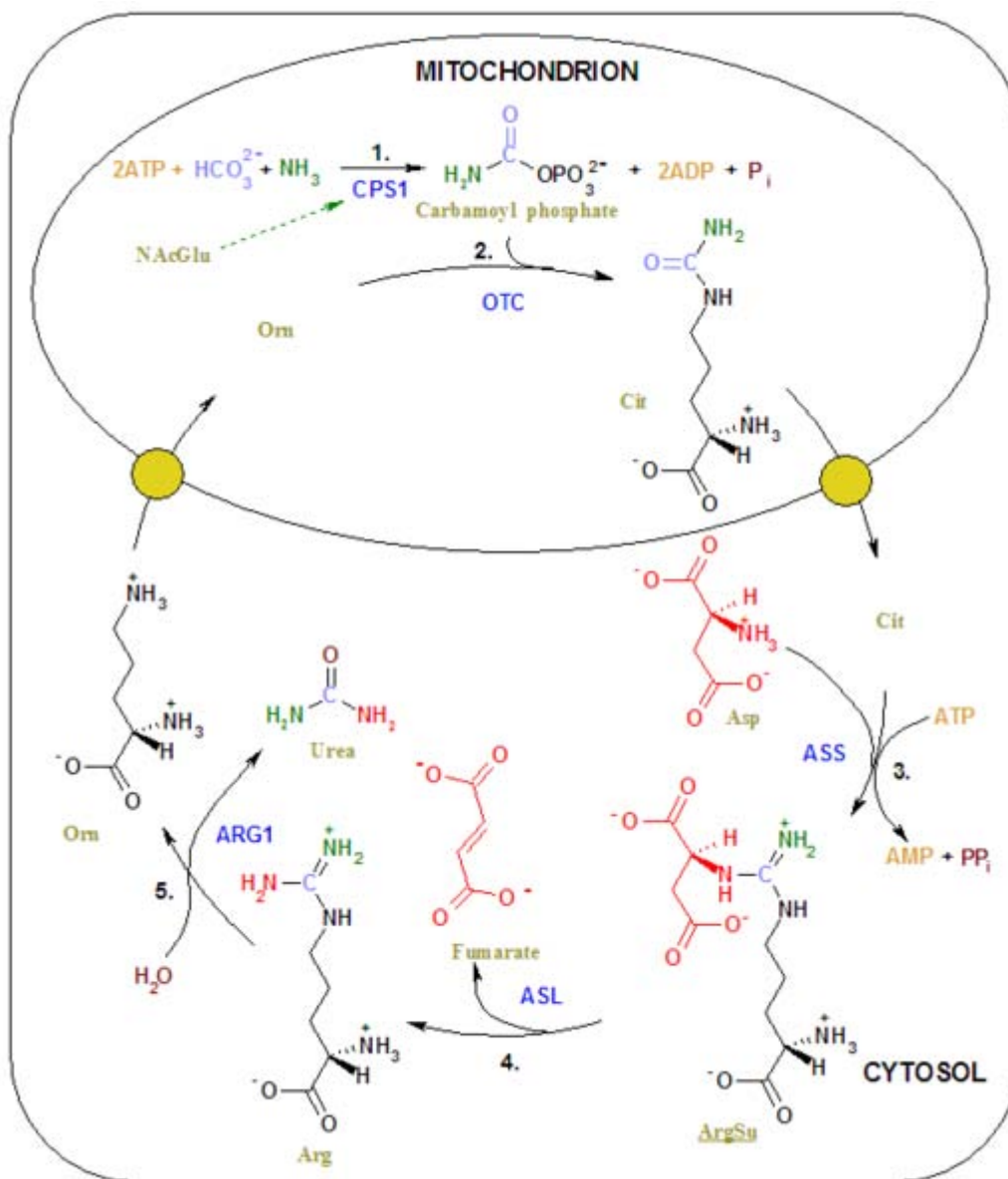
poi ridotto ad ossalacetato e integrato nel ciclo di krebs mitocondriale.

- IDROLISI DELLA ARGININA:

un enzima citosolico detto ARGINASI provoca un fenomeno di idrolisi per cui otteniamo:

- ORNITINA.
- UREA.

SCHEMA DEL CICLO DELL'UREA



Questa serie di reazioni è essenziale per la formazione di una molecola di urea estremamente importante perché INERTE.

Questo ciclo avviene unicamente a livello EPATICO, in nessun caso a livello renale; nel caso in cui vi siano danni a livello epatico non viene sintetizzata urea e si verifica una IPERAMMONIEMIA.

REGOLAZIONE DEL CICLO DELL'UREA: il ciclo dell'urea viene regolato ovviamente:

- DALLA CONCENTRAZIONE DI IONE AMMONIO.
- DALLA CONCENTRAZIONE DEL CARBAMMILFOSFATO.
- REGOLATORE ALLOSTERICO DELLA CARBAMMIL FOSFATO SINTETASI, si tratta di Nacetil glutammato, una molecola ottenuta dalla condensazione di una molecola di GLUTAMMATO e di ACETILCoA, la reazione è stimolata dalla Nacetilglutammato sintetasi.
- ELEVATA CONCENTRAZIONE DI ARGININA che di fatto è un indicatore di presenza di proteine ma principalmente stimola la sintesi di N ACETIL GLUTAMMATO attivando la Nacetil glutammato sintetasi.

Una concentrazione elevata di glutammato provoca, quindi, una duplice influenza sul ciclo:

1. STIMOLAZIONE DELLA GLUTAMMATO DEAMINASI.
2. STIMOLAZIONE ALLA PRODUZIONE DELL'N ACETIL GLUTAMMATO.

La penultima reazione del ciclo genera FUMARATO: questo a livello citosolico diviene substrato della fumarasi (molto simile a quella mitocondriale) che provoca la formazione di MALATO idrossi acido bicarbossilico, questo attraverso i sistemi di trasporto può entrare nel mitocondrio con un sistema di antiporto che trasporta all'esterno ALFA CHETOGLUTARATO utile per le reazioni di transaminazione. Il MALATO entrato nel mitocondrio diviene substrato della malato deidrogenasi che lo trasforma in OSSALACETATO, chetoacido di partenza del ciclo di krebs.

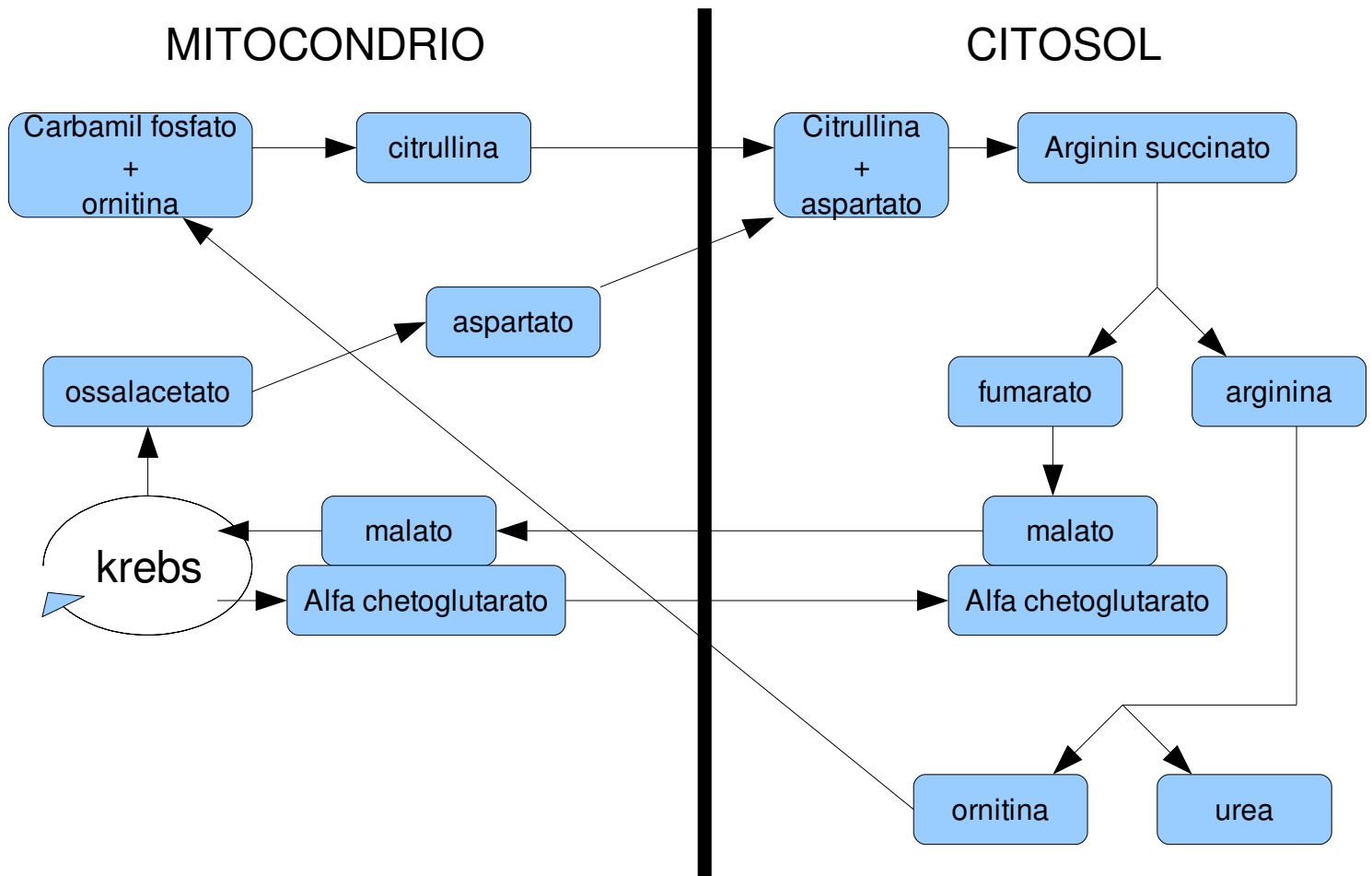
L'OSSALACETATO mitocondriale può essere transaminato in ASPARTATO per trasferimento dal glutammato con formazione di alfa chetoglutarato; attraverso un sistema navetta l'ASPARTATO esce dal mitocondrio ed ENTRA NEL CICLO DI FORMAZIONE DELL'UREA contribuendo alla formazione di ARGININ SUCCINATO.

I DUE SISTEMI DELLA PRODUZIONE DELL'UREA E DEL CICLO DI KREBS sono UNITI, in particolare grazie a:

- FUMARATO prodotto dal ciclo dell'urea.
- ASPARTATO prodotto nel mitocondrio per amminazione dell'ossalacetato.
- SISTEMI NAVETTA che di fatto sono utili:
 - AL PASSAGGIO delle componenti dall'interno all'esterno del mitocondrio.
 - AL PASSAGGIO DI EQUIVALENTI RIDUCENTI.

In questo modo:

1. NON MANCA MAI IL GLUTAMMATO nel mitocondrio che è essenziale per:
 1. PRODUZIONE DI ALFA CHETOGLUTARATO.
 2. DEAMINAZIONE che produce l'ammoniaca, precursore fondamentale per il ciclo dell'urea.
2. NON MANCA MAI FUMARATO CITOSOLICO per il trasporto degli equivalenti redox al mitocondrio.



NELLE ALTRE CELLULE: questo tipo di ciclo è realizzabile unicamente a livello del fegato, nelle cellule degli altri tessuti il catabolismo degli amminoacidi avviene in modo simile ma non è consentito lo smaltimento diretto dell'ammoniaca, abbiamo quindi di fatto PRODUZIONE DI QUESTO COMPOSTO:

- DERIVATO DAL CATABOLISMO DI AMMINOACIDI.
- DERIVATO DA CATABOLISMO DELLE BASI PURINICHE.

Dobbiamo quindi di fatto ORGANICARE questo azoto, questo avviene a spese del GLUTAMMATO che diviene GLUTAMMINA, si tratta della amide dell'acido glutamico, presenta un gruppo amminico legato al carbossile della catena laterale; la reazione comporta l'idrolisi di una molecola di ATP.

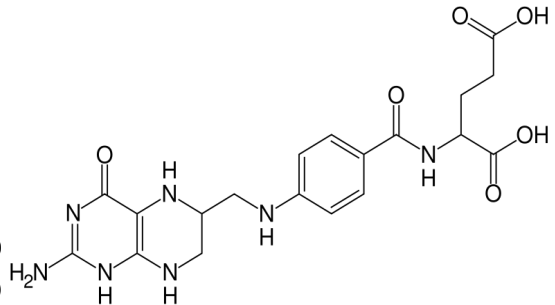
LA GLUTAMMINA può ora essere liberata a livello ematico, questo consente il trasporto della stessa alle regioni:

1. **INTESTINALE** e da qui attraverso il sistema circolatorio portale al fegato.
2. **EPATICA** la glutammina viene deaminata a **GLUTAMMATO** e lo ione ammonio entra nel ciclo dell'urea.
3. **RENALE** che elimina in parte direttamente ammoniaca in forme di:
 1. **CHETOACIDI**, gruppi chetonici ma anche altri acidi, **ASSOCIATI ALLO IONE AMMONIO**.
 2. **CLORURO DI AMMONIO**.

In questo modo l'urina perde i suoi livelli di acidità dati dal sistema di assorbimento detto Na^+H^+ exchanger attivo a livello renale.

GLI AMMINOACIDI POSSONO ESSERE DEGRADATI a questo punto in UNITÀ MONOCARBONIOSE come:

- metile.
- Idrossimetile.
- Metilene.
- Metenile.
- Formile.



le unità bicarboniose in questione vengono generalmente vincolate al TETRAIDROFOLATO o THF, si tratta di un derivato dell'acido FOLICO: una

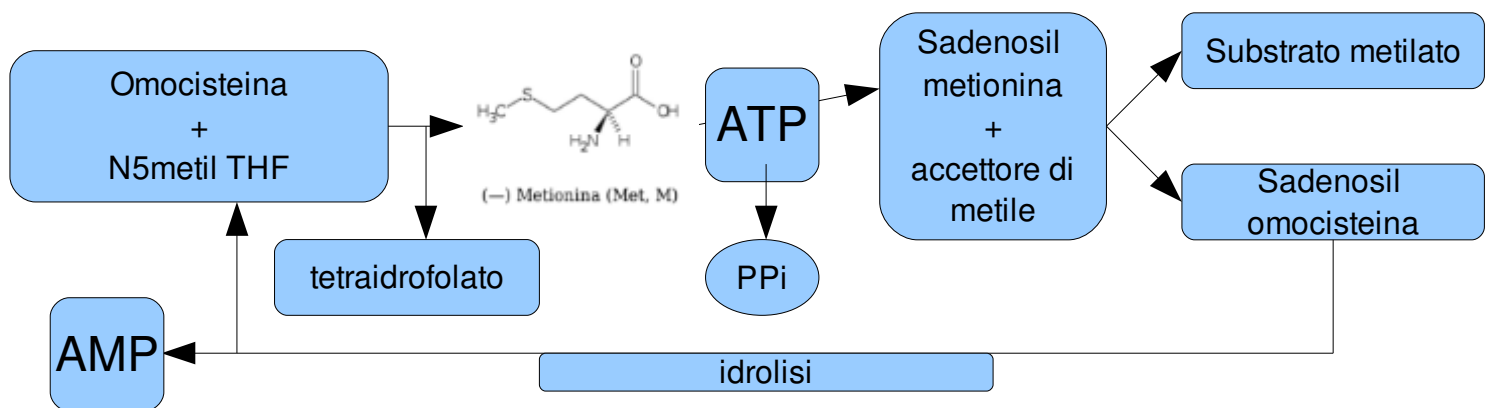
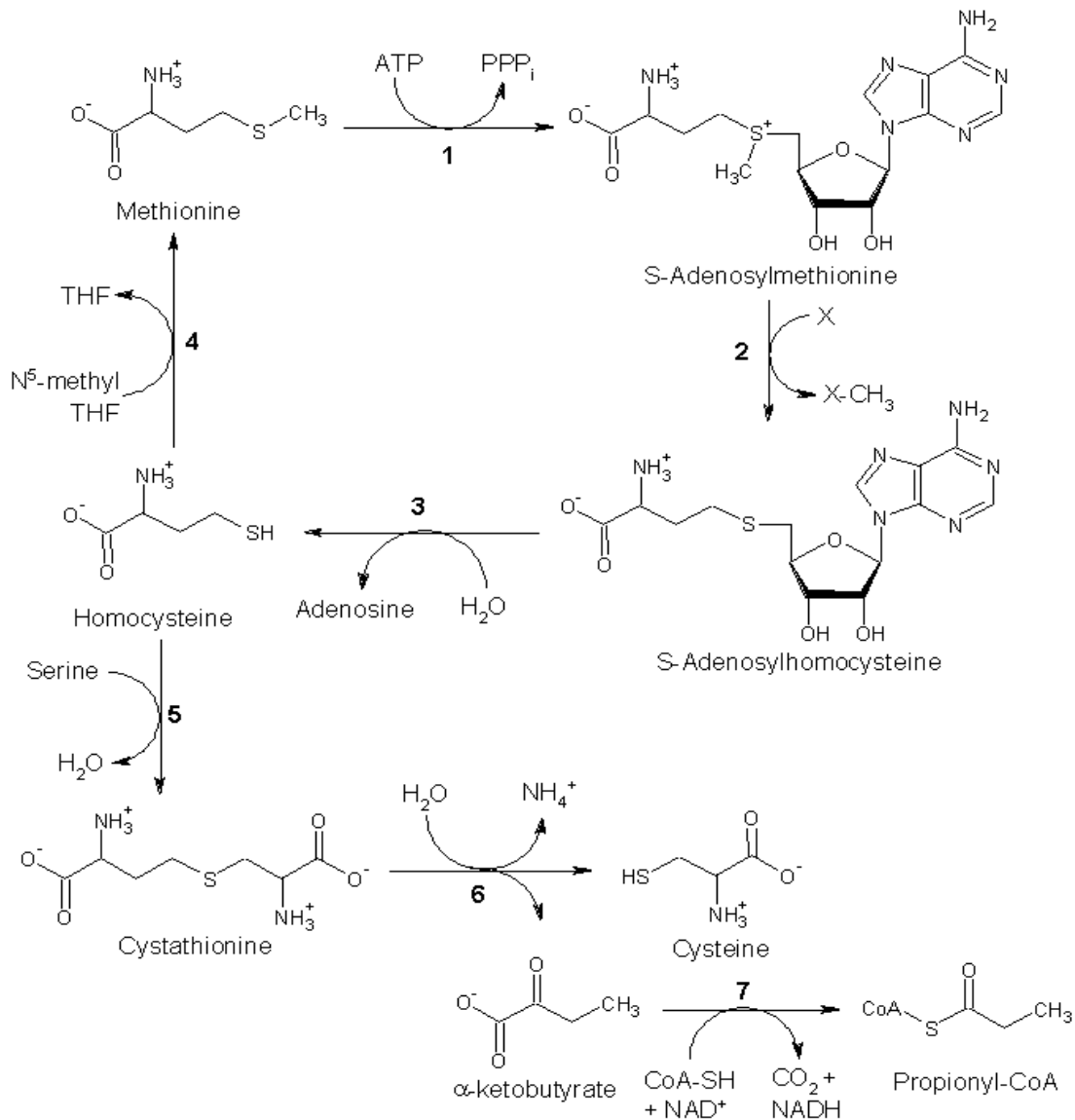
molecola costituita di due nuclei aromatici polisostituiti e legati ad una molecola di ACIDO PARABENZOICO a sua volta esterificato con una catena di molecole di glutammato fra loro esterificate. Questo composto è estremamente importante come accettore provvisorio di unità bicarboniose nel catabolismo degli amminoacidi.

Una tipica reazione alla quale partecipa il tetraidrofolato è la trasformazione della SERINA in GLICINA; si tratta di una delle possibili vie di catabolizzazione della molecola: il gruppo idrossimetilico viene trasferito sul tetraidrofolato grazie alla perdita di una molecola di acqua e collaborazione dei due punti attivi della molecola di tetraidrofolato (l'azoto in posizione 10 e l'azoto in posizione 5) con formazione di N5,N10 METILENE TETRAIDROFOLATO; la reazione è catalizzata dalla SERINA IDROSSIMETIL TRASFERASI.

A questo punto L'N5N10 METILENE TETRAIDROFOLATO, ESSENZIALE PER LA PRODUZIONE DI BASI PIRIMIDINICHE, viene coinvolto in numerose reazioni reversibili in diversi modi:

- RIDUZIONE DEL N5N10 METILENE TETRAIDROFOLATO: viene trasformato in N5 METIL TETRAIDROFOLATO utilizzato per il TRASFERIMENTO DEL METILE in reazioni importantissime come la formazione della treonina (donazione del metile alla omocisteina che diviene metionina).
- OSSIDAZIONE DEL N5N10 METILENE TETRAIDROFOLATO la reazione di ossidazione provoca l'uscita di un atomo di idrogeno e da N5N10 METENIL TETRAIDROFOLATO caratterizzato dalla presenza di un triplo legame delocalizzato fra le posizioni 5 e 10 del tetraidrofolato; il medesimo composto può derivare dalla DEAMINAZIONE DEL N5 FORMIMMINO tetraidrofolato (si tratta di tetraidrofolato con un gruppo imminico legato all'azoto in posizione 5, viene sintetizzato grazie ad una cicloaminasi o può derivare dal catabolismo dell'istidina) che viene deaminato producendo N5N10 metenil tetraidrofolato.
- PRODUZIONE DEL FORMIL TETRAIDROFOLATO: si assiste ad un fenomeno di idrolisi che taglia il legame in posizione 5 e provoca la formazione di N10 formil tetraidrofolato precursore delle PURINE; questo composto PUÒ ANCHE DERIVARE DAL TRIPTOFANO. Esistono in realtà due forme di formil tetraidrofolato:
 - N5 formil tetraidrofolato prodotto spontaneamente da una cicloossigenasi.

OMOCISTEINA o SAO.



Il SAM è un donatore estremamente efficace, possiamo utilizzarlo per:

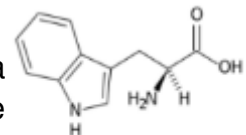
- BIOSINTESI DELLE CATECOLAMINE.

- BIOSINTESI DI MOLECOLE IN GENERALE.
- COFATTORE DELL'ENZIMA COMT catecol O metil transferasi, enzima presente a livello epatico renale e intestinale, sostanzialmente questo enzima si occupa di trasferire un gruppo metilico su un composto di natura fenolica con la formazione di un legame etereo sul gruppo alcolico del fenolo stesso, SAM viene quindi convertito in SAO e rilascia il metile sull'ossidrile; il SAO non viene riconvertito in SAM ma subisce una serie di reazioni:
 - IDROLISI DEL SAO vengono liberati OMOCISTEINA e ADENOSINA, questi:
 - OMOCISTEINA viene riconvertita generalmente in metionina e quindi coinvolta di nuovo nella formazione di S adenosil metionina (con spesa di tre molecole di fosfato); tuttavia la omocisteina può andare incontro ad un altro destino metabolico: può infatti essere trasformata in ALFA CHETOBUTIRRATO grazie all'operato di un enzima detto CISTATIONINA GAMMA LIASI.

Queste reazioni sono particolarmente energetiche e quindi estremamente costose per la cellula.

METABOLISMO DEL TRIPTOFANO:

Il triptofano può andare incontro a due differenti vie cataboliche: la via più comune produce acetacetato e acido nicotinico, la seconda invece serotonina.



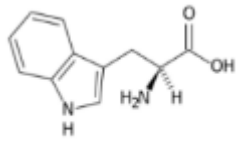
(—) Triptofano (Trp, W)

TRASFORMAZIONE DEL TRIPTOFANO IN ACETACETATO E ACIDO NICOTINICO:

- OSSIDAZIONE con ossigeno molecolare, si assiste alla rottura dell'anello aromatico con formazione di N FORMIL CHINURENINA:
- IDROLISI DELLA FORMIL CHINURENINA, questa idrolizza la molecola in:
 - FORMILE che si associa a tetraidrofolato formando l'N5 FORMIL TETRAIDROFOLATO utile, previa isomerizzazione a N10 formil tetraidrofolato per formare le purine.
 - CHINURENINA che può essere trasformata con una serie di reazioni metaboliche in ACIDO NICOTINICO che può essere amminato a nicotinammide e quindi risultare utile per la formazione di coenzimi contenenti NICOTINAMMIDE. Il processo prevede l'incorporazione dell'atomo di azoto in una molecola aromatica, le altre parti carboniose vengono eliminate. In ogni caso il livello di sintesi non è sufficiente a soddisfare il fabbisogno del nostro organismo, è necessaria la assunzione della nicotinammide come tale.

LA PELLAGRA: la presenza di nicotinammide è essenziale per la protezione dalla pellagra, in assenza di NAD⁺ e NADP⁺ si assiste a rallentamento di tutte le vie metaboliche che si estrinseca in:

- **DEMENZA:** a lungo termine il cervello comincia a risentire.
- **DERMATITE e DIARREA:** il metabolismo essendo rallentato non riesce a sostituire le cellule dei tessuti a turnover più elevato, questo si estrinseca in una degenerazione delle strutture della pelle e del epitelio intestinale.



(-) Tryptofano (Trp, W)

SEROTONINA

FORMIL
CHINURENINA

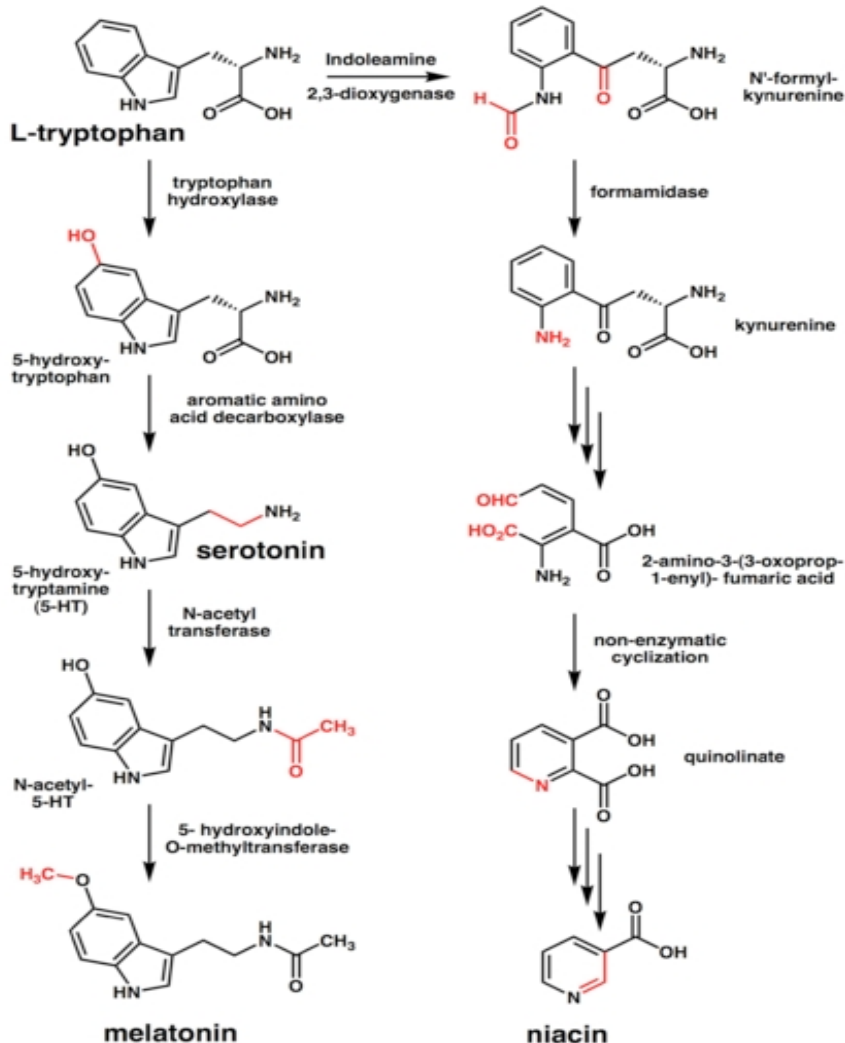
N5,N10 FORMIL
TETRAIDROFOLATO

CHINURENINA

ALANINA

ACIDO NICOTINICO

ACETOACETATO



Dal triptofano CONVERTITO IN CHINURENINA per serie di diverse di reazioni possiamo ricavare:

1. ALANINA distacco della testa della molecola; questo amminoacido può essere utilizzato per ottenere piruvato e quindi GLUCOSIO.
2. ACETAOACETILCoA e quindi ACETACETATO, il triptofano è quindi un amminoacido ANCHE CHETOGENETICO.

il TRIPTOFANO può anche divenire substrato di decarbossilasi:

1. IDROSSILAZIONE del triptofano a 5OH triptofano; la reazione è tetraidrobiopterina dipendente.
2. DECARBOSSILAZIONE PLP dipendente con formazione di 5OH TRIPTOAMMINA cioè la SEROTONINA, si tratta di un neurotrasmettitore di primaria importanza, la sua mancanza può estrinsecarsi in forme di depressione.

SERINA: si tratta di un amminoacido non essenziale in quanto ottenibile anche dal 3 fosfoglicerato.

può dare numerosi prodotti, in particolare:

- GLICINA in una reazione catalizzata dalla idrossimetil trasferasi.
- PIRUVATO attraverso una serie di reazioni:
 - DIIDRATAZIONE: vengono eliminati l'ossidrile terminale della molecola e l'idrogeno del gruppo amminico con formazione di ACIDO AMMINO ACRILICO; l'enzima che catalizza questa reazione dipende dal piridossalfosfato ed è di fatto una deidratasi.
 - TAUTOMERIA DELL'ACIDO AMMINOACRILICO: può diventare ACIDO IMMINO PIRUVICO che presenta un gruppo imminico.
 - IDROLISI DEL GRUPPO IMMINICO che viene facilmente idrolizzato e sostituito con un gruppo chetonico, si forma quindi PIRUVATO con uscita di una molecola di ammoniaca.

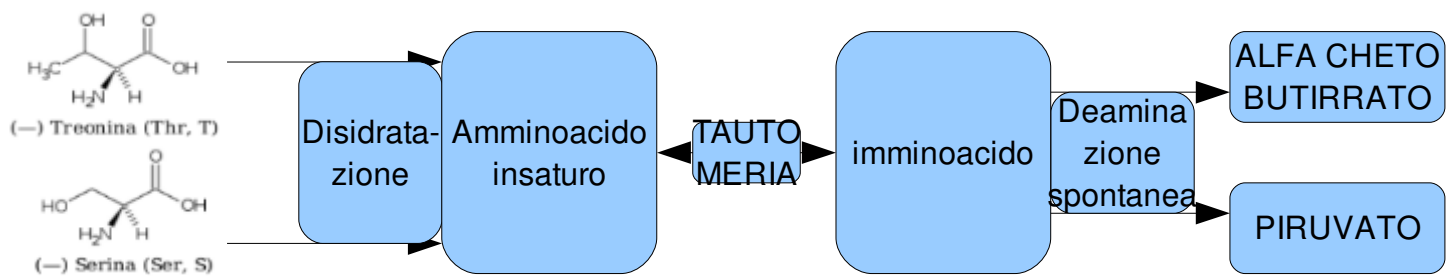
La reazione avviene senza utilizzo di transaminasi.

- TRANSAMINAZIONE SPECIFICA: ottengo un acido idrossi piruvico che verrà quindi convertito di nuovo a PIRUVATO.

TREONINA: AMMINOACIDO ESSENZIALE, abbiamo una reazione simile a quella della serina:

- FORMAZIONE DI ALFA CHETO BUTIRATO:
 - DISIDRATAZIONE: avviene una reazione di disidratazione ad opera dell'enzima PLP deidratasi, si ottiene quindi l'imminoacido corrispondente che anche in questo caso va incontro ad un fenomeno di tautomeria che facilita la reazione di deaminazione.
 - DEAMINAZIONE con formazione di alfa cheto butirato.

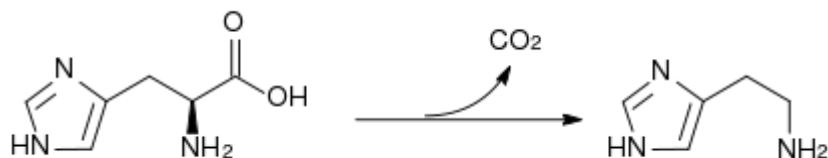
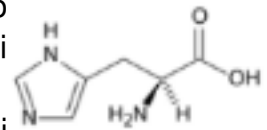
A questo punto la DEIDROGENASI dei chetoacidi stimola la decarbossilazione con formazione di un legame estereo con il coenzimaA, si forma quindi PROPIONIL CoA; questo con una serie di reazioni viene trasformato in SUCCINIL CoA che viene integrato a livello del ciclo di krebs (prevede l'intervento della BIOTINA). Quest'ultima reazione rende la via metabolica irreversibile: non è possibile ottenere la treonina da glucosio o altre macromolecole.



ISTIDINA:

si tratta di un amminoacido insensibile alla transaminazione, subisce una reazione diversa:

- **LISI DELL'AMMONIO:** avviene grazie all'enzima specifico ISTIDINA AMMONIO LIASI, con la lisi del gruppo amminico si forma l'UROCANATO o acido urocanico.
- **IDRATAZIONE DELL'ACIDO UROCANICO:** con formazione di ACIDO IMIDAZOLONE PROPIONATO, la idratazione provoca la (—) Istidina (His, H) eliminazione della insaturazione e la formazione a livello dell'anello di un gruppo chetonico.
- **IDROLISI DELLA AMMIDE INTRAMOLECOLARE** creatasi con la formazione del carbonile, si forma quindi una molecola non circolare detta FORMIMMINO GLUTAMMATO.
- **LISI DEL FORMIMMINO GLUTAMMATO:** interviene un tetrafolato e otteniamo:
 - N5 FORMIMMINO THF.
 - GLUTAMMATO.



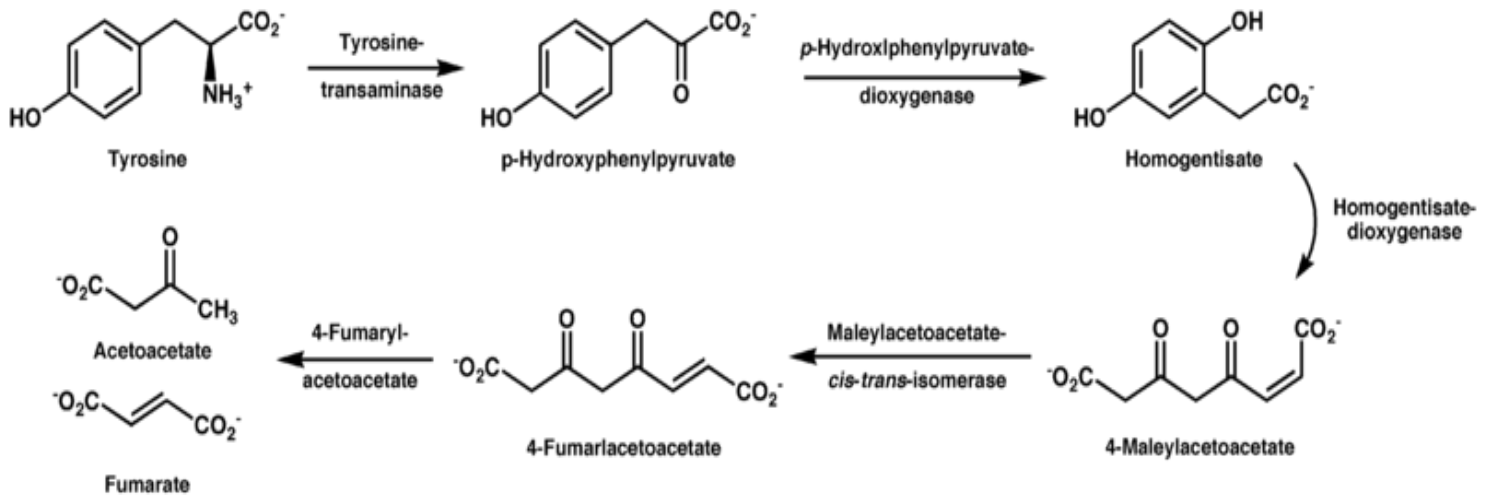
Anche la ISTIDINA può divenire substrato di una decarbossilazione PLP dipendente diventando ISTAMINA tipicamente sintetizzata dagli eosinofili e dalle mastocellule, si tratta si un vasodilatatore molto potente che interviene a livello di reazioni allergiche.



FENILALANINA: può essere convertita a tirosina detta anche paraidrossi fenilalanina per aggiunta di un gruppo ossidrilico:

- **FORMAZIONE DELLA TIROSINA:** l'enzima taglia la molecola di ossigeno in due atomi di ossigeno, di questi:
 - UNO va a formare la molecola di tirosina.

- IL SECONDO va a formare una molecola di acqua.
- È necessario ora inserire una molecola di idrogeno, questo viene ricavato dalla TETRAIDROBIO PTERINA (in forma ridotta) che viene ossidata a DIIDROBIO PTERINA. La pterina è una componente simile al tetraidrofolato, in particolare i suoi siti redox attivi sono l'atomo di azoto in posizione 5 e il gruppo amminico legato al carbonio 2; il recupero della molecola avviene grazie ad una idrogenasi specifica.
- DEAMINAZIONE DELLA TIROSINA: avviene per transaminazione a carico di alfa chetoglutarato, si forma quindi ACIDO PARA IDROSSI FENIL PIRUVICO.
- OSSIDAZIONE DELL' ACIDO PARA IDROSSI FENIL PIRUVICO: il composto che si forma per ossidazione diretta e conseguente decarbossilazione con ossigeno molecolare è l'ACIDO OMOGENTISICO.
- OSSIDAZIONE DELL'ACIDO OMOGENTISICO: si assiste ad un'altra ossidazione diretta con ossigeno, si forma il MALEIL ACETOACETATO per rottura della molecola in corrispondenza dei gruppi ossidrilici (formazione di insaturazioni).
- ISOMERIZZAZIONE A FUMARIL ACETOACETATO: il doppio legame formatosi fra i due atomi di carbonio di quello che in origine era il gruppo amminico passa da posizione cis a posizione trans.
- IDROLISI DEL FUMARIL ACETOACETATO, si formano:
 - ACETACETATO che entra nel ciclo dei corpi chetonici e viene associato a coenzima A attraverso un trasferimento del coenzima dal succinilCoA (con ottenimento quindi di succinato).
 - FUMARATO che entra nel ciclo di Krebs.



DIFETTI DELLA TRASFORMAZIONE DELLA FENILALANINA IN TIROSINA: se il primo degli enzimi coinvolti, cioè la idrossilasi della fenilalanina, non è operante la fenilalanina diviene substrato della transaminazione con formazione di FENIL PIRUVATO che non viene accettato come substrato NELLA OSSIDAZIONE SUCCESSIVA; il fenil piruvato si sposta a livello ematico, attraverso il circolo nella cellula può diventare:

- ACIDO FENILACETICO per decarbossilazione.
- FENILLATTATO.

Parte di questi acidi provoca acidosi metabolica e si manifestano a livello renale nella

produzione di urina ricca di fenilpiruvato, tale patologia viene definita FENILCHETONURIA; le acidosi soprattutto in età infantile sono alla base di numerosi problemi anche di natura mentale.

Un altro importante enzima di controllo è sicuramente quello che catalizza l'apertura dell'anello dell'acido omogentisico; in caso di inattività o scarsa attività di questo enzima si accumula il precursore che viene eliminato con l'urina alla quale dà un colore tipicamente scuro, anche nero; la patologia viene definita ALCAPTONURIA. Questo composto si ossida a livello dell'urina dando vita a composti pigmentati, ma si può anche accumulare nelle articolazioni che presentano cartilagine nera e possono dare origine ad infiammazioni (artriti).

Questa via catabolica avviene in tutti i tessuti e produce substrati energetici, ma la tirosina può anche entrare a far parte di una via metabolica diversa: la via metabolica di sintesi delle CATECOLAMINE sintetizzate in particolare a livello della midollare del surrene oltre che nei neuroni DEL SNC che però sintetizzano prevalentemente noradrenalina (la noradrenalina è un neurotrasmettitore). Non si tratta di una reazione catabolica e in ogni caso, a livello quantitativo, questa via metabolica può essere definita irrilevante.

- IDROSSILAZIONE DELLA TIROSINA il meccanismo è il medesimo della via catabolica, l'enzima è una idrossilasi e ci dà DOPA o diidrossi fenilalanina.
- DECARBOSSILAZIONE DEL DOPA si tratta di una decarbossilazione semplice con un enzima piridossal fosfato dipendente con formazione di DOPAMINA; la dopamina è un neurotrasmettitore che opera a livello della sostanza nigra in particolare nel controllo dei movimenti fini involontari; quest'area del cervello è particolarmente sensibile a cali della produzione di DOPAMINA che provocano IL MORBO DI PARKINSON (difficoltà di deambulazione, tremori della mano, mancato controllo dei muscoli facciali, ecc...). TRATTAMENTO FARMACOLOGICO prevede la somministrazione del DOPA o levodopa, questo precursore riesce a passare la barriera ematoencefalica e può essere trasformato in dopamina direttamente a livello cerebrale, si tratta del trattamento più comune, ma la LEVODOPA viene catabolizzata in una via che coinvolge l'enzima COMT (catecol metil transferasi) con formazione di METILDOPA che sfrutta il SAME trasformandolo in SAO. L'enzima COMT è inducibile.

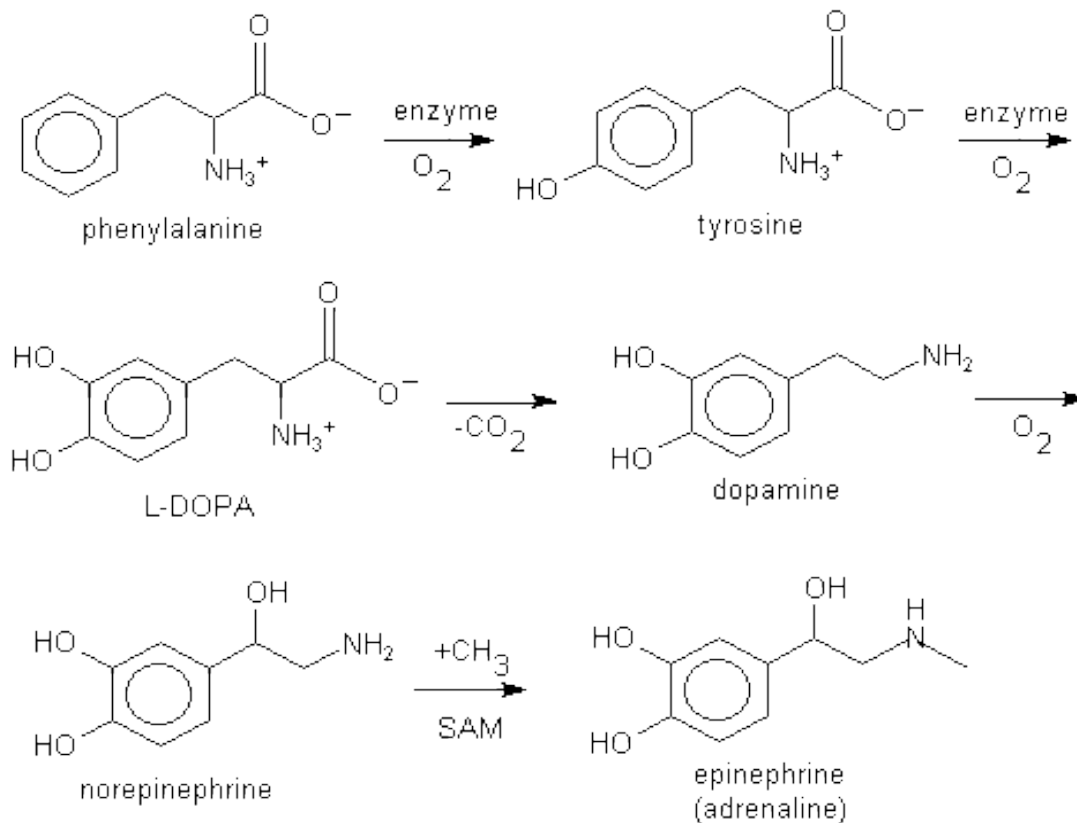
La dopamina è la prima delle CATECOLAMINE.

- TRASFORMAZIONE DELLA DOPAMINA IN NORADRENALINA con una azione di idratazione che di fatto coinvolge il primo carbonio della catena laterale; la reazione coinvolge una molecola di ossigeno e una molecola di acido ascorbico che viene deidrogenato ad acido deidrossiascorbico con uscita di una molecola di acqua.
- CONVERSIONE DELLA NORADRENALINA IN ADRENALINA: l'adrenalina è un prodotto di metilazione, l'azione di metilazione da parte del SAM che viene trasformato in SAO si estrinseca nell'aggiunta di un metile a livello del gruppo amminico terminale.

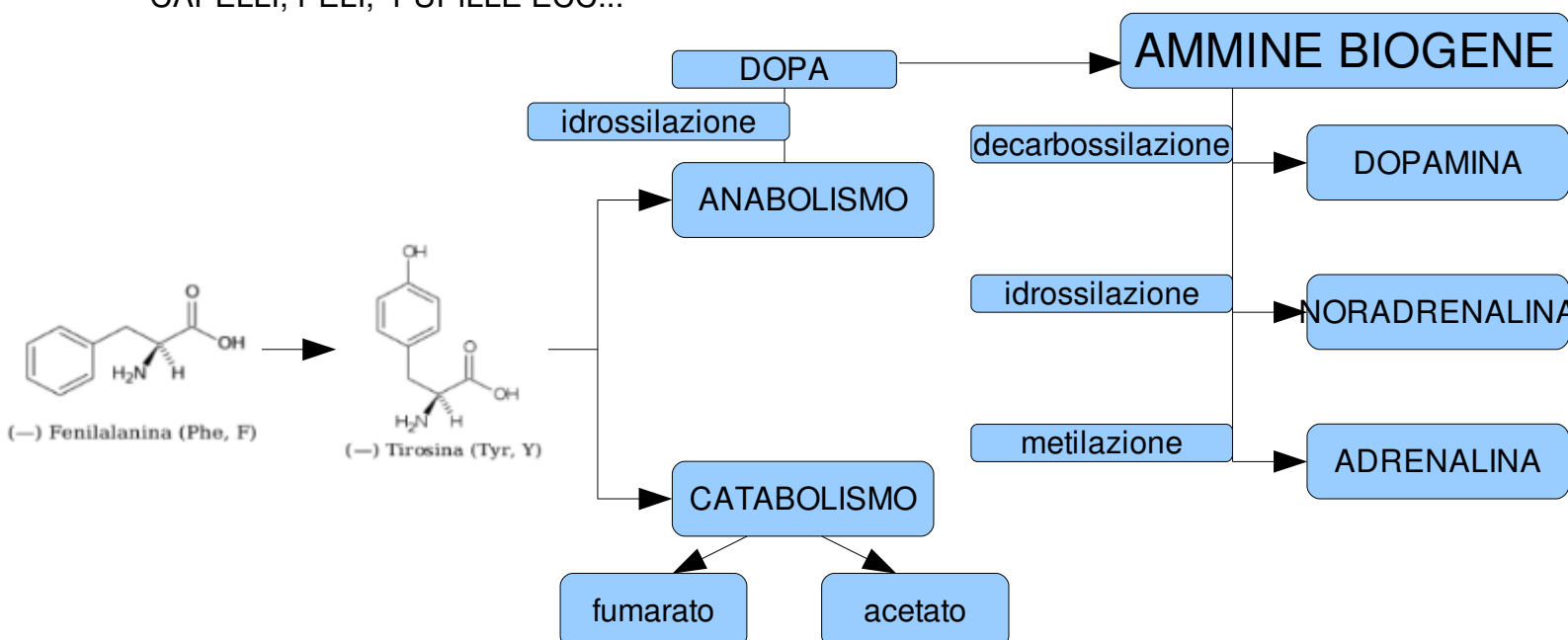
LE CATECOLAMINE sono quindi tre:

1. DOPAMINA.
2. NORADRENALINA.

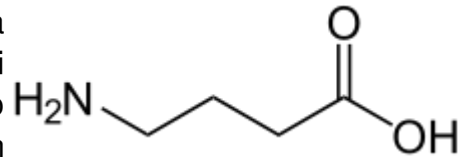
3. ADRENALINA.



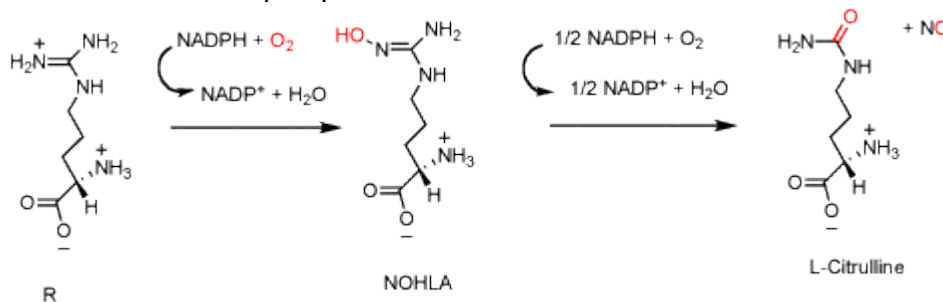
Un difetto genetico che coinvolge il DOPA è anche l'albinismo, questo a livello dei melanociti segue una via metabolica che comporta la sua trasformazione in MELANINA, un composto dalle molteplici funzioni, si tratta di un agente antimutagenico (MELANOMA, si tratta di una forma tumorale relativa ai melanociti) ma anche un pigmento della pelle, la mancanza di MELANINA provoca l'ALBINISMO che provoca una assenza di colore di CAPELLI, PELI, PUPILLE ECC...



GLUTAMMATO: oltre ad essere un aminoacido fondamentale per il mantenimento della omeostasi dell'azoto è anche precursore di una ammina biogena, in particolare grazie ad una reazione di decarbossilazione che porta alla formazione del GABA o acido gamma ammino butirrico; si tratta di un neurotrasmettitore di primaria importanza. Altra reazione in cui può essere coinvolto il GLUTAMMATO è la sua trasformazione a GLUTAMMINA generata dalla glutammina sintetasi, in mancanza di funzionalità epatica possiamo avere una iperammoniemia, il glutammato viene sottratto alla formazione di GABA per essere indirizzato alla formazione di glutammina funzionale a tamponare iperommoniemia, la conseguente mancanza di GABA provoca a livello cerebrale i sintomi della iperammoniemia. Altro possibile sintomo è l'EDEMA CEREBRALE causato da squilibri di concentrazione.



ARGININA: oltre al coinvolgimento in numerose vie metaboliche di diversa natura (metabolismo dell'urea, sintesi della creatina fosfato ecc...) questo aminoacido è precursore di un neurotrasmettitore fondamentale: l'OSSIDO NITRICO o OSSIDO DI AZOTO secondo la reazione qui riportata:



L'OSSIDO DI AZOTO, oltre ad essere un neurotrasmettitore utilizzatissimo a livello del nostro sistema nervoso è anche un messaggero secondario di numerosi ormoni presenti nel nostro organismo. Il processo di sintesi è catalizzato dall'enzima OSSIDO NITRICO SINTASI o NOS.

UTILIZZO DEGLI AMMINOACIDI PER LA SINTESI DELL'EME

si tratta di una via metabolica particolarmente complessa che porta alla formazione del gruppo prostetico della emoglobina a partire dalla GLICINA e dal SUCCINIL CoA che danno DELTA AMMINOLEVULONATO.

- 8 DELTA AMMINOLEVULONATO condensano formando PORFOBILINOGENO.
- QUATTRO PORFOBILINOGENO condensano formando PREUROPORFIRINOGENO, si tratta di un precursore che già contiene gli anelli pirrolici completi.
- FORMAZIONE DELL'EME dopo una serie di reazioni con integrazione finale di Fe⁺

MALATTIE PORFIRINICHE: sono date da malfunzionamento di enzimi di questa via metabolica, in particolare possiamo citare l'accumulo del PROTOPORFIRINOGENO che reagendo con fotoni diviene fotoattivo e danneggia i tessuti cutanei dando dermatite. Altra malattia di questa categoria provoca l'accumulo di un metabolita che oltre a forme dermatitiche da vita a fluorescenza dei denti e urine di colore rosso.

CATABOLISMO DELL'EME: avviene nel momento in cui sia necessario eliminare l'EME in seguito alla morte di eritrociti, la reazione di catabolizzazione del gruppo in questione avviene in questo modo:

- **INTERVENTO DELLA EME OSSIGENASI:** si tratta di un enzima che utilizza l'OSSIGENO, viene ossidato un gruppo metilenico con rottura della molecola che diviene lineare; si libera in questo modo MONOSSIDO DI CARBONIO eliminato con la ventilazione polmonare e FERRO. Il composto ottenuto è la BILIVERDINA.
- **RIDUZIONE DELLA BILIVERDINA:** avviene grazie all'enzima biliverdina reduttasi, si assiste quindi alla rottura di doppi legami con formazione di BILIRUBINA; si crea un carbonio tetraedrico nel mezzo della molecola rendendo possibile la formazione di legami intramolecolari tra gli atomi di azoto, che si collocano al di sotto del piano della molecola, e i residui di propionato che si collocano superiormente alla molecola stessa, la molecola RISULTA QUINDI RIPIEGATA E INSOLUBILE, viene veicolata dalla ALBUMINA (come gli acidi grassi) nel circolo sanguifero.
- **NEL FEGATO:** dal sangue la bilirubina arriva al fegato dove:
 - **DIVIENE SUBSTRATO DELLA GLUCORONIL BILIRUBINA TRANSFERASI:** si assiste al legame di una molecola di acido glucuronico con la bilirubina, questa si trasforma in BILIRUBINA DIGLUCURONIDE che, per l'inserimento di una molecola così polare, perde il carattere apolare e insolubile precedentemente acquisito.
 - **TRASPORTO ALL'INTESTINO:** a livello intestinale forma il UROBILINOGENO che può essere:
 - **RIASSORBITO** a livello intestinale e quindi attraverso il circolo eliminato con le urine dopo l'ossidazione a bilirubina.
 - **NON RIASSORBITO** e quindi accumulato nella feci come stercobilina.

MONOSSIDO DI CARBONIO: è un derivato della catabolizzazione dell'EME, (ha una funzione simile al monossido di azoto). La eliminazione dell'EME è un processo complesso che comporta la perdita di energia in forma di NADPH e la perdita di due molecole di ACIDO GLUCURONICO. LA BILIRUBINA è un potente antiossidante endogeno, questa può essere OSSIDATA a biliverdina per poi essere ridotta nuovamente, in questo modo si limitano i danni legati alla presenza di radicali liberi dell'ossigeno (il sistema è così efficiente che gli organismi che lo possiedono risultano evolutivamente avvantaggiati).

CREATINA CHINASI si tratta di un enzima tipicamente presente a livello muscolare, viene rilasciato nel sangue in presenza di danno muscolare; la creatina è molto importante per la funzionalità muscolare; la sua sintesi procede in questo modo:

- **SINTESI DI ORNITINA E GUANIDOACETATO:** si tratta di una reazione di trasferimento della parte terminale della catena laterale dalla molecola di arginina ad una molecola di glicina, si ottengono quindi:
 - **ORNITINA** che altro non è che la arginina priva dell'ultimo atomo di carbonio con relativi gruppi amminici.
 - **GUANIDOACETATO** composto caratterizzato dalla presenza di un gruppo imidico legato ad un atomo di azoto.

- **FORMAZIONE DELLA CREATINA:** si tratta di una reazione di metilazione che avviene a spese di una molecola di SAM che diviene SAO con formazione di creatina; la creatina viene quindi fosforilata a spese di ATP ottenendo CREATINA FOSFATO. La CREATINA è una molecola essenziale per il muscolo in quanto può essere facilmente fosforilata e utilizzata come riserva di gruppi fosfato, risulta infatti capace di dare fenomeni di fosforilazione a livello del substrato. Rispetto all'ATP questa molecola:

- È PIÙ FACILMENTE CONSERVABILE.
- IL LIMITE QUANTITATIVO DI CONSERVAZIONE È MOLTO PIÙ ELEVATO.

Derivato della sua catabolizzazione è la creatinina escreta per esempio con il sudore oltre che con le urine.

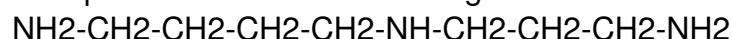
SINTESI DEL GLUCATIONE: si tratta di un tripeptide: gamma glutamil cisteil glicina

- **GLUTAMMATO REAGISCE CON LA CISTEINA** in particolare attraverso il carbossile in posizione gamma.
- **FORMAZIONE DEL GSH:** la glicina si lega alla cisteina mediante normale legame peptidico.

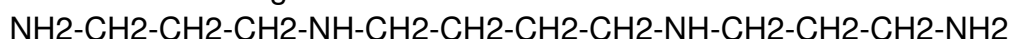
Questo composto presenta un gruppo TIOLICO quindi OSSIDABILE e si presenta in due forme, GSH (ridotto) E GSSG (ossidato); in molti casi per l'azione di agenti ossidanti si creano dei ponti disolfuro che possono portare alla formazione di strutture proteiche aberranti, GLI ENZIMI CHE SI OCCUPANO DELLA RIDUZIONE DI QUESTI PUNTI DISOLFURO sfruttano come coenzima il GSH che si ossida a GSSG.

LE POLIAMMINE: si tratta di composti caratterizzati dalla presenza di più gruppi amminici, derivano fondamentalmente dalla ORNITINA e sono PUTRESCINA, SPERMIDINA E SPERMINA. Si tratta di sostanze ubiquitarie ed essenziali per l'organismo umano. Il processo di sintesi procede in questo modo:

- **FORMAZIONE DELLA PUTRESCINA** la putrescina si ottiene per semplice decarbossilazione della ornitina, questa perde il gruppo carbossilico del gruppo amminico per l'intervento della ORNITINA DECARBOSSILASI, enzima dalla emivita brevissima, PLP dipendente.
- **FORMAZIONE DELLA SPERMIDINA:** la spermidina viene sintetizzata a partire dalla putrescina per trasferimento di un gruppo aminopropile dal SAM decarbossilato; il composto che otteniamo è il seguente:



- **FORMAZIONE DELLA SPERMINA:** si ottiene sfruttando la medesima reazione di formazione della spermidina cioè per trasferimento di un aminopropile. Il composto ottenuto è il seguente:



questi composti sono essenziali per quanto concerne:

1. STIMOLO E CONTROLLO DELLA SINTESI DI RNA E DNA.
2. AGGREGAZIONE PIASTRINICA.
3. LIPOLISI.

IL BILANCIO DELL'AZOTO: si tratta di una misurazione quantitativa del rapporto fra la quantità di azoto proteico ingerito con la dieta e la quantità di azoto escreto in forma di

scarto; in particolare possiamo dire che:

$$\text{BILANCIO AZOTATO} = \text{azoto ingerito} - \text{azoto escreto}$$

In un individuo adulto sano il bilancio dell'azoto è praticamente sempre paritario: ad una data quantità di azoto ingerita con la dieta consegue una altrettanto elevata eliminazione di azoto con le urine o le feci.

BILANCIO DELL'AZOTO POSITIVO: meccanismo che si attiva nell'organismo nel momento in cui la quantità di azoto ingerita è maggiore rispetto alla quantità di azoto escreta, si tratta di un meccanismo normalmente attivo nel momento in cui il corpo sia in una fase di accrescimento o particolare attività:

- gravidanza e allattamento.
- Attività fisica intensa.
- Riparazione di lesioni.
- Accrescimento che richiede la presenza di azoto per la sintesi di nucleotidi.
- Tutti quei processi che richiedono azoto organico.

BILANCIO DELL'AZOTO NEGATIVO: situazione che si realizza nel caso in cui i livelli di azoto secreti siano maggiori rispetto ai livelli di azoto assunti con la dieta; questo tipo di meccanismo si instaura nel momento in cui:

- il nostro corpo prelevi amminoacidi a livello muscolare per la sintesi di glicosio tramite deaminazione, fenomeno che si realizza tipicamente in caso di digiuno.

METABOLISMO DELLE BASI AZOTATE

Le vie metaboliche in questione vengono attivate generalmente nel momento in cui una cellula necessita di riprodursi, in particolare quindi durante la gravidanza e la crescita ma anche in numerose altre situazioni; inoltre la via metabolica di sintesi dei nucleotidi è una via metabolica di interesse oncologico in quanto riuscire a bloccare tale via metabolica significa inibire la riproduzione cellulare.

I nucleotidi sono delle molecole fondamentali per molteplici motivi, in particolare:

- sono precursori degli acidi nucleici, come già sottolineato.
- Sono fonte essenziale di energia per la cellula.
- Sono cofattori essenziali per numerose reazioni.

Si riconoscono due possibili vie metaboliche per la produzione di nucleotidi:

SINTESI DE NOVO: si tratta di una sintesi completa dell'anello purinico e pirimidinico a partire da amminoacidi.

VIE DI SALVATAGGIO: si tratta di vie tramite le quali si riciclano le componenti di cellule morte in particolare per apoptosi: le componenti recuperate vengono smantellate e riciclate, la cellula inoltre può riciclare i suoi stessi acidi nucleici. Queste vie metaboliche si attivano anche nel caso in cui vengano assunte basi azotate con la dieta.

Problemi nella catabolizzazione di basi azotate si possono estrinsecare nella gotta per esempio: si tratta di una forma di accumulo di acido urico che influisce sull'omeostasi dei fluidi corporei.

SINTESI DE NOVO DELLE BASI PURINICHE: per questa via metabolica di sintesi sono estremamente importanti:

- GLICINA.
- ASPARTATO.
- GLUTAMMINA.
- FORMIL TETRAIDROFOLATO.
- ANIDRIDE CARBONICA.

Assemblati come da figura a lato.

La sintesi della base azotata comincia comunque a partire dal RIBOSIO 5P che di fatto è la base della costruzione del nucleotide (il ribosio5P deriva dal glucosio tramite la via dei pentosoP):

- **FOSFORILAZIONE DEL RIBOSIO 5P**
fosforilazione eseguita da una apposita chinasi che sfrutta una molecola di ATP che viene convertita in AMP con formazione di 5FOSFORIBOSIL 1 PIROFOSFATO (PRPP); si tratta di un composto estremamente instabile, risulta stabile grazie all'enzima che ospita la reazione.
- **FORMAZIONE DI FOSFORIBOSILAMMINA** si tratta di una reazione di transaminazione catalizzata dalla amminotrasferasi che genera:
 - **FORMAZIONE DI LEGAME N GLICOSIDICO** con inserimento in posizione 1 di

un legame amminico.

- IDROLISI DEL PIROFOSFATO in posizione 1.
- **CONDENSAZIONE DELLA GLICINA:** una molecola di glicina reagisce con la fosforibosilammia formando in legame ammidico con il gruppo amminico appena inserito, si forma in questo modo GLICINAMMIDE RIBONUCLEOTIDE; la reazione richiede energia e si assiste alla idrolisi di una molecola di ATP in ADP; l'enzima che catalizza questo processo è la AMMIDOFOSFORIBOSIL TRASFERASI.
- **FORMAZIONE DI FORMILGLICIL AMMIDE** si assiste ad una reazione di trasferimento di un gruppo formile dall'N¹⁰ formil tetraidrofolato che diviene tetraidrofolato; si forma la FORMILGLICILAMMIDE; la reazione viene catalizzata dalla FORMILTRASFERASI.
- **AMMINAZIONE** con intervento di nuovo di glutamina che provoca la formazione di FORMIL GLICIL AMMIDINA RIBONUCLEOTIDE, con eliminazione di una molecola di acqua viene eliminato il carbonile formando un legame imidico; l'enzima che catalizza questa reazione è la fosforibosilformilglicinamidina sintasi.
- **CICLIZZAZIONE DELLA MOLECOLA:** si assiste alla formazione del 5AMMINO IMIDAZOLO RIBONUCLEOTIDE con uscita di una molecola di acqua e idrolisi di una molecola di ATP; la reazione è catalizzata dalla amminoimidazolo sintasi.
- **CARBOSSILAZIONE** biotina indipendente, si inserisce un atomo di carbonio (ricavato da un bicarbonato) a livello della posizione 4 dell'anello neoformato, in particolare si forma il 5 AMMINO 4 CARBOSSI AMMINOIMIDAZOLO RIBONUCLEOTIDE.
- **AMMINAZIONE** mediata da **CONDENSAZIONE DELL'ASPARTATO:** si assiste a all'intervento di un enzima che utilizza l'aspartato con conseguente formazione di una amide fra il gruppo amminico dell'aspartato e il gruppo carbossilico appena inserito; si forma N SUCCINIL 5 AMMINO 4 CARBOSSIAMMIDE IMIDAZOLO RIBONUCLEOTIDE. La reazione richiede l'idrolisi di una molecola di ATP in ADP.
- **USCITA DI FUMARATO** dalla molecola: si assiste quindi alla formazione di 5 AMMINO 4 CARBOSSIAMMIDE IMIDAZOLO RIBONUCLEOTIDE, la reazione è catalizzata dalla adenilato succinasi.
- **INSERIMENTO DI UN FORMILE** sul gruppo amminico in posizione 2, la reazione è formil tetraidrofolato dipendente.
- **CHIUSURA DELL'ANELLO** che non comporta, in questo caso, una spesa di ATP con formazione di INOSINA MONOFOSFATO, si tratta di un nucleotide alternativo, la base ottenuta si chiama ipoxantina. Si tratta di un intermedio, non si trova a livello di RNA o DNA.

Da questa possiamo ottenere attraverso due vie metaboliche distinte:

- AMP adenilato.
- GMP guanilato.

FORMAZIONE DELL'AMP:

dobbiamo trasformare l'inosinato in adenilato:

- **CONDENSAZIONE DI ASPARTATO** con formazione di ADENIN SUCCINATO: si tratta di una molecola che porta legato a livello del carbonio che portava un gruppo

carbonilico una molecola di aspartato il tutto con la spesa di una molecola di GTP che idrolizza a GMP; la reazione è catalizzata dalla adenin succinato sintetasi.

- IDROLISI DELL'ADENIN SUCCINATO che idrolizza a fumarato e adenosina con l'ingresso di una molecola di acqua e formazione di ADENILATO.

FORMAZIONE DEL GMP:

dobbiamo trasformare la inosina in guanosina, devo cioè ossidare il carbonio in posizione 2 trasformandolo in un carbonile.

- OSSIDAZIONE: l'enzima sfrutta l'acqua per ossidare la molecola di inosina, in particolare la ossidazione è NAD⁺ dipendente e l'enzima si chiama IMP DEIDROGENASI, il composto che si forma è lo XANTILATO costituito dalla base azotata xantina.
- TRASFORMAZIONE DELLO XANTILATO IN GUANILATO, la reazione procede quindi con l'inserimento di un gruppo amminico che viene ancora una volta ceduto dalla glutammina che diviene glutammato (con impegno di una molecola di acqua), la reazione prevede anche l'utilizzo di una molecola di ATP che viene idrolizzata ad AMP e pirofosfat.

REGOLAZIONE DEL PROCESSO DI SINTESI:

la sintesi di nucleotidi ovviamente è subordinata alle necessità riproduttive della cellula, la via metabolica in ogni caso presenta una regolazione allosterico-enzimatica:

- RIBOSIO 5P → PRPP viene inibita da ADP, in caso di carenza di energia la reazione viene quindi bloccata.
- PRPP → FOSFOINOSIL AMMINA l'enzima ammidofosforibosil transferasi presenta inibizione allosterica data da AMP, GMP E IMP si tratta dei prodotti finali della via metabolica, sono indici polivalenti: indicano sia la mancanza di energia che la completata sintesi delle molecole della via metabolica.
- IMP → formazione delle due basi azotate:
 - → ADENINSUCCINATO con idrolisi di una molecola di GTP ad GMP. La adenin succinato sintasi è inibita da AMP che è il prodotto finale della reazione.
 - → XANTINA con idrolisi di ATP a ADP. La reazione viene bloccata da GMP che è il prodotto finale della reazione.

Grazie all'equilibrio fra GTP ed ATP i due processi sono fra loro in equilibrio.

SINTESI DE NOVO DELLE BASI PIRIMIDINICHE: si tratta di una via metabolica più breve della precedente e CHE NON RICHIEDE LA PRESENZA DI FOSFO RIBOSIL PIROFOSFATO inizialmente; tale via metabolica si svolge parzialmente a livello citosolico e parzialmente a livello mitocondriale e richiede la presenza essenzialmente di:

1. carbamil fosfato.
2. Aspartato

come emerge dall'immagine a lato.

La via metabolica di sintesi si svolge in questo modo:

- SINTESI DEL CARBAMIL FOSFATO: si tratta di un precursore essenziale che viene in questo caso sintetizzato a livello del citosol (mentre nel ciclo dell'urea viene sintetizzato a livello mitocondriale) da una carbamil fosfato sintasi II o citosolica; questo enzima, al contrario della sua isoforma mitocondriale, è insensibile alla

presenza di Nacetil glutammato (non è infatti legato alla sua funzione).

- FORMAZIONE DI CARBAMIL ASPARTATO: reazione di condensazione fra carbamil fosfato e aspartato con formazione di N carbamil aspartato e uscita di una molecola di fosfato inorganico.
- CICLIZZAZIONE della molecola, con formazione di DIIDROOROTATO ciclo polisostituito.

Gli enzimi che catalizzano queste prime tre reazioni sono:

1. carbamil fosfato sintasi.
2. Carbamil aspartato transcarbamilasi.
3. Diidroratasi.

Nei mammiferi sono contenute in un unico gruppo enzimatico che lavora a livello citosolico.

- OSSIDAZIONE DEL DIIDROOROTATO che viene ossidato da un enzima NAD⁺ dipendente con formazione di orotato; è importante sottolineare il fatto che l'enzima deidrogenasico si colloca sulla membrana interna del mitocondrio ma il suo sito attivo si affaccia a livello citosolico.
- FORMAZIONE DI OROTIDILATO: associazione dell'orotato con una molecola di PRPP.
- DECARBOSSILAZIONE DEL OROTIDILATO con formazione di URIDILATO o UMP, l'enzima che catalizza questa reazione è la OROTIDIN 5P DECARBOSSILASI

FORMAZIONE DELLA UTP: si assiste all'aggiunta di un pirofosfato con conseguente idrolisi di due molecole di ATP in ADP.

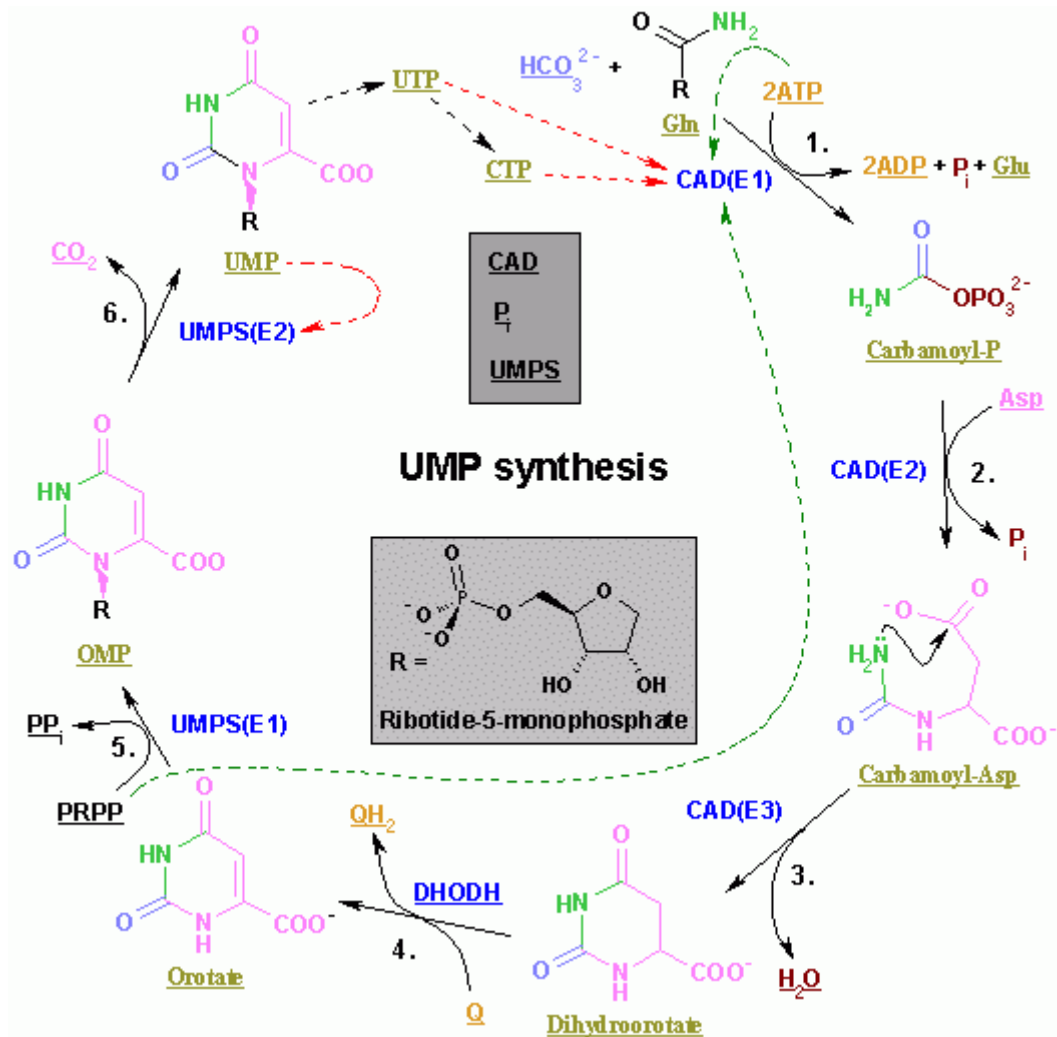
FORMAZIONE DELLA CITOSINA TRIFOSFATO: avviene direttamente senza passare per l'omologo defosforilato: l'UTP viene trasformato in CTP grazie alla sostituzione di un carbonile con un gruppo amminico donato da una molecola di GLUTAMMINA che diviene GLUTAMMATO (con consumo di una molecola di acqua).

TAPPE DI REGOLAZIONE:

ASPARTATO + CARBAMIL FOSFATO → CARBAMIL ASPARTATO questa tappa è catalizzata dall'enzima ASPARTICO TRANS CARBAMILASI controllato allostericamente in senso negativo da CTP, prodotto finale della reazione, questo non avviene per l'UDP in quanto questo viene utilizzato anche per la produzione della dTMP essenziale per la formazione del DNA. L'enzima inoltre è stimolato allostericamente in senso positivo dall'ATP.

OMP → UMP, questa tappa è regolata dalla orotidin 5P decarbossilasi, l'enzima è inibito allostericamente dall'OMP stesso.

UTP → CTP la reazione viene inibita allostericamente dal CTP stesso.



I processi di sintesi dei nucleotidi fino ad ora descritti portano alla formazione di: NUCLEOTIDI PURINICI in forma di GMP e AMP, si tratta di due nucleotidi mono fosfato, necessitano quindi, per divenire attivi, della aggiunta di un pirofosfato, questo avviene attraverso due vie distinte a seconda del nucleotide:

per la trasformazione dell'AMP in ATP le reazioni necessarie sono le seguenti:

- $\text{AMP} + \text{ATP} \rightarrow 2\text{ADP}$
questa reazione avviene grazie all'enzima ADENILATO CHINASI.
- ADP può essere fosforilato attraverso due metodi diversi:
 - FOSFORILAZIONE A LIVELLO DEL SUBSTRATO (come per esempio avviene con la creatina fosfato nel muscolo; la creatina deriva dalla arginina e dalla glicina con metilazione da parte dell'agente metilante SAM che diventa SAO).
 - FOSFORILAZIONE OSSIDATIVA in particolare associata alla catena respiratoria.

Per la GMP necessitiamo invece di ATP che agisce in una reazione di fosforilazione diretta:

- $\text{GMP} + \text{ATP} \rightarrow \text{GDP} + \text{ADP}$
l'enzima che catalizza questa reazione è la NUCLEOSIDE MONOFOSFATO

CHINASI che può trasferire il fosfato e l'energia di legame dall'ATP ad un qualsiasi nucleotide; possiamo quindi schematizzare la reazione complessiva come: $NMP + ATP \rightarrow NDP + ADP$.

- $NDPa + NTPd \rightarrow NTPa + NDPd$

dove a sta per accettore e d per donatore.

si tratta di una reazione catalizzata dalla NUCLEOTIDE DIFOSFATO CHINASI, questo enzima, come il precedente, è una chinasi ad ampia specificità, è in grado cioè di catalizzare tutte le reazioni di questo tipo.

NUCLEOTIDI PIRIMIDINICI $\rightarrow$ UTP e CTP vengono sintetizzati direttamente nella forma trifosforilata

questi nucleotidi possono essere utilizzati dalle RNA e DNA polimerasi per produrre catene di acidi nucleici.

SINTESI DELL'RNA: la cellula necessita di ribonucleotidi.

SINTESI DEL DNA: la cellula necessita di deossiribonucleotidi.

La differenza fra le due molecole è minima come noto, tuttavia è necessario avere a disposizione entrambe le molecole e avere quindi la possibilità di interconvertirle di modo da poter soddisfare tutte le necessità cellulari, in generale vale la reazione:



questo vale per tutti nucleotidi, l'enzima è la DIFOSFO RIBONUCLEOTIDE REDUTTASI e agisce unicamente su nucleotidi difosfato; in particolare gli equivalenti redox vengono sfruttati per far uscire l'ossigeno dal gruppo alcolico e trasformarlo in acqua; in realtà la reazione è più complessa:

- $NDP \rightarrow dNDP$

con uscita di una molecola di acqua, ma la reazione in questo caso ricava gli equivalenti redox da due residui tiolici situati sull'enzima difosfonucleotide reduttasi che formano quindi un ponte solfuro.

- $\text{R-S-S-R} \rightarrow \text{R-SH} + \text{R-SH}$, è necessario, per poter eseguire una seconda volta la reazione di riduzione recuperare il sito attivo dell'enzima nella sua forma ridotta, questa reazione può essere ottenuta in due modi diversi, in particolare:
 - sfruttando TIREDOSSINA e TIREDOSSINA REDUTTASI:
 - TIREDOSSINA: si tratta di un enzima che presenta due gruppi tiolici che vengono convertiti in un ponte solfuro donando in questo modo gli equivalenti redox alla difosforibonucleotide reduttasi che torna nella sua forma ridotta.
 - TIREDOSSINA REDUTTASI: interviene un altro enzima questa volta FADH2 dipendente: questo trasferisce gli equivalenti redox dal FADH2 alla TIREDOSSINA riducendola.
 - Interviene infine una FAD REDUTTASI, si tratta di una REDUTTASI NADPH DIPENDENTE che forma di fatto NADP⁺ per recuperare FADH2.
 - Sfruttando GLUTOREDOXINA e GLUTOREDOXINA REDUTTASI:
 - LA GLUTOREDOXINA è, anche in questo caso, un enzima riducente caratterizzato dalla presenza di due gruppi tiolici che donando i propri equivalenti ossidano formando un ponte disolfuro.

- **GLUTOREDOXINA REDUTTASI** è una ulteriore reduttasi che sfrutta in questo caso il **GLUTATIONE** come donatore di equivalenti redox: il glutatione o gamma glutamilcisteilglicina passa dalla sua forma ridotta (o GSH) alla sua forma ossidata (o GSSG) provocando conseguentemente la riduzione dei gruppi tiolici della glutoredoxina.
- Il **GLUTATIONE** è un composto molto presente a livello cellulare, nella sua forma ossidata questo composto diviene substrato della **GLUTATIONE REDUTTASI** che riduce il glutatione in forma GSSG in glutatione in forma di GSH a spese di una molecola di NADPH.
Difetti legati alla produzione di NADPH sono strettamente legati all'accumulo di GSSG con conseguente indebolimento cellulare legato strettamente al ruolo di agente antiossidante del glutatione stesso.

La **RIBONUCLEOSIDE REDUTTASI**, l'enzima che trasforma nucleotidi in deossiribonucleotidi, è un enzima estremamente regolato:

- dATP da regolazione allosterica negativa in quanto è indice della presenza del prodotto finale nel citoplasma.
- ATP da regolazione allosterica positiva in quanto è indice di presenza di prodotto non ancora formato.

È inoltre importante sottolineare il fatto che la presenza in eccesso di un deossiribonucleotide non inibisce ma stimola l'enzima in modo specifico, viene cioè stimolata la sintesi di deossiribonucleotidi diversi da quello presente in eccesso.

Il controllo di questo enzima deve essere tale da garantire che i prodotti finali siano sempre in equilibrio estremamente preciso con le necessità cellulari.

STRESS OSSIDATIVO: si tratta del fenomeno che sta alla base del processo di invecchiamento cellulare, in particolare questo fenomeno può manifestarsi a livello nervoso per esempio come **ALZHEIMER** (11% popolazione mondiale nel 2020), la conoscenza dei meccanismi di ossidoriduzione è estremamente importante per la prevenzione dello stress ossidativo.

Formazione della TIMINA TRIFOSFATO:

La sintesi di questo nucleotide è fondamentale per la formazione del DNA; per la sua sintesi il nostro organismo deve sfruttare la presenza di una molecola di dUDP, in particolare la via metabolica procede in questo modo:

- **DEFOSFORILAZIONE DELLA dUDP in dUMP**, questa reazione, apparentemente inutilmente dispendiosa, è giustificata dal fatto che l'enzima che catalizza la reazione di formazione della timina non riconosce il nucleotide difosfato, ma unicamente il nucleotide monofosfato.
- **METILAZIONE DELLA dUMP:** l'enzima è la **TIMIDILATO SINTASI** che trasforma la dUMP in dTMP. La metilazione avviene a spese dell'**N5N10 metilene tetraidrofolato** (essenziale per la sintesi di questa base pirimidinica).

Il tetraidrofolato viene trasformato in diidrofolato, non in tetraidrofolato, subisce cioè un processo di ossidazione con perdita di due molecole di idrogeno: una molecola di idrogeno viene perduta dal tetraidrofolato per formare il gruppo metilico dal gruppo metilenico trasferito, un altro idrogeno viene poi perduto per consentire la rottura del legame tioetereo

con l'enzima che viene idrolizzato.

Il tetraidrofolato viene recuperato poi tramite riduzione NADPH dipendente (la reazione è la medesima che porta alla formazione del tetraidrofolato dall'acido folico assunto con la dieta).

INIBITORI DELLA SINTESI DELLA TIMINA: si tratta di molecole che danno origine spesso a farmaci essenziali per la cura di numerose patologie oncologiche e non solo, la inibizione di questo processo di sintesi è infatti importante per limitare la produzione cellulare di DNA; gli inibitori del processo di sintesi delle molecole di dTMP sono classificabili in due grandi categorie:

INIBITORI DELLA DIIDROFOLATO REDUTTASI sono farmaci molto utilizzati:

- METOTREXATO.
- AMMINOPTERINA.
- TRIMETOPRIM.

I primi due si legano alla reduttasi umana e mammifera, l'ultimo agisce in particolare sulla reduttasi batterica, in generale possiamo dire che questi composti reagiscono con la diidrofolato reduttasi bloccandola; il trimetoprim agisce poi in modo estremamente efficace: risulta essere 100000 volte più efficace delle altre due molecole e viene utilizzato come **BATTERIOSTATICO** che in combinazione con antibiotici viene utilizzato in numerose terapie antibatteriche.

INIBITORI DELLA TIMIDILATO SINTETASI:

- **5 FLUORO URACILE** è una base alternativa che presenta al posto del metile un atomo di fluoro: viene utilizzato come un **PROFARMACO**, non è attivo nella somministrazione, ma nella cellula il 5fluoro uracile diviene substrato di un enzima che utilizza il PRPP che per idrolisi del pirofosfato forma **FLUOROURIDINA** che viene fosforilata a **FLUORO URIDINA TRIFOSFATO** che con una serie di altre trasformazioni viene convertita nel composto attivo che è il 5fluoro deossi ribonucleotide, sostanza capace di bloccare la sintesi della timina monofosfato.

Una base esogena può quindi essere trasformata attraverso il medesimo processo direttamente in un nucleotide: si tratta della via di salvataggio delle basi azotate.

VIA DI SALVATAGGIO DELLE PURINE E DELLE PIRIMIDINE:

si riconoscono a livello metabolico due possibili vie di recupero per le basi azotate, una, la prima, valida unicamente per le basi puriniche come adenina guanina e ipoxantina, l'altra, la seconda, valida per tutte le basi azotate:

RECUPERO DIRETTO DELLE BASI:

- adenina → AMP si tratta di una reazione catalizzata dalla **ADENINA FOSFORIBOSIL TRASFERASI** che sfruttando una molecola di PRPP con idrolisi di un pirofosfato porta alla formazione dell'AMP.
- Guanina / ipoxantina → GMP / IMP la reazione è catalizzata da un unico enzima detto **GUANINA/IPOXANTINA FOSFORIBOSIL TRASFERASI** che sfrutta PRPP con uscita di una molecola di pirofosfato; nel caso in cui questo enzima sia difettoso abbiamo un surplus della PRPP che viene utilizzato nella sintesi de novo dei nucleotidi con conseguente:
 - **ACCUMULO DI NUCLEOTIDI.**

- ECCESSO CATABOLICO con formazione di ACIDO URICO.
- NON UTILIZZO DELLE BASI AZOTATE RECUPERATE E RECUPERABILI.

Questo tipo di disfunzione a livello nervoso, dove avviene sintesi de novo in maniera minima, porta a malattie nervose molto gravi che si manifestano fin dalla tenera età, in particolare possiamo dire che disfunzioni di questo enzima possono essere:

- PARZIALI ed estrinsecarsi in forme di GOTTA.
- TOTALE ed estrinsecarsi in forma di SINDROME DI LESCH NYHAN.

RECUPERO DI NUCLEOTIDI INGERITI CON LA DIETA:

gli acidi nucleici assunti con la dieta vengono digeriti in diverse fasi:

1. vengono attaccati da delle nucleasi che provocano idrolisi della catena polinucleotidica con formazione dei singoli NUCLEOTIDI.
2. Attacco di nucleotidasi a livello intestinale provoca la idrolisi di una molecola di pirofosfato con formazione di NUCLEOSIDI che possono essere assorbiti a livello intestinale.
3. A questo punto le molecole nucleosidiche vengono idrolizzate da nucleosidasi che portano alla formazione delle BASI LIBERE E RIBOSIO.

CATABOLISMO DELLE BASI AZOTATE: le basi puriniche e pirimidiniche subiscono due destini catabolici differenti, in particolare:

CATABOLISMO DEI NUCLEOTIDI PURINICI: nell'uomo il prodotto finale del catabolismo di questi nucleotidi è L'ACIDO URICO. La via di catabolizzazione procede in questo modo:

- defosforilazione di AMP e GMP in adenosina e guanosina: si tratta di una semplice reazione di defosforilazione delle molecole nucleotidiche funzionale ad ottenere il solo nucleoside (base+ribosio); l'enzima che catalizza tale reazione è la 5' NUCLEOTIDASI, si tratta di un enzima aspecifico.
- A questo punto le due vie cataboliche di guanosina e adenosina si dividono, si riuniranno in seguito:
 - ADENOSINA:
 - TRASFORMAZIONE DELLA ADENOSINA IN INOSINA: si tratta di una semplice reazione di deaminazione catalizzata dalla ADENOSINA DEAMINASI e che porta alla formazione della INOSINA.
 - TRASFORMAZIONE DELLA INOSINA IN IPOXANTINA: si assiste al distacco del ribosio dalla base; la reazione è catalizzata dalla PURIN NUCLEOTIDE FOSFORILASI, enzima aspecifico, che compie una azione di FOSFOROLISI con rottura del legame base-ribosio.
 - GUANOSINA: la guanosina viene semplicemente fosforolisata a guanina e ribosio fosfato sempre dalla PURIN NUCLEOTIDE FOSFORILASI.
- TRASFORMAZIONE DI IPOXANTINA E GUANOSINA IN XANTINA: le due vie vengono a questo punto riunite.
in particolare:
 - LA REAZIONE IPOXANTINA → XANTINA la reazione è catalizzata dalla XANTINA OSSIDASI, si tratta di un enzima essenziale per il catabolismo della base che produce però con la reazione di ossidazione una molecola di

perossido di idrogeno.

- LA REAZIONE GUANINA → XANTINA è invece catalizzata da una semplice deaminasi.
- OSSIDAZIONE DELLA XANTINA AD ACIDO URICO, in particolare avviene sempre grazie alla azione catalitica della XANTINA OSSIDASI.

La XANTINA OSSIDASI è quindi un enzima fondamentale sia nella reazione di ossidazione della ipoxantina in xantina sia nella ossidazione della xantina ad acido urico, si tratta di un enzima dimerico che agisce in questo modo:

- RIMOZIONE DI UN ELETTRONE DAL SUBSTRATO con conseguente formazione di un radicale libero.
- INSERIMENTO DI UN OSSIDRILE a livello del substrato molecolare (ossidazione).
- TRASFERIMENTO DELL'ELETTRONE su una molecola di ossigeno CON FORMAZIONE DI ANIONE SUPEROSSIDO.
- INTERVENTO DELLA SUPEROSSIDO DISMUTASI che trasforma l'anione superossido in acqua ossigenata.
- SMALTIMENTO DEL PEROSSIDO DI IDROGENO grazie alla catalasi principalmente.

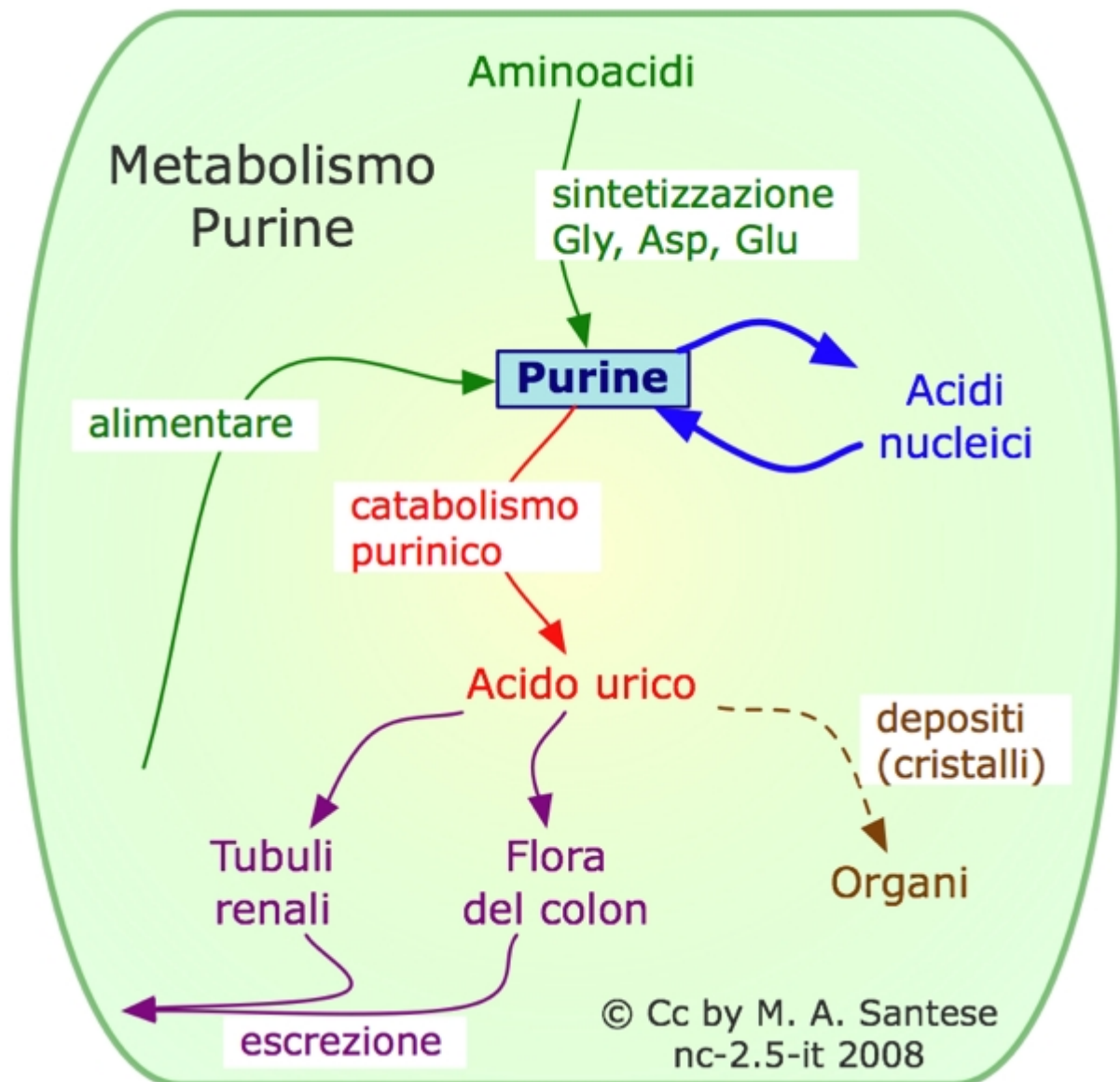
L'acido urico o URATO nella sua forma anionica presenta una scarsissima solubilità e il suo accumulo a livello tissutale e a livello renale può essere alla base di patologie come GOTTA e CALCOLI RENALI. Una incrementata concentrazione di acido urico può essere dovuta a problemi legati sia alla eccessiva formazione di acido urico stesso sia a problemi relativi al suo smaltimento. Alla base di questi problemi possono essere quindi:

1. eccessiva introduzione di sostanze ricche di acidi nucleici, anche se di fatto difficilmente si tratta della causa primaria di questo tipo di problemi.
2. Iperattività della XANTINA OSSIDASI che non viene bloccata a catabolizzazione avvenuta.
3. Diminuito o annullato effetto di feedback da parte di IMP, AMP E GMP sulla ammidofosforibosil trasferasi.
4. Diminuzione della efficienza di ADENINA E GUANINA/IPOXANTINA FOSFORIBOSIL TRASFERASI (alla mancanza di recupero delle basi consegue ovviamente stimolazione alla loro catabolizzazione).

Un medicinale tipicamente utilizzato per impedire la formazione di questo tipo di fenomeni è l'allopurinolo, si tratta di un analogo della ipoxantina che quindi diviene substrato della RIBONUCLEOTIDE FOSFORILASI con conseguente SEQUESTRO DEL PRPP ALLA SINTESI DE NOVO DEI NUCLEOTIDI PURINICI e conseguente inibizione del catabolismo delle basi.

SINDROME DI LESCH NYHAN: si tratta di una sindrome di natura genetica (Xlinked) che genera un difetto genetico legato alla guanina/ipoxantina fosforibosil trasferasi con conseguenti:

- sindrome gottosa grave.
- Ritardo mentale.
- Aggressività patologica.



CATABOLISMO DEI NUCLEOTIDI PIRIMIDINICI: si tratta di una via catabolica decisamente più breve, anzitutto abbiamo una azione preliminare di questo tipo:

- 5' nucleotidasi produce nucleosidi a partire dai nucleotidi monofosfato.
- Nucleosidasi produce basi azotate e ribosio fosfato a partire da nucleosidi.

La citosina viene quindi convertita in uracile da una apposita deaminasi.

A questo punto la reazione di catabolizzazione, che porterà di fatto alla formazione di molecole piccole e amminoacidi, procede in questo modo:

- **RIDUZIONE DELLA BASE AZOTATA:** avviene grazie all'enzima DIIDROURACILE DEIDROGENASI che a seconda della collocazione del processo può essere NAD⁺ o NADP⁺ dipendente; l'enzima catalizza sia la diidrogenazione dell'uracile che della timina trasformandole in anelli diidrogenati e più suscettibili a reazioni di idrolisi.
- **APERTURA IDROLITICA DELLA MOLECOLA:** si assiste alla apertura idrolitica:
 - DELL' URACILE che da ACIDO N CARBAMIL PROPIONICO → che per ulteriore idrolisi viene convertito in:

- AMMONIACA.
- ANIDRIDE CARBONICA.
- BETA ALANINA.
- DELLA TIMINA che da ACIDO N CARBAMIL ISOBUTIRRICO → che per ulteriore idrolisi viene ridotto a:
 - AMMONIACA.
 - ANIDRIDE CARBONICA.
 - BETA AMMINO ISOBUTIRRATO.

È importante sottolineare il fatto che questi cataboliti sono di natura SOLUBILE, per questo motivo al catabolismo dei nucleotidi pirimidinici non è associata nessuna sindrome simile alla gotta.

ORMONI E RECETTORI

I primi studi relativi alla biosegnalazione vennero eseguiti a livello cellulare batterico, in particolare si cercava di capire come fosse possibile la percezione cellulare batterica rispetto all'ambiente circostante: i batteri, infatti, che sono mobili molto spesso, in natura possono agire allo scopo di raggiungere luoghi più idonei alla loro sopravvivenza; tutto questo è possibile unicamente ammettendo l'esistenza di sensori che possono individuare fonti di sostanze nutritive e innescare dei sistemi intracellulari di movimento. AFFINCHÉ UN ORGANISMO PLURICELLULARE operi in maniera coordinata e corretta CI DEVONO ESSERE DEI SISTEMI DI COMUNICAZIONE INTRACELLULARE. Per quanto riguarda l'uomo ma anche tutti gli organismi superiori è importante sottolineare che:

- il numero di:
 - SEGNALI
 - REAZIONI ai segnali.è enorme.
- Il sistema di TRASDUZIONE DEL SEGNALE risulta essere se non unico molto simile fra diverse cellule, i segnali cioè procedono e si propagano attraverso meccanismi intracellulari e molecolari simili nei quali le componenti chimiche reagiscono fra loro dando reazioni diverse; in ogni caso l'interazione che viene a crearsi è:
 - SPECIFICA.
 - Basata sulla capacità di molecole e macromolecole di riconoscere in modo specifico il recettore o il messaggero in questione attraverso INTERAZIONI DI NATURA DEBOLE.

Quando si parla di ormoni la SPECIFICITÀ è elevatissima, il livello di concentrazione ormonale nel sangue è bassissimo, il minimo indispensabile (l'INSULINA per esempio viene secreta in quantità minime); la funzionalità è garantita dal fatto che si instaura una relazione ULTRASPECIFICA fra ORMONE E RECETTORE al punto che queste due componenti risultano in egual modo fondamentali per il corretto funzionamento del sistema di biosegnalazione.

I RECETTORI ORMONALI:

i recettori ormonali sono generalmente delle glicoproteine dotate di attività catalitica e caratterizzate da una affinità per il loro ormone attivatore estremamente alta, sono sensibili a concentrazioni ematiche di ormoni anche dell'ordine di 10^{-9} o alla 10^{-12} .

I recettori ormonali sono classificabili sulla base della loro collocazione intracellulare in:

- RECETTORI DI MEMBRANA: rappresentano la maggior parte dei recettori ormonali, in generale possiamo dire che presentano due domini differenti:
 - EXTRACELLULARE: sito di legame con gli ormoni.
 - INTRACELLULARE: che genera il sistema di trasduzione intracellulare del segnale.
- RECETTORI CITOPLASMATICI.
- RECETTORI MITOCONDRIALI.

- **RECETTORI NUCLEARI.**

Questi ultimi tre necessitano di un ormone di natura steroidea generalmente dotato di un carrier di membrana per penetrare a livello cellulare ed agire sul loro specifico recettore; in ogni caso un filtro a livello della membrana è presente.

Qualsiasi sia la categoria cui appartiene l'ormone è il PRIMO MESSAGGERO chimico, si occupa di portare uno specifico segnale a livello cellulare; all'interno, in seguito alla relazione che viene ad instaurarsi con il recettore, si forma il SECONDO MESSAGGERO.

Per quanto concerne la natura della azione ormonale è necessario sottolineare che per un ormone o un gruppo di ormoni si possono definire:

- **AFFINITÀ** fra recettore e ormone, questa può essere garantita dalla **COOPERATIVITÀ** in generale si tratta di una proprietà che si osserva nella interazione fra un ligando e una macromolecola (= cooperatività ossigeno-emoglobina); per quanto concerne il complesso ormone-recettore la cooperatività è estremamente utile in quanto garantisce un meccanismo di regolazione della affinità:
 - **BASSE CONCENTRAZIONI DI SUBSTRATO:** l'attività della molecola recettoriale è bassa.
 - **SUPERATA UNA CERTA SOGLIA DI CONCENTRAZIONE** l'incremento di operatività risulta considerevole.

Si riconoscono quindi due possibilità per esempio per l'insulina: se il livello di secrezione È **SUBLIMINALE** (cioè al di sotto di una soglia minima) il meccanismo non funziona, se invece il livello di secrezione supera la soglia in questione la risposta cellulare è molto forte; il recettore per l'insulina inoltre è caratterizzato dalla capacità di dare un fenomeno di cooperatività negativa.

- **AMPLIFICAZIONE DEL SEGNALE:** si tratta del risultato di una serie di rapporti fra messaggeri e relazioni con substrati cellulari che si scatenano con la attivazione della via intracellulare metabolica: attraverso questi passaggi è possibile passare dalla presenza di un solo primo messaggero (ormone) alla presenza di migliaia di messaggeri intracellulari.
- **DESENSIBILIZZAZIONE:** si tratta di un meccanismo che porta alla perdita o alla riduzione della risposta cellulare al primo messaggero (esempio evidente: l'interazione dei fotoni con la retina avviene con questo meccanismo, in caso di passaggio da un ambiente luminoso ad uno privo di luce si assiste a desensibilizzazione dei recettori); questo meccanismo può essere generato a livello tissutale per esempio dalla **ELIMINAZIONE DI RECETTORI DI MEMBRANA O DI CARRIER** ma anche grazie alla azione di un enzima che elimini il messaggero ormonale (catecolo metil transferasi elimina l'azione terapeutica del DOPA trasformandolo in metilDOPA).
- **INTEGRAZIONE:** i vari segnali si integrano per dare una risposta che può essere modulata in modi molto diversi e con maggiore precisione; basta pensare a due ormoni:
 - come **ADRENALINA** e **GLUCAGONE**, entrambi hanno una funzione iperglicemica e si rafforzano reciprocamente nella azione.

- Come SOMATOSTATINA e ADRENALINA sono ormoni antagonisti e come tali si limitano vicendevolmente nella loro azione.

Riconosciamo in generale a livello metabolico un numero limitato di RECETTORI DI MEMBRANA classificabili in tre grandi superfamiglie:

1. RECETTORI DI MEMBRANA A SERPENTINA o A 7 SEGMENTI: sono privi di azione catalitica diretta e necessitano di un messaggero intracellulare secondario per agire.
2. RECETTORI A STRUTTURA OLIGOMERICA: sono numerosi e nella stragrande maggioranza dei casi rientrano nella categoria dei recettori nervosi; molti sono stati citati nel metabolismo degli amminoacidi.
3. RECETTORI AD ATTIVITÀ CATALITICA O ENZIMATICI: si tratta di recettori dotati di capacità enzimatica e che svolgono quindi una azione diretta a livello cellulare.

RECETTORI OLIGOMERICI:

RECETTORE DELLA ACETILCOLINA: si tratta di un canale ionico che viene attivato con generazione di un flusso di ioni che provoca una variazione del potenziale di membrana assonico con conseguente trasmissione dello stimolo.

RECETTORI A SERPENTINA:

Un tipico esempio di recettore a serpentina è sicuramente quello dei recettori adrenergici: l'adrenalina presenta cinque tipologie di recettori diversi detti alfa1 e 2, beta 1, 2 e 3 con funzionalità diversa:

- IL RECETTORE BETA1 DELL'ADRENALINA molto simile al recettore del glucagone e di altri ormoni:
 1. PRESENTA 7 ELICHE ALFA TRANSMEMBRANA (come tutti i recettori appartenenti a questa categoria).
 2. UN DOMINIO INTRACELLULARE consistente.
 3. UN RECETTORE posto in una depressione della membrana plasmatica fra le sette eliche strutturali.
 4. UN SITO DI LEGAME INTRACELLULARE con una G PROTEIN.
 5. UN SITO DI FOSFORILAZIONE posto molto vicino al sito di legame con la G PROTEIN.

(in particolare per questo tipo di proteina, ma anche per molti altri, non tutti i segmenti peptidici sono critici a livello della proteina, sono possibili delle mutazioni che semplicemente non portano a nessun mutamento della funzionalità della proteina).

Il sito di legame si colloca in una piega della catena a livello della membrana (cioè in una cavità sulla membrana); il legame con il recettore:

1. AVVIENE A LIVELLO DI MEMBRANA ESTERNA.
2. PROVOCA UNA DEFORMAZIONE STRUTTURALE che si trasmette a tutta la struttura proteica.
3. La deformazione influisce sulla PROTEINA G legata a livello intracellulare alla struttura proteica, la proteina G è una GTP BP eterotrimerica, presenta tre subunità:
 1. alfa importante per la relazione con l'enzima e per la risposta alle sue

modificazioni, in particolare:

1. è la subunità che lega il GTP.
2. È legata alla membrana tramite una molecola di palmitato, può quindi muoversi all'interno del mosaico fluido della membrana stessa.
3. È capace di interagire con la adenilato ciclasi nelle modalità necessarie alla attivazione del cAMP (secondo messaggero dell'ormone).

2. Beta.

3. Gamma.

l'arrivo dell'ormone provoca il distacco della proteina trimerica in due parti:

1. BETA E GAMMA che si liberano a livello citosolico.
2. ALFA che provoca idrolisi del GTP ad essa legato in GDP, si tratta di una reazione catalizzata, non è spontanea.

LA SUBUNITÀ ALFA MIGRA SULLA MEMBRANA PLASMATICA essendo ancorata ad una molecola di palimitato, fino a raggiungere la ADENILATO CICLASI, enzima che si occupa della formazione di cAMP, modificandone la struttura e attivandolo.

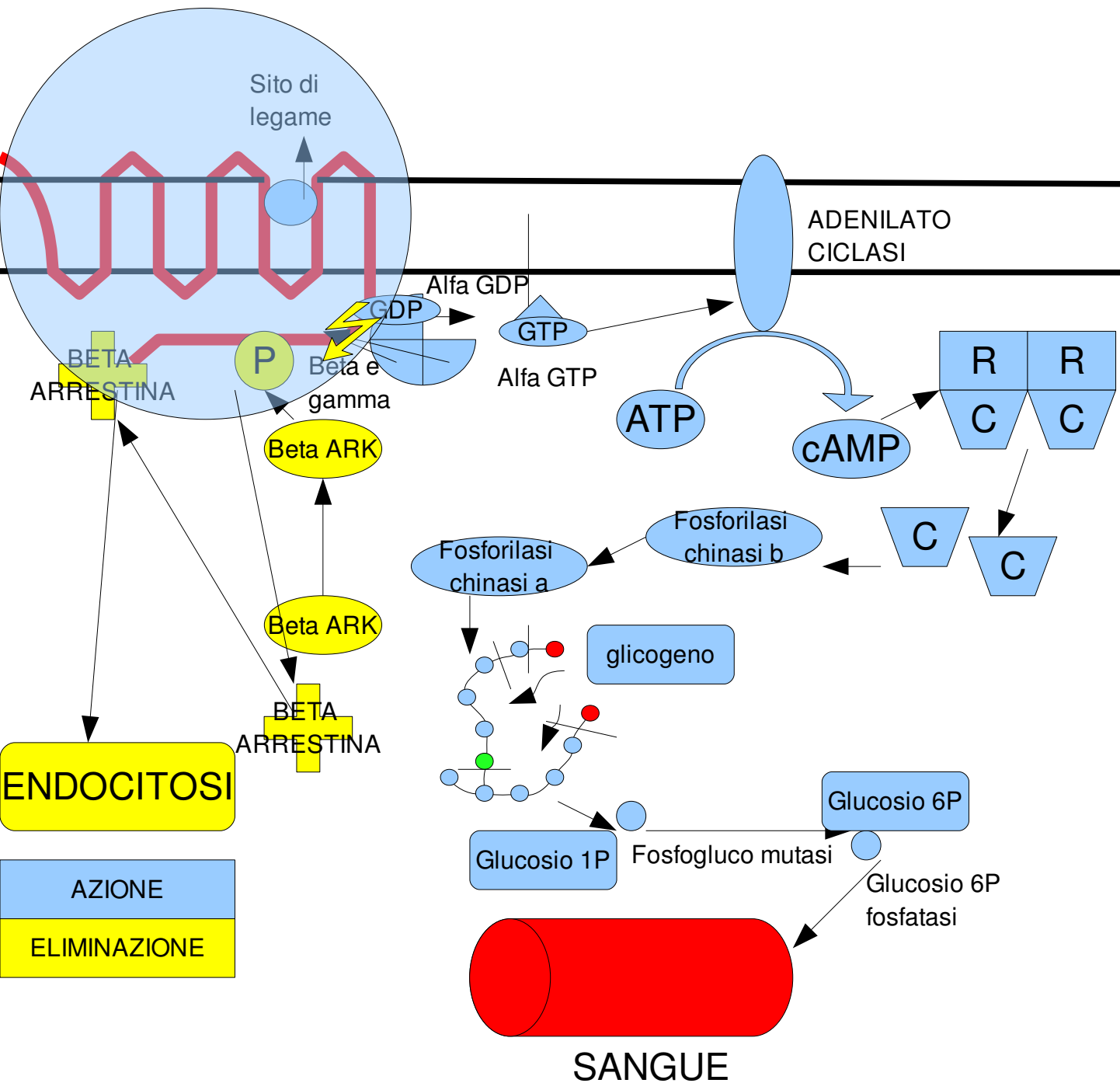
4. Produzione di AMP ciclico da ATP (con idrolisi di una molecola di ATP in cAMP e pirofosfato) ad opera della neoattivata ADENILATO CICLASI. Si forma in questo modo il SECONDO MESSAGGERO.
5. AMP ciclico ha come bersaglio molecolare una proteina cAMP dipendente, questa è la PROTEIN CHINASI A; l'AMP ciclico può subire, una volta formatosi due destini diversi:
 1. essere idrolizzato ad AMP dalla FOSFODIESTERASI; in questo modo assistiamo alla graduale cessazione della risposta biologica; esistono anche inibitori della fosfodiesterasi che bloccano o rallentano la azione della fosfodiesterasi stessa mantenendo la cellula in uno stato di stimolazione continuo, in particolare si ricordano:
 1. CAFFEINA si tratta di metilxantina, prodotto metilato dalla xantina.
 2. TEINA.
 3. TEOBROMINA (presente nel cacao).
Si tratta in realtà del medesimo composto, il suo effetto è quello di potenziare quello della adrenalina impedendo la degradazione del cAMP.
 2. Opera la sua azione catalitica sulla protein chinasi A estrinsecando la sua azione biologica.
6. LA RISPOSTA BIOLOGICA viene attuata dalla PROTEIN CHINASI A che si occupa della fosforilazione di proteine; in particolare ovviamente agisce formando un legame estereo su un residuo di serina; il riconoscimento fra la proteina chinasi e il suo substrato avviene in conseguenza alla presenza di una SEQUENZA CONSENSO di circa 10aa fra i quali è presente anche la serina stessa. La protein chinasi è una TETRAMERO caratterizzato dalla

presenza di:

1. DUE SUBUNITÀ REGOLATIVE.
2. DUE SUBUNITÀ CATALITICHE.

Intervengono quattro molecole di cAMP che si legano alla molecola in questione dividendola in quattro monomeri due dei quali attivi, inoltre il cAMP viene riciclato e riutilizzato, per ogni processo di attivazione ottengo quindi DUE PROTEINE attive. Questa risposta biologica mediata dalla PROTEIN CHINASI A porta alla fosforilazione di:

1. GLICOGENO FOSFORILASI CHINASI che va ad attivare la fosforilasi del glicogeno.
2. GLICOGENO SINTASI che viene bloccata.
3. PIRUVATO CHINASI E DEIDROGENASI.
4. LIPASI ORMONO SENSIBILI che vengono attivate.
5. TIROSINA IDROSSILASI che porta alla formazione delle catecolamine.
6. BETA-ARK: si tratta della beta adrenergic receptor kinase, si tratta di un'altra chinasi che ha come substrato il recettore beta che viene fosforilato assumendo una nuova conformazione, in questo modo il recettore:
 1. diviene capace di ASSOCIARE UNA PROTEINA DETTA BETA ARRESTINA: in seguito a questa associazione il recettore viene internalizzato e va incontro ad endocitosi BLOCCANDO LA VIA METABOLICA (l'insulina non trova più il suo recettore); il recettore sarà riespresso sulla membrana in seguito.
 2. Diviene incapace di associazione con la proteina G: il sito di fosforilazione risulta infatti estremamente vicino al sito di legame con la proteina G stessa (inattivazione della trasmissione intracellulare).



- **RECETTORE ALFA 2 DELL'ADRENALINA:** si tratta di un altro recettore per la adrenalina che viene espresso in determinati tessuti: questo recettore lega una proteina G la cui azione, che precede la attivazione di mediatori intracellulari come IP3 e ione calcio, presenta dei risultati opposti rispetto al caso precedente. La proteina G idrolizza nel complesso beta-gamma e nella subunità alfa che va ad **INIBIRE LA ADENILATO CICLASI** diminuendo quindi la concentrazione di cAMP intracellulare. Il recettore ormonale alfa2 dell'adrenalina presenta un sistema di messaggeri intracellulari diverso rispetto al recettore adrenergico beta: questo recettore è accoppiato ad una proteina Gq che presenta capacità di legame con il

GTP: come nei casi precedenti la proteina Gq dissocia dal recettore e si associa a GTP, la subunità catalitica si sposta a livello della membrana e va ad interagire con la PLC o fosfolipasiC.

La fosfolipasi C va ad attaccare il FOSFATIDIL INOSITOLO 4,5 difosfato: si tratta di una molecola caratterizzata dalla presenza di:

- ACIDO FOSFATIDICO.
- INOSITOLO: si tratta di un cicloesano caratterizzato dalla presenza di un gruppo ossidrilico per ogni carbonio, in particolare la struttura è la seguente:

questo lipide viene idrolizzato sul legame fra il carbonio 3 e il fosfato legato all'inositolo dando IP3 cioè un inositolo trifosfato e un diacil glicerolo o DAG. Quindi le due componenti si organizzano in questo modo:

- diacilglicerolo resta sulla membrana.
- IP3 si libera a livello citosolico, si tratta di un MESSAGGERO INTRACELLULARE.

Entrambi questi composti contribuiscono alla azione intracellulare dell'ormone:

- L'IP3 liberato in conseguenza al legame della adrenalina con il suo recettore alfa2, si sposta a livello del reticolo endoplasmico, si lega al suo recettore che è un canale ionico per il calcio: in conseguenza al legame assistiamo alla apertura del canale e alla fuoriuscita di calcio dalle riserve endoplasmatiche.

A livello del reticolo endoplasmatico come sulla membrana sono presenti delle pompe Ca^{++} ATP asiche mantengono la concentrazione di calcio citosolico ad un livello ideale che si aggira intorno a 10^{-7} molare; lo ione calcio rappresenta di fatto il TERZO MESSAGGERO che viene in questo modo liberato a livello citosolico raggiungendo una concentrazione che si aggira intorno a 10^{-6} M.

- Il diacil glicerolo presenta, dopo il distacco di IP3, un gruppo ossidrilico a livello della membrana che è associato ad una proteina chinasi detta PKC, questa viene attivata dalle elevate concentrazioni di calcio intracellulare causate dall'azione dell'IP3 sul reticolo endoplasmatico. A dimostrazione della azione proliferatrice di questa via metabolica la PKC in particolare può essere attivata da un agente canceroso detto ESTERE DEL FORBOLO: attivando permanentemente la chinasi PKC provoca la proliferazione continua della cellula.

Il calcio intracellulare è un secondo o terzo messaggero molto comune e presenta anche altre funzioni come per esempio quelle relative alla CALMODULINA: la calmodulina è una proteina che legato il calcio muta la sua conformazione in particolare:

- legato lo ione Ca^{++} la calmodulina acquisisce la capacità di legarsi a delle protein chinasi formando il complesso calcio-calmodulina o CaM.
- Il complesso CaM si lega a delle protein chinasi ATTIVANDOLE nel complesso CaM-PK.
- Il complesso CaM-PK va a fosforilare proteine diverse con effetti molto

diversi a seconda del tessuto e della proteina che viene fosforilata (omogeneizzato il cervello possiamo trovare all'interno dei sinaptosomi dai complessi calmodulina-calcio-protein chinasi ancora legati).

Il genoma umano presenta circa 300.000-500.000 geni codificati, di questi geni possiamo dire che un buon 10% è essenziale per codificare:

- canali ionici.
- Recettori ormonali.
- Proteine G.
- protein chinasi.

Questo significa che il 10% del genoma di una cellula è essenziale per dare una risposta intracellulare ad un messaggio o una situazione extracellulari.

Dalla diversa azione dei cinque recettori sopracitati si spiega la diversa funzionalità della adrenalina:

➤ **RECETTORI ALFA:**

1. ALFA 1: è un recettore di tipo eccitatorio, definito come postgiunzionale, presente in prevalenza sulla muscolatura liscia dei piccoli vasi (resistenze periferiche) la sua stimolazione genera contrazione della muscolatura di queste resistenze generando un aumento della pressione.
2. ALFA 2: è un recettore definito come presinaptico, presente sulle terminazioni nervose, è deputato alla regolazione della secrezione di neurotrasmettitori sia catecolaminergici che colinergici: la sua attivazione determina una diminuzione della produzione di noradrenalina (feedback negativo) e acetilcolina. Inoltre, la sua attivazione a livello pancreatico diminuisce la secrezione di insulina.

➤ **RECETTORI BETA:**

1. BETA 1: è un recettore di tipo eccitatorio, importantissimo per l'attività cardiovascolare, è principalmente presente a livello cardiaco e renale, la sua stimolazione genera a livello cardiaco un effetto stimolatorio mentre a livello renale stimola la secrezione di renina.
2. BETA 2: è un recettore di tipo inibitorio, presente a livello della muscolatura liscia di alcuni apparati: Muscolatura liscia bronchiale, muscolatura liscia gastrointestinale, è inoltre presente sulla muscolatura liscia di coronarie e grandi vasi che irrorano muscolatura scheletrica. L'attivazione di questo recettore genera rilassamento della muscolatura e rilassamento bronchiale e gastrointestinale e dei grandi vasi periferici.
3. BETA 3: è un recettore di tipo eccitatorio, presente soprattutto a livello del tessuto adiposo. Qui attiva le lipasi che liberano acidi grassi dai trigliceridi.

Altro recettore a serpentina, ma non recettore ormonale anche se funziona e presenta struttura identica, è l'OPSINA che si colloca nelle cellule dei coni (cones) e dei bastoncelli (rods), cellule fotorecetttrici della cornea. La retina presenta una struttura istologica molto complessa, presenta ben 10 strati cellulari e partendo dal centro dell'occhio quello nel quale si collocano tali recettori è il penultimo (il più interno cioè).

BASTONCELLI: sono i fotorecettori più sensibili in assoluto, sono stimolati anche da un solo fotone (ma la trasmissione necessita di un valore-soglia minimo).

CONI: sono meno sensibili ma consentono la visione dei colori.

Il bastoncello presenta una struttura di questo tipo:

- SEGMENTO INTERNO che si connette ai neuroni bipolari; si tratta della parte dalla quale arriva il fotone e nel quale si colloca di fatto il corpo della cellula.
- SEGMENTO ESTERNO: è la parte più interna a livello della quale si colloca il recettore OPSINA, si tratta di un APOPROTEINA e si posiziona in questo modo a livello della cellula: si riconoscono nel segmento interno circa 2000 strutture vescicolari impilate e generate da intra ed estroflessioni di membrana, per ciascuna vescicola se ne contano circa 15.000 (per un totale di 30 milioni di opsine per un singolo bastoncello). La molecola recettrice legato il gruppo prostetico, l'11 trans retinale, diviene RODOPSINA, la struttura di legame con questo gruppo prostetico si colloca nella struttura fosfolipidica. Si possono presentare quindi due possibilità:
 - CONDIZIONE DI BUIO: il recettore OPSINA presenta come gruppo prostetico l'11cis retinale: l'11cis retinale deriva dal carotene, in particolare dal carotene viene estratto l'11TRANS retinale che viene isomerizzato a 11CIS retinale a livello delle cellule pigmentate della retina attraverso l'azione di una isomerasi. Questo composto raggiunge la opsina e si lega alla catena laterale basica di un residuo di LISINA formando con essa un legame di tipo IMMINICO; la opsina diviene quindi RODOPSINA.
 - STIMOLAZIONE: l'11cis retinale è un ottimo recettore di fotoni, in particolare:
 - ARRIVO DEL FOTONE sulla rodopsina 11cis retinale.
 - DEFORMAZIONE della struttura dell'11cis retinale.
 - TRASFORMAZIONE dell'11cis retinale ad 11 trans retinale (detto anche tutto trans retinale).
 - La rodopsina viene ora definita METARODOPSINA II.QUESTA DEFORMAZIONE della struttura provoca la attivazione intramolecolare dello stimolo (estremamente simile a quella che si attiva con gli ormoni) (saranno poi le cellule pigmentate che riporteranno il gruppo prostetico alla normalità); è importante sottolineare che il processo di recupero del retinale può durare anche qualche minuto (in caso di carenze alimentari a livello clinico si manifesta nella EMERALOGIA, scarsa visione notturna). Attivazione procede in questo modo:
 - LA RODOPSINA lega una molecola detta TRASDUCINA o T che:
 - a riposo lega il GDP ed è composta di tre subunità alfa beta e gamma.
 - Con la modificazione della struttura assistiamo a:
 - DISTACCO della subunità alfa con il GDP, questo distacco muta la sua affinità dal GDP al GTP che viene ad essa associato.
 - PERMANENZA delle altre subunità a livello della molecola.
 - LA PDE, fosfodiesterasi, proteina di membrana estremamente importante, presenta due subunità inibitorie gamma e due subunità attive catalitiche alfa e beta: la subunità alfa della proteina trasducina associata a GTP va a rompere il legame fra le tre subunità proteiche attivando la PDE. La PDE è una fosfodiesterasi, questa molecola va ad agire su un trasmettitore interno,

il cGMP, IDROLIZZANDOLO a GMP intracellulare.

- Il GMP ciclico è un composto sempre presente al livello cellulare, è infatti essenziale a mantenere aperto un canale ionico che garantisce, in situazioni normali, l'ingresso di calcio e sodio nella cellula: sodio e calcio sono sempre presenti a livello citosolico, in particolare lo dimostra la presenza della POMPA SODIO POTASSIO ATPasi, e normalmente vanno a costituire un potenziale di membrana positivo all'esterno e negativo all'interno, il filtraggio di ioni positivi attraverso questo canale smorza in situazione normale tale potenziale; quindi LA DEGRADAZIONE DI cGMP E LA CHIUSURA DEL CANALE BLOCCANO TALE EFFETTO INCREMENTANDO IL POTENZIALE; in conseguenza a questo cambiamento di polarità abbiamo la TRASMISSIONE DELL'IMPULSO NERVOSO. Quindi:
 - BUIO: non c'è stimolazione della rodopsina quindi il livello di cGMP è elevato e il canale aperto, la polarità della membrana risulta a livello normale.
 - LUCE: il rilascio dei trasmettitori intracellulari è elevato, il cGMP viene quindi idrolizzato a GMP provocando la chiusura del canale e la conseguente depolarizzazione della membrana.

Il neurotrasmettitore utilizzato nella comunicazione dell'impulso visivo è il GLUTAMMATO.

- ABBASSAMENTO CITOSOLICO DEL CALCIO: effetto ovviamente dovuto alla chiusura del canale cGMP dipendente, il calcio fa sì che l'enzima che sintetizza cGMP a partire da GTP, che è una GUANILATO CICLASI, sia INIBITO, cioè:
 - ALTA CONCENTRAZIONE di CALCIO → inibizione della guanilato ciclasasi.
 - BASSA CONCENTRAZIONE di CALCIO → stimolazione della guanilato ciclasasi.

È vero che il cGMP viene eliminato a livello citosolico per attivazione della PDE, ma contemporaneamente la sua produzione viene stimolata dalla attivazione della guanilato ciclasasi dovuta ad una parallela diminuzione della concentrazione dello ione calcio, si tratta di un sistema di controllo estremamente preciso e che garantisce l'intermittenza dello stimolo.

- LA RODOPSINA presenta inoltre dei siti serinici a livello citosolico, presenta quindi degli ossidrilici disponibili alla fosforilazione, una volta attivato lo stimolo la RODOPSINA CHINASI si occupa della fosforilazione di questi gruppi; la RODOPSINA CHINASI risulta inibita dal legame con una proteina detta RECOVERINA, quest'ultima è una proteina CALCIO DIPENDENTE che, in caso di calo del calcio intracellulare come in questo caso, risulta inattiva provocando un effetto di questo tipo:
 - ATTIVAZIONE della rodopsina chinasi che fosforila i siti fosforilabili della rodopsina.
 - POSSIBILITÀ di formazione del legame RODOPSINA-ARRESTINA che

inibisce la azione della rodopsina impedendo la trasmissione dello stimolo.

Nel caso in cui questo avvenga in modo molto consistente abbiamo la sensazione di un ABBAGLIO.

I CONI presentano una struttura simile, ma utilizzano una rodopsina lievemente diversa: il RETINALE si associa in modo diverso, in questo modo è possibile da parte dei coni l'assorbimento di fotoni a frequenze diverse, esistono tre tipi di coni con diversa sensibilità ai colori:

- per il rosso.
- Per il blu.
- per il giallo.

Esistono delle deformazioni genetiche che impediscono la visione di dati tipi di colore in particolare (daltonismo).

VITAMINA A: comprende diverse forme:

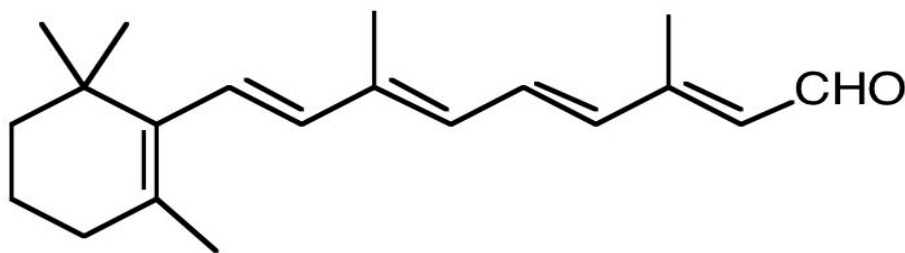
1. RETINALE che presenta una aldeide in posizione 15. questo composto può:
 1. andare incontro ad ossidazione per divenire ACIDO RETINOICO. Questo a sua volta presenta una funzione ormonale, in particolare:
 1. SI LEGA ad un recettore.
 2. ATTIVA un messaggero intracellulare.
 3. Provoca STIMOLAZIONE ALLA TRASCRIZIONE DEL DNA.

Questo composto agisce in particolare nei tessuti epiteliali, può cioè guidare lo sviluppo di cellule staminali adulte:

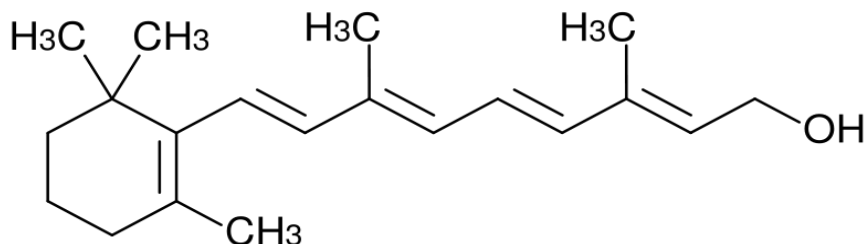
1. in presenza di ACIDO RETINOICO viene stimolato lo sviluppo a cellule mucipare caliciformi.
2. In sua ASSENZA si stimola la specializzazione a cellula squamosa.

Altre due funzioni importanti svolte da questo composto sono:

1. STIMOLAZIONE DELLA PRODUZIONE DEI LINFOCITI T.
2. STIMOLAZIONE DELLO SVILUPPO DELL'OVAIO.



2. Andare incontro a riduzione e divenire RETINOLO, forma idrossilata.



Il retinolo in particolare viene ricavato per ossidazione diretta con ossigeno del beta carotene che viene spaccato in due parti (due molecole di retinolo).

Si tratta di molecole LIPOSOLUBILI, vengono assorbite a livello intestinale come acidi grassi e quindi conservate dalle CELLULE STELLATE DEL FEGATO, si tratta di cellule a forma di stella presenti nel fegato; l'assorbimento di questo tipo di vitamina, come di tutte le altre vitamine liposolubili, è strettamente vincolato alla attività dei sistemi di digestione dei lipidi.

RECETTORI CON CAPACITÀ CATALITICA:

Un tipico esempio di recettore di membrana con capacità catalitica è IL RECETTORE PER L'INSULINA: si tratta di un recettore composto di:

- due subunità alfa extracellulari.
- Due subunità beta transmembrana.

Al suo arrivo l'insulina si lega alla subunità alfa che va ad influire irrimediabilmente sulla struttura delle subunità beta ad essa legate che vengono modificate, a questo punto:

1. una delle due subunità defosforila una molecola di ATP ad ADP e fosforila l'altra subunità beta che si comporta allo stesso modo: si tratta di un fenomeno di AUTOTIROSINCHINASI del recettore, complessivamente le due subunità risulteranno ciascuna bifosforilata.
2. Il recettore a questo punto acquista la capacità di reagire con la proteina IRS-1 o (insulin receptor substrate 1) che presenta un sito di riconoscimento detto SH2 (src(sarc chinasi) homology, si tratta di un sito che riconosce in modo specifico un legame fra un residuo di tirosina e un fosfato) apposito per questo tipo di legame e riconoscimento; tramite questo legame anche IRS-1 viene trifosforilata (sempre su residui di tirosina) attivandosi; naturalmente IRS-1 è presente in tantissime copie provocano quindi un fenomeno di amplificazione del segnale.
3. a questo punto IRS-1 acquisisce la capacità di legare una proteina detta Grb2 tramite un sito di legame omologo al precedente e detto quindi nuovamente SH-2, questa proteina presenta un sito di legame detto SH-3 (che riconosce siti ricchi in prolina) per una proteina detta SOS.

Come già sottolineato SH2 è un dominio conservato a livello delle proteine che si legano a gruppi tirosin-fosfato mentre SH3 ha la caratteristica di legarsi a zone ricche di prolina.

il complesso interattivo può essere quindi così definito: ETEROTRIMERO costituito di:

- IRS-1.
- Grb2.
- SOS.

Questo eterotrimero va quindi ad agire su una molecola detta RAS ancorata alla membrana tramite un'ancora lipidica (palmitato per esempio), RAS è una proteina omologa ad una proteina G, questa, in conseguenza al legame neoformato, libera il GDP precedentemente legato e si associa ad una molecola di GTP.

- Raf1 si lega a questo punto alla proteina RAS-GTP; Raf1 è una protein chinasi.
- Raf 1 (Raf o RAS activated factor 1 fa parte della famiglia MAPKK chinasi) va a fosforilare ad attivare un'altra chinasi detta MEK.
- MEK (o mitogen activated ERK chinasi, fa parte della famiglia MAPKK o MAPK

chinasi) va ad attivare una ulteriore chinasi detta ERK che si attiva nella forma ERK-P.

- ERK-P è una extracellular activated protein chinasi, (fa parte di una famiglia detta MAP chinasi dove MAPK sta per mitogen activated protein chinasi, si tratta di proteine chinasi che vengono attivate dall'esterno come stimolatori dell'attività mitotica).
- Questa chinasi entra a livello del nucleo della cellula e si occupa di UNIFICARE tramite fosforilazione SRF e Elk in un unico complesso detto SRFEIk-P.

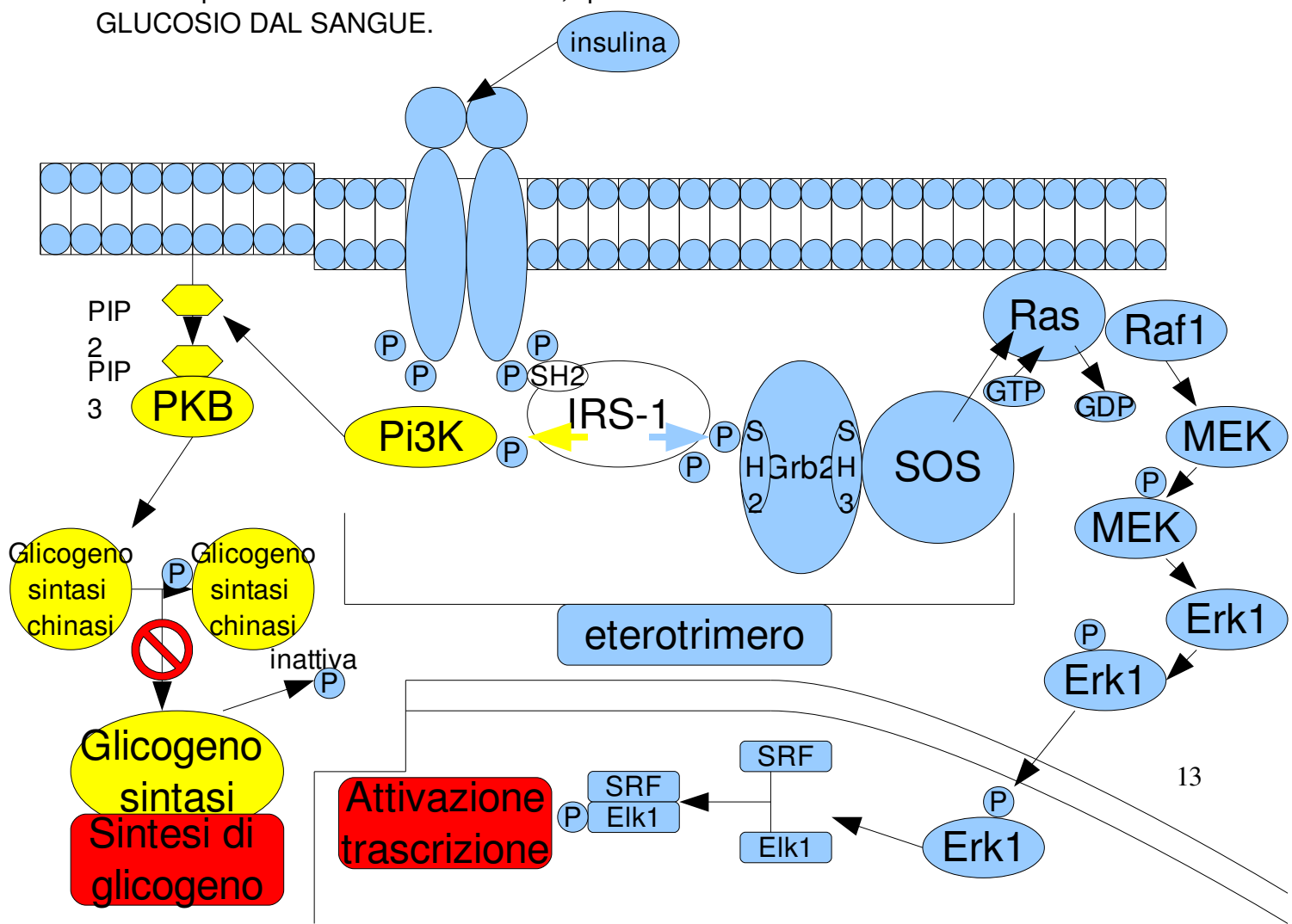
L'insulina è un ormone di crescita, stimola la crescita cellulare; molti altri fattori di crescita presentano una struttura comune a livello di recettoriale.

EFFETTI SUL METABOLISMO CELLULARE DEL GLUCOSIO: si tratta dell'effetto principale di questo ormone, la via in questione si svolge in questo modo:

- IRS-1 fosforilato si associa ad una chinasi detta Pi-3K, si tratta di una chinasi per il fosfatidil inositolo 4,5 difosfato o PIP2.
- La chinasi Pi-3K fosforila il PIP2 di membrana che lo trasforma in PIP3 cioè 3,4,5 fosfatidil inositolo fosfato.
- PIP3 diviene sito di legame per un'altra proteina detta PKB o protein chinasi B che viene attivata.

PKB va ad **INATTIVARE** la GLICOGENO SINTETASI CHINASI.

L'effetto di questa inattivazione può essere facilmente descritto in questo modo: la glicogeno sintasi si trova a livello cellulare normalmente inattiva in quanto fosforilata dalla glicogeno sintasi chinasi; nel momento in cui la GLICOGENO SINTETASI CHINASI non fosforila più la GLICOGENO SINTASI, questa si **ATTIVA STIMOLANDO IL PRELIEVO DI GLUCOSIO DAL SANGUE**.



Il medesimo meccanismo di attivazione è dato da un principio attivo della cannabis il DELTA9 TETRAIDROCANNABINOLO o THC

una volta soddisfatte le necessità cellulari PIP3 può essere ritrasformato in PIP2 da un enzima detto PTEN che va in pratica ad inattivare la via metabolica. In alcune cellule PTEN è inattivato, ne consegue che la PKB risulta attiva continuamente e l'introito energetico cellulare risulta di conseguenza sempre elevato a dimostrare che la mutazione di geni di questo tipo può essere estremamente pericolosa.

Una via di biosegnalazione simile viene utilizzata a livello del RECETTORE PER LA ERITROPOIETINA, la via innescata dal recettore procede come segue:

- l'eritropoietina, ormone prodotto a livello renale e stimolatorio rispetto alla produzione di globuli rossi e loro maturazione, giunge a livello del suo recettore che DIMERIZZA e diviene in grado di LEGARE UNA CHINASI detta JAK.
- La chinasi JAK fosforila in più punti il recettore di membrana della eritropoietina.
- Il RECETTORE diviene ora capace di legare i membri di una famiglia di fattori di trascrizione detta STATS.
- STAT5 si lega ai residui fosforilati della molecola del recettore in una sede tale per cui È POSSIBILE LA SUA FOSFORILAZIONE DA PARTE DI JAK.
- Una volta fosforilato STAT5:
 - forma dei dimeri.
 - Espone delle sequenze segnale di importazione nel nucleo.
 - Va a stimolare la trascrizione di geni essenziali alla formazione di FATTORI INDISPENSABILI ALLA MATURAZIONE DEGLI ERITROCITI.

ORMONI ADDETTI ALLA OMEOSTASI DEL GLUCOSIO:

L'omeostasi del glucosio è un processo complesso che interessa numerosi ormoni diversi ma in particolare quattro ormoni essenziali:

1. INSULINA → ipoglicemizzante agisce nella normale alimentazione.
2. GLUCAGONE → iperglicemizzante agisce in stato di digiuno.
3. CORTISOLO → agisce in situazioni di stress prolungato.
4. ADRENALINA → agisce in situazioni di stress improvvise.

INSULINA:

L'INSULINA presenta dei recettori diversi e con diverse funzioni su cellule come:

- epatociti.
- Miociti.
- Adipociti.

L'insulina viene secreta dalle cellule del pancreas in particolare dalla componente endocrina, le isole di Langerhans; questo composto viene conservato in granuli di secrezione che contengono la pro insulina, si tratta di una forma di deposito inattivo; in particolare possiamo dire che il processo di sintesi e di attivazione avviene in questo modo:

- pre pro insulina → pro insulina + peptide segnale; si tratta di un peptide di circa 23 aminoacidi; l'operazione peptidica viene eseguita da un enzima tripsina simile.
- pro insulina → insulina + peptide C il peptide C presenta diverse dimensioni a seconda della specie presa in considerazione, nell'uomo assistiamo ad un accorciamento che porta da un peptide di 81 aminoacidi ad un peptide di 51 aminoacidi (la secrezione delle due componenti è esattamente stechiometrica, ne consegue che la misurazione della quantità di peptide C circolante equivale alla quantità di insulina attiva secreta).

Nel suo complesso il processo prevede una maturazione a livello dell'apparato del Golgi, dove avviene la rimozione del peptide N terminale, e a livello della vescicola di secrezione stessa, definita vescicola beta, a livello della quale avviene la proteolisi del segmento C.

L'insulina si libera nel sangue in particolare in conseguenza alla assunzione di un pasto ricco in carboidrati; alla crescita della glicemia corrisponde un aumento della concentrazione dell'insulina la cui azione abbassa la glicemia che a sua volta inibisce la produzione di insulina.

LE CELLULE BETA DEL PANCREAS PRESENTANO QUINDI UN GLUCOCETTORE cioè un recettore per il livello di glucosio ematico: si tratta di una proteina transmembrana la cui attivazione consente:

- INGRESSO DEL GLUCOSIO nella CELLULA DEL PANCREAS tramite il suo trasportatore GLUT2; il trasportatore presenta una Km simile alla concentrazione ematica di glucosio dopo un pasto, (cioè superiore ai livelli normali) in particolare possiamo dire che in questo modo l'ingresso di glucosio nella cellula e la

stimolazione sono direttamente proporzionali alla glicemia.

- AZIONE DELLA FOSFOGLUCOCHINASI che fosforila il glucosio a glucosio 6P.
- ATTIVAZIONE DELLA GLICOLISI e quindi PRODUZIONE DI ATP.
- ATP funziona da regolatore allosterico di un canale ionico in senso negativo, blocca cioè un canale ionico per il potassio; questo provoca l'aumento della concentrazione interna di potassio e quindi incremento della concentrazione di ioni positivi all'interno della membrana, assistiamo quindi ad un processo di DEPOLARIZZAZIONE.
- La DEPOLARIZZAZIONE attiva un canale transmembrana che consente l'ingresso di calcio a livello del citosol.
- INCREMENTO DELLA CONCENTRAZIONE DI CALCIO PROVOCA STIMOLAZIONE ALLA ESOCITOSI della INSULINA (stesso meccanismo che consente il funzionamento di qualsiasi esocitosi ormonale).

INSULINA LIBERA: l'insulina incontra i suoi organi bersaglio nel circolo ematico, in particolare può dare due tipologie di risposta come visto:

- AUMENTO DELLA TRASCRIZIONE DI DATI GENI si tratta di un effetto più lento, le MAP chinasi richiedono un tempo di attivazione relativamente elevato, inoltre, una volta attivati i fattori di trascrizione, prima che il loro effetto divenga effettivo è necessario attendere del tempo.
- EFFETTO SULLA ASSUNZIONE DEL GLUCOSIO tramite la attivazione della PROTEIN CHINASI B, si tratta di un meccanismo rapido con poche tappe come già visto.

Possiamo dire che la insulina presenta effetti diversi a seconda della cellula che va a colpire, tuttavia i bersagli principali della sua azione sono sicuramente

- EPATOCITI che presentano circa 17000 recettori.
- ADIPOCITI che presentano circa 10000 recettori.
- MIOCITI.

Per quanto concerne questo tipo di recettore, la cui struttura è stata descritta in precedenza, presenta alcuni meccanismi particolarmente importanti:

- sensibilità recettoriale estremamente elevata che si aggira intorno a 10^{-10} .
- capacità di dare COOPERATIVITÀ NEGATIVA: maggiore è il numero di recettori legati alla insulina, minore sarà la affinità dei recettori per la stessa.

L'effetto primario indotto da questo tipo di ormone è sicuramente l'ipoglicemia, in particolare possiamo dire che provoca a livello cellulare:

1. aumento della sintesi di glicogeno.
2. Aumento della quantità di glucosio utilizzato nella glicolisi.
3. Aumentato uptake cellulare di glucosio.

La insulina presenta un effetto macroscopico di aumento della massa adiposa, muscolare e ossea: l'incremento della massa ossea è correlato in modo molto stretto ad un aumento della ATTIVITÀ DEGLI OSTEOLASTI, in particolare la forza determinata dal peso incrementato e dall'incremento conseguente della massa muscolare si estrinseca a livello di maggiore tensione tendinea che STIMOLA L'AMPLIAMENTO DELLA MASSA OSSEA.

INGRESSO NELLA CELLULA DEL GLUCOSIO DAL SANGUE: è indispensabile la

presenza di un recettore-trasportatore capace di garantire l'ingresso di glucosio nella cellula, in particolare GLUT4: si tratta di un trasportatore che catalizza un trasporto facilitato secondo gradiente; il meccanismo che si viene a creare è il seguente:

- L'insulina si lega al suo recettore di membrana.
- Fosforilazione del recettore da parte di chinasi citosoliche.
- Stimolazione alla fusione di vescicole intracellulari che contengono IL TRASPORTATORE DEL GLUCOSIO con la membrana cui consegue:
 - INCREMENTO DELLA SUPERFICIE DI MEMBRANA.
 - INCREMENTO DELLA QUANTITÀ DI TRASPORTATORI DEL GLUCOSIO presenti a livello della membrana stessa.

CONSUMO CELLULARE: è possibile a questo punto consumare il glucosio ematico in due metodi:

1. GLICOLISI: il conseguente l'incremento di concentrazione di acetilCoA cellulare può portare, in situazioni idonee, alla formazione di acidi grassi e quindi di trigliceridi; la attivazione della glicolisi è controllata di fatto dalla FOSFOFRUTTO CHINASI1 che catalizza la conversione del fruttosio 6P in fruttosio 1,6dP: nel fegato il più potente attivatore di questo enzima è il fruttosio 2,6dP; la concentrazione di questo composto cresce dopo un pasto dando di fatto un segnale di sazietà alla cellula. La formazione e la distruzione del fruttosio 2,6 difosfato è regolata per fosforilazione di due enzimi, una chinasi (PFK2 o fosfofrutto chinasi2) e una fosfatasi o (FBPasi o fruttosio 2,6dP difosfatasi); il meccanismo funziona in questo modo:

1. FBPasi si occupa della distruzione del fruttosio 2,6dP e quindi di eliminare la attività glicolitica, si tratta quindi di un enzima con capacità idrolitica e viene attivato per fosforilazione.
2. PFK2 si tratta di un enzima che al contrario catalizza la costruzione di fruttosio 2,6dP stimolando la glicolisi, viene attivato per defosforilazione.

GLICOLISI significa formazione di piruvato e di acetilCoA e quindi attivazione del ciclo di krebs; la velocità del ciclo di krebs è correlata, come noto, alla concentrazione di NAD⁺ disponibile ad essere ridotto per la formazione di equivalenti utilizzabili nella catena respiratoria; in mancanza di questi accumulatori assistiamo a:

1. TRASFORMAZIONE DELL'ACETILCoA in CITRATO.
2. Esportazione del citrato.
3. Lisi del citrato ad:
 1. AcetilCoA citosolico che si accumula.
 2. Ossalacetato.
4. Formazione di acidi grassi.
5. Formazione di acilgliceroli e trigliceridi a livello degli adipociti.

Il sistema shuttle in questione interessa l'attività della ATP CITRATO LIASI e di una decarbossilasi che produce NADPH(H⁺).

Questo avviene naturalmente in tutte le cellule che presentino una elevata concentrazione glucidica ed energetica; (unicamente nel caso in cui ci si trovi in un

muscolo in contrazione questo non avviene e il consumo di glucosio è immediato). Il deposito di glicogeno MUSCOLARE ED EPATICO è limitato irrimediabilmente dalla quantità di glicogeno sintetizzabile complessivamente che è un fattore fortemente limitante, (si parla di un 5% nel fegato e di un una percentuale ancora minore nel muscolo) (nel caso in cui l'accumulo dovesse essere maggiore avremmo una EPATOMEGALIA con ovvie conseguenze vascolari).

2. GLICOGENOSINTESI il controllo della sua attività è regolato:
 1. come già visto dalla PKB tramite azione catalitica innescata dal recettore dell'insulina.
 2. da una fosfo protein fosfatasi o PP1 che va ad attivare la glicogeno sintasi defosforilandola; la PP1 defosforila anche la glicogeno fosforilasi inattivandola; questa fosfatasi estremamente importante, viene attivata specificamente dalla insulina grazie ad una protein chinasi insulina dipendente.

GENI INDOTTI DALLA INSULINA: possiamo ricordare che fra i vari geni stimolati ci sono:

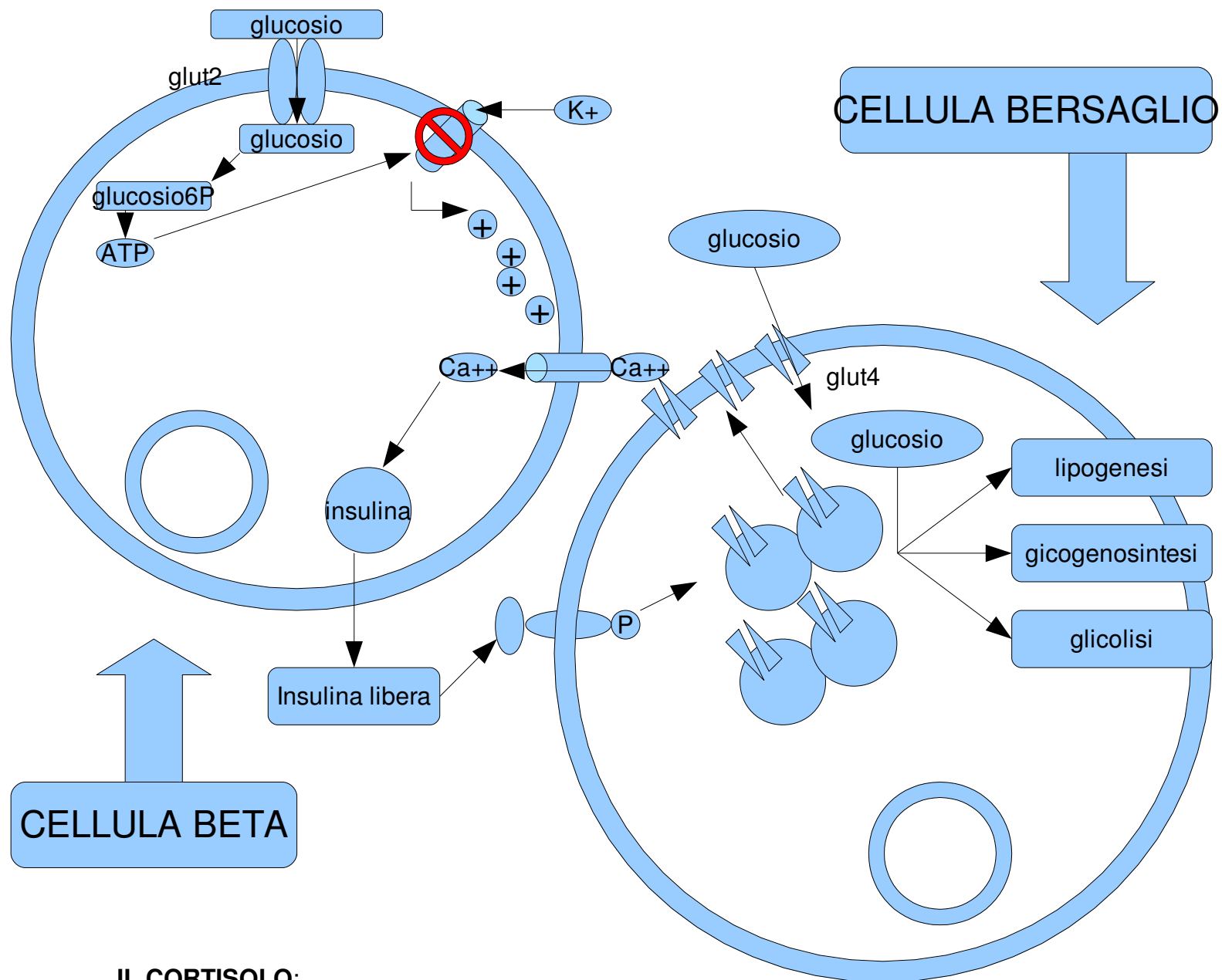
1. geni essenziali per la glicogenosintesi.
2. Geni essenziali alla sintesi di proteine funzionali per la glicolisi (tra cui ESOCHINASI e FOSFOFRUTTOCHINASI, PIRUVATO CHINASI, PFK2)
3. via dei pentono P.
4. Geni per la liposintesi.

ORMONI IPERGLICEMICI: l'insulina è l'unico ormone ipoglicemico presente a livello dell'organismo umano mentre di ormoni che agiscono incrementando la glicemia ne esistono almeno tre:

- GLUCAGONE che si attiva in situazioni di digiuno.
- ADRENALINA che si attiva in conseguenza a situazioni di stress.
- CORTISOLO che si attiva invece in situazioni di stress cronico in particolare legato a trauma e malattia.

Riassumendo possiamo quindi dire che l'insulina presenta effetti diversi sul nostro organismo:

- a livello del metabolismo glucidico:
 - stimola la assunzione cellulare di glucosio, in particolare:
 - a livello di tessuti MUSCOLARE e ADIPOSO attiva un meccanismo di diffusione facilitata del glucosio attraverso la membrana.
 - A livello EPATICO incrementa la sintesi di glucochinasi
 - stimola la sintesi del glicogeno.
 - Inibisce la gluconeogenesi.
- A livello del metabolismo lipidico:
 - stimola la sintesi di acidi grassi.
 - Stimola la esterificazione degli stessi a trigliceridi.
 - Inibisce in modo estremamente significativo la lipasi del tessuto adiposo.Nel suo complesso presenta quindi una funzione ANTICHETOSICA.
- A livello della sintesi proteica:
 - stimola l'incorporazione di amminoacidi nelle proteine.



IL CORTISOLO:

Si tratta di un ormone steroideo. Gli ormoni steroidei sono **ORMONI LIPOFILI**, derivati del colesterolo in particolare, vengono rilasciati dalla ghiandola surrenale (il cortisolo in particolare dalla **ZONA CORTICALE** nella sua parte fascicolata, l'adrenalina viene secreta invece dalla midollare). L'ormone in questione viaggia nel sangue associato ad una proteina detta CBP che lo veicola nel circolo sanguifero. Questo ormone presenta dei recettori specifici che si collocano **ALL'INTERNO DELLA CELLULA** e in particolare **NEL NUCLEO**; il sistema di trasmissione del segnale procede in questo modo:

- CBP arriva sulla membrana.
- Libera nel citosol l'ormone.
- L'ormone incontra il suo recettore a livello nucleare. (un sistema simile è valido per ormoni steroidei tiroidei e acido retinoico).
- **LA STRUTTURA DEL RECETTORE NUCLEARE** presenta:

- UN SITO DI LEGAME PER L'ORMONE.
- UN SEGNALE DI INDIRIZZAMENTO AL NUCLEO necessario al posizionamento dello stesso post sintesi.
- UN DOMINIO DI LEGAME CON IL DNA: si tratta di un sito estremamente conservato e caratterizzato dalla presenza di due strutture secondarie a dito di zinco (anse peptidiche stabilizzate dalla presenza di un atomo di zinco, in particolare possiamo riconoscere la presenza di quattro residui di cisteina che bloccano la struttura).
- Altre varie strutture legate a specifica funzione del effettore.
- Quando il recettore occupato lega il DNA si avvia il meccanismo di sintesi dell'RNA con conseguente produzione proteica.

GLUCAGONE:

Si tratta di un ormone secreto dalle cellule alfa delle isole di langherans nel pancreas; il processo relativo al rilascio del glucagone è ancora parzialmente oscuro, tuttavia certo è il fatto che NEL MOMENTO IN CUI VIENE A DIMINUIRE LA CONCENTRAZIONE EMATICA DI GLUCOSIO viene SECRETO IL GLUCAGONE.

Il glucagone agisce sostanzialmente su due tipi cellulari:

- fegato.
- tessuto adiposo.
- Muscolo.

AZIONE EPATICA:

il recettore è un tipico recettore a 7 segmenti che utilizza tramite la proteina G il cAMP come secondo messaggero che va ad attivare la protein chinasi A che con la sua azione va a fosforilare gli enzimi necessari ad:

- attivare o incrementare la glicogenolisi cioè:
 - ATTIVAZIONE della glicogeno fosforilasi tramite la glicogeno fosforilasi chinasi.
 - INIBIZIONE delle glicogeno sintasi tramite fosforilazione.

Tutto questo è essenziale al mantenimento della omeostasi del glucosio ematico in particolare in caso di digiuno.

L'effetto netto è incremento NELLA CELLULA EPATICA DI GLUCOSIO 6P grazie alla azione della glicogeno fosforilasi e della fosfo gluco mutasi (che trasforma il glucosio1P in glucosio6P). A questo punto il glucosio neoformato:

- POTREBBE ENTRARE NELLA GLICOLISI che viene però generalmente bloccata in una situazione di digiuno per impedire il consumo di glucosio vista la scarsa disponibilità dovuta alla situazione di digiuno stessa. Questo avviene grazie a:
 - CALO DI CONCENTRAZIONE DI fruttosio 2,6dP per inibizione della fosfofruttochinasi2, questo avviene grazie ad un meccanismo di reazione e regolazione (già visto) grazie alla azione coordinata dei due enzimi antagonisti:
 - FRUTTOSIO 2,6dP DIFOSFATASI → attivata per fosforilazione.
 - FOSFOFRUTTOCHINASI2 → inattivata per fosforilazione.

E la conseguente influenza degli stessi sulla concentrazione di fruttosio

2,6dP.

- INIBIZIONE DELL'ENZIMA PIRUVATO CHINASI che una volta fosforilato risulta inattivo.
- In caso di digiuno può divenire substrato della GLUCOSIO 6P FOSFATASI che produce glucosio non fosforilato che si sposta nel sangue.
- Nel caso in cui lo stimolo resti attivo per lungo tempo il glucagone attiva, tramite il cAMP e la cascata regolativa, i geni caratterizzati dalla presenza di una sequenza definita CREB che provoca stimolazione alla produzione di:
 - FRUTTOSIO 1,6 DIFOSFATASI.
 - PEP CARBOSSI CHINASI.
 - PIRUVATO CARBOSSILASI.

Enzimi che catalizzano passaggi chiave della sintesi del glucosio a partire da piruvato o altri precursori.

L'effetto principale e più immediato del GLUCAGONE è quello di generare glucosio ematico tramite i processi sopra citati.

Il glucagone va ad inibire la sintesi di acidi grassi, in particolare possiamo dire che inibisce la ACETIL CoA CARBOSSILASI: si tratta dell'enzima che va a trasformare l'acetil CoA in malonilCoA, che è il precursore degli acidi grassi. In conseguenza a questo tipo di reazione viene ATTIVATA LA CARNITINA ACIL TRASFERASI I; questo enzima è essenziale al trasferimento degli acili nel mitocondrio in quanto propedeutico alla loro beta ossidazione, in questo modo è possibile catabolizzare gli acidi grassi producendo acetilCoA.

A questo punto nell'epatocita si presenta una situazione di questo tipo:

- energia presente sia in forma di NADH(H⁺) (derivato da processi mitocondriali e citosolici) sia in forma di ATP (che nel fegato non viene utilizzato in quanto non necessita in questa situazione di energia).
- Bassa concentrazione di OSSALACETATO rispetto alla quantità di energia in forma di acetilCoA che viene prodotta.

A questa situazione consegue la formazione di CORPI CHETONICI, infatti i tessuti del corpo necessitano di energia, ma non essendo disponibile glucosio, la presenza di corpi chetonici risulta fondamentale; è inoltre importante sottolineare il fatto che il fegato presenta capacità di produzione dei corpi chetonici (tiolasi e beta idrossibutirrato deidrogenasi) ma non presenta gli enzimi necessari alla loro catabolizzazione (tiolasi per l'acetacetato e tre chetoacil CoA transferasi), i corpi chetonici vengono quindi completamente liberati nel sangue a soddisfare le esigenze dei tessuti (cervello in particolare, anche se l'eventualità si verifica unicamente in caso di digiuni molto prolungati, dopo due giorni circa).

AZIONE SUL TESSUTO ADIPOSO:

nel tessuto adiposo il glucagone attiva le LIPASI che consentono la degradazione di trigliceridi in forma di acidi grassi liberi e di glicerolo:

1. questi acidi grassi vengono associati a proteine (chilomicroni e albumine) e quindi trasportati attraverso il circolo alle cellule che necessitano di energia in forma di acidi grassi.

2. Il glicerolo nel fegato subisce un meccanismo di degradazione che tramite fosforilazione e successiva ossidazione ne garantisce l'accesso alla glicolisi.

AZIONE A LIVELLO MUSCOLARE:

Assistiamo alla liberazione di amminoacidi che vengono deaminati e quindi trasformati in chetoacidi che possono:

- ESSERE DEGRADATI tramite meccanismi di OSSIDAZIONE MUSCOLARI (come il ciclo di krebs ma anche altri meccanismi)
- ESSERE INCANALATI NEL CICLO GLUCOSIO-ALANINA che prevede la sintesi muscolare di alanina e la sua esportazione epatica con conseguente ingresso della stessa a livello della gluconeogenesi a formare glucosio.

Naturalmente nel muscolo la fonte primaria di amminoacidi è rappresentata da actina e miosina, per questo in caso di digiuni prolungati viene persa massa muscolare.

Per quanto concerne le transaminasi a livello epatico si ha una regolazione di questo tipo:

- digiuno: vista la necessità di produrre metaboliti energetici si assiste ad una deaminazione amminoacidica molto consistente con eliminazione conseguentemente consistente di scarti azotati (deaminazione ossidativa), si ha quindi un bilancio complessivo dei livelli di azoto negativo.
- Dopo un pasto: essendo a questo punto possibile il processo di amminazione degli amminoacidi precedentemente catabolizzati (almeno quelli non essenziali) o comunque l'immagazzinamento degli amminoacidi appena ingeriti, il bilancio dell'azoto risulta positivo.

ADRENALINA:

Si tratta di un ormone stimolatorio per reazioni di stress rapide, in particolare possiamo dire che agisce a livello:

- EPATICO: stimola la glicogenolisi e quindi la liberazione nel sangue di glucosio essenziale per la muscolatura.
- ADIPOSO.
- MUSCOLARE in particolare provoca:
 - incremento del cAMP libero.
 - Glicogenolisi e conseguente incremento del glucosio muscolare cui consegue aumento del consumo del glucosio stesso: è necessaria la produzione di ATP per garantire la contrazione delle FIBRE MUSCOLARI nel modo più rapido possibile, vengono quindi mobilitate le fibre muscolari BIANCHE povere in mioglobina e alimentate sostanzialmente tramite GLICOLISI (per un meccanismo già visto di feedback naturalmente il consumo di ATP per la contrazione e la conseguente produzione di AMP sono stimolatori rispetto alla glicolisi).
- PANCREATICO:
 - va a stimolare la secrezione di INSULINA che quindi:
 - incrementa l'introito del glucosio nelle cellule.
 - Impedisce l'insorgenza di iperglicemia.

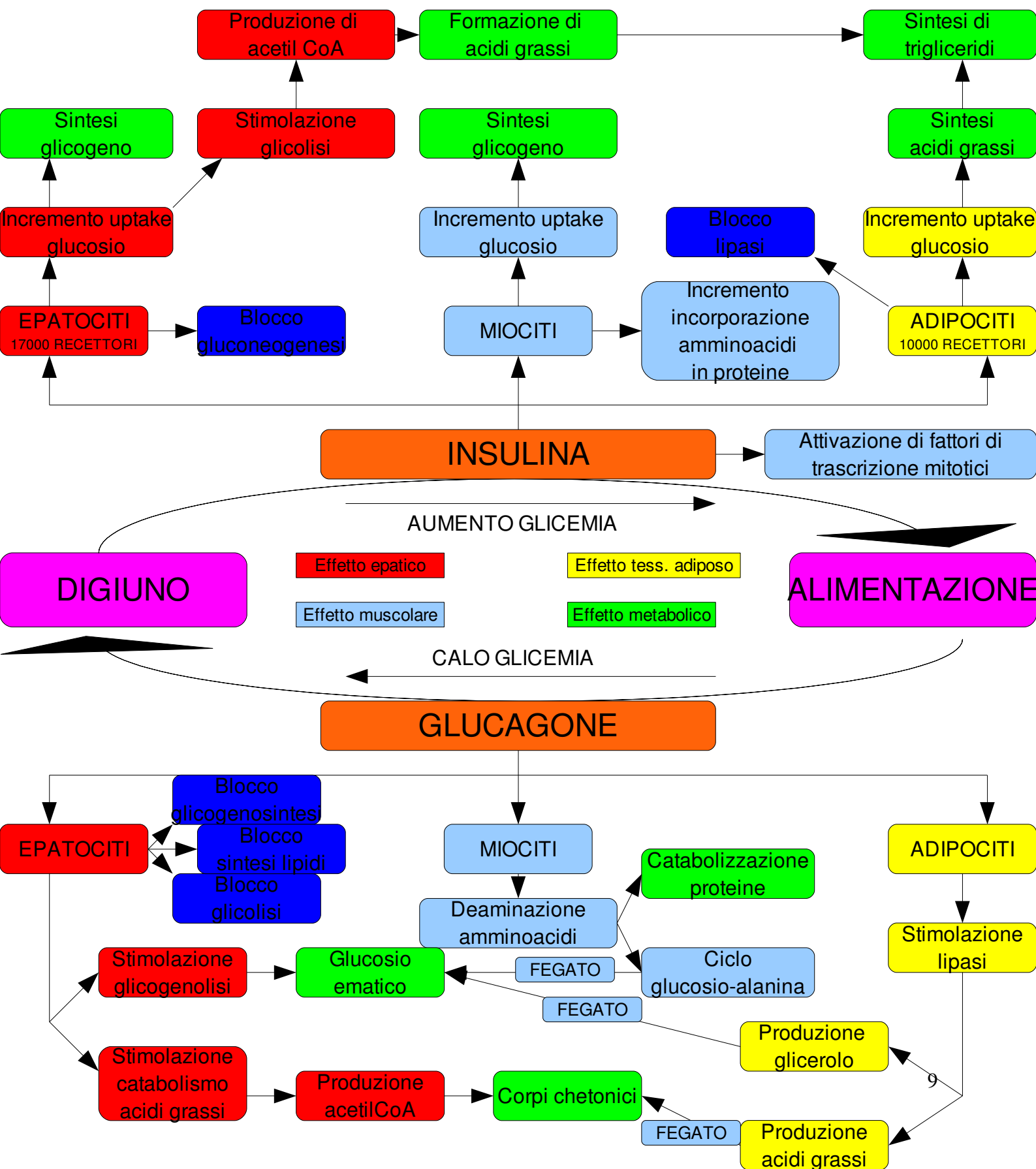
Complessivamente possiamo quindi schematizzare in questo modo:

Giordano Perin; biochimica nutrizionale4: ormoni2: ormoni addetti alla omeostasi del glucosio

DIGIUNO → GLICEMIA BASSA → glucagone.

ALIMENTAZIONE → GLICEMIA ALTA → insulina.

COMPLESSIVAMENTE L'EFFETTO GLUCAGONE-INSULINA può essere riassunto in questo modo:



IMPATTO METABOLICO DEL DIABETE:

Il diabete è una malattia metabolica che interessa in modo particolare i meccanismi di omeostasi del GLUCOSIO.

L'acetilCoA presenta un metabolismo particolare, possiamo dire che questo catabolita risulta presente ad elevate concentrazioni in entrambi i casi sia di digiuno sia di alimentazione corretta, in particolare:

- nel DIGIUNO per effetto del glucagone viene attivata la lipasi del tessuto adiposo con conseguente incremento della lipolisi e incremento epatico di acilCoA che viene ossidato ad acetilCoA nella beta ossidazione:
 - attivazione della acilCoA carnitina transferasi, attivata dal calo di concentrazione di malonilCoA per effetto della inibizione della acetilCoA carbossilasi da parte del glucagone stesso.
 - Trasferimento dell'acilCoA nel mitocondrio.
 - Beta ossidazione degli acili a acetilCoA.

Nel digiuno l'incremento della concentrazione di acetilCoA epatico è indispensabile al mantenimento della omeostasi energetica del corpo con conseguente produzione di corpi chetonici dovuta al fatto che:

- il CoA è un enzima limitante nel senso che la sua limitata concentrazione cellulare impone alla cellula, in situazioni come questa nelle quale è necessario per la produzione di energia tramite la beta ossidazione il suo recupero.
- Perché la concentrazione di ACIDO OSSALACETICO risulta diminuita a causa della bassa concentrazione di glucosio.
- Nella ALIMENTAZIONE: l'ormone predominante è l'insulina e l'incremento di acetilCoA è dovuto:
 - all'incremento della attività di enzimi come:
 - fosfofruttochinasi 1 e piruvato chinasi.
 - attivazione insulina dipendente della piruvato deidrogenasi che provoca un deciso incremento della sintesi di acetilCoA a partire da piruvato.

QUESTO INCREMENTO PROVOCA: aumento della concentrazione di ACIDO OSSALACETICO dovuto proprio all'introito di glucosio a livello epatico, si assiste quindi a produzione di CITRATO nell'epatocita che non viene però utilizzato nella glicolisi per due motivi:

- NON È NECESSARIA ENERGIA A LIVELLO EPATICO o quantomeno non in queste quantità.
- L'acetilCoA È STATO PRODOTTO IN UNA QUANTITÀ e IN UN TEMPO TALI DA IMPEDIRNE COMPLETO E CORRETTO CONSUMO in tempo breve.

IL CITRATO NEOPRODOTTO quindi può essere trasferito nel citosol attraverso il sistema shuttle del citrato che si comporta in questo modo:

- uscita del citrato dal mitocondrio attraverso il carrier degli acidi tricarbossilici.
- Azione della ATP-CITRATO LIASI che, con spesa di ATP scinde il citrato in:
 - acetilCoA che viene trasformato in malonilCoA dalla acetilCoA carbossilasi, enzima particolare che:

- È STIMOLATO DAL CITRATO: si tratta di uno dei pochissimi meccanismi di feedback positivo (più esce citrato dal mitocondrio più è stimolato il processo) il MALONIL CoA prodotto da questo enzima STIMOLA LA PRODUZIONE DI TRIACIL GLICEROLI e di ACIDI GRASSI.
- È INIBITA DA GLUCAGONE che essendo un enzima rilasciato in situazione di digiuno deve inibire i processi di sintesi come questo.
 - ossalacetato che poi rientra nel mitocondrio attraverso i sistemi shuttle che coinvolgono una serie di reazioni redox.

Questo sistema è essenziale al mantenimento della omeostasi del glucosio che viene prelevato dal circolo per essere trasformato in acetilCoA e quindi in triacil gliceroli.

NEL DIGIUNO quindi, vista la mancanza di ossalacetato e la concomitante necessità di produrre energia utile, la chetogenesi è l'unica via di uscita possibile.

IL DIABETE: si tratta di uno stato di iperglicemia, viene definito diabete (dia baino, passare attraverso) in quanto in questa situazione patologica si riscontra filtraggio di glucosio nelle urine, in particolare si parla di POLIURIA (eccessiva eliminazione di liquidi con le urine) e GLICOSURIA (eliminazione di glucosio con le urine).

I vari sintomi sono legati a problematiche legate all'insulina che:

1. PUÒ ESSERE ASSENTE cioè non sintetizzata, e si parla di diabete di tipo 1.
2. CHE PUÒ ESSERCI MA NON FUNZIONARE, cioè non essere recepita a livello cellulare, e si parla di diabete di tipo 2.

come conseguenza in ogni caso assistiamo:

- ad una IPERGLICEMIA a livello ematico.
- GLICOSURIA: normalmente a livello renale:
 - il sangue passa attraverso il glomerulo renale dove viene filtrato e prende contatto con la preurina dove riversa il suo contenuto, quindi anche il glucosio.
 - Il GLUCOSIO viene riassorbito in seguito grazie ai degli specifici trasportatori.

Tuttavia questi carrier presentano una capacità limite di riassorbimento oltre la quale la saturazione è tale che la quantità di glucosio riassorbito diventa costante e indipendente dalla concentrazione del glucosio stesso (saturazione da substrato), questo limite è 180mg/dl, se la concentrazione di glucosio nella preurina sale oltre questo limite non viene riassorbito completamente.

Nel caso in cui il glucosio in eccesso resti in circolo SI VERREBBERO A CREARE DEGLI SQUILIBRI OSMOTICI estremamente pericolosi, la eliminazione del glucosio tramite le urine consente quindi al paziente di sopravvivere nonostante il difetto metabolico.

Un TRAUMA normalmente provoca LIBERAZIONE DI CORTISOLO con conseguente incremento della attività gluconeogenetica che nel diabetico può portare alla creazione di uno scompenso tale da generare un coma iperglicemico.

Altri due tipici sintomi metabolici del diabete possono essere:

- POLIDIPSIA (sete) associata ovviamente alla eccessiva eliminazione di liquidi con le urine.
- ASTENIA (debolezza) dovuta alla incapacità delle cellule di assorbire il glucosio e

ossidarlo, questo provoca ossidazione anzitutto a livello muscolare di amminoacidi e conseguente diminuzione della massa muscolare e bilancio dell'azoto negativo.

Questo tipo di sintomi è tipicamente presente a livello del diabete di tipo 1, detto anche diabete magro che emerge in età precoce (il difetto metabolico, essendo di natura autoimmune, emerge subito) e provoca uno scompenso acuto e rapido. A livello sintomatico nel diabete di tipo 2 questi sintomi possono non essere presenti al punto che lo stato patologico può non essere avvertito per anni; inoltre questo tipo di diabete viene detto GRASSO: abbiamo un incremento di massa corporea (che non comprende in questo caso la massa muscolare), in particolare si assiste ad uno spropositato aumento della massa adiposa; come conseguenza l'insulina prodotta viene a distribuirsi ad una quantità di cellule estremamente elevata, molto più del livello normale con conseguente ovvia perdita della capacità da parte delle cellule beta del pancreas di far fronte alle necessità dell'organismo (possiamo dire che da 70 a 140 kg si ha una quintuplicazione del livello di cellule e recettori insulino sensibili).

IL DIABETE può essere considerato come un gruppo di malattie accomunate dalla presenza di un fenotipo comune detto iperglicemia ma causato da una serie di fattori molto diversi di natura sia ambientale che genetica; possiamo definire diabetico:

- un paziente che presenti una glicemia (presa in un qualsiasi momento della giornata, il valore soglia è infatti così elevato che non è raggiungibile in una persona normale) superiore a 200mg/dl (11,1mM/L).
- Concentrazione ematica di glucosio a digiuno da 8 ore superiore a 126mg/dl (7,0mM/L).
- Test di tolleranza al glucosio, si tratta di un test tale per cui sono note le quantità di glucosio assunte dal paziente e il momento della assunzione, il valore soglia è di 200mg/dl (11,1mM/L).

Per quanto concerne la sintomatologia clinica riconosciamo:

- DIABETE TIPO 1: si tratta del tipo di diabete meno presente, in particolare si estrinseca in una ridotta secrezione di insulina e in sintomi come:
 - POLIURIA.
 - POLIDIPSIA.
 - ASTENIA.
 - CALO PONDERALE.
 - SECCHEZZA DELLA PELLE.
 - SUSCETTIBILITÀ A INFEZIONI in particolare dovuta alla elevata concentrazione ematica di glucosio che il microorganismo invasore può sfruttare per la sua riproduzione.

MANCATA RILASCIATA DELL'INSULINA, vista la sua via metabolica di secrezione. Può essere dovuta a disfunzioni legate alla mancanza di vari tipi di enzimi come:

1. GLUCOCHINASI: malfunzionamento o mancanza di questo enzima provocano una cascata di eventi che genera:
 1. insufficiente produzione di glucosio6P.
 2. Conseguente mancata produzione di ATP.
 3. Nessuna attivazione del blocco del canale per il potassio.

4. Nessuna variazione di polarizzazione della membrana.
5. NESSUNA SECREZIONE DI INSULINA.
2. ALTRI ENZIMI molto diversi possono essere oggetto di difetti genici che possono inficiare il processo di secrezione in punti molto diversi nella via metabolica di attivazione alla secrezione.

Generalmente si tratta comunque di una malattia di natura AUTOIMMUNE.

Il problema, in questo caso, si risolve tramite iniezione di insulina esogena.

- DIABETE TIPO 2: è il più presente e comune, in particolare l'incremento ponderale risulta il sintomo più visibile, mentre altri sintomi risultano decisamente attenuati:
 - insulino resistenza cui conseguono:
 - Ridotto consumo di glucosio.
 - Aumentata produzione di glucosio attraverso la gluconeogenesi, ma una volta riversato nel sangue non viene utilizzato.

Nel suo complesso si estrinseca in sintomi identici a quelli tipici del diabete di tipo primo ma decisamente attenuati.

MANCATA SENSIBILITÀ ALL'INSULINA: è difficile comprendere a pieno la natura e le origini della patologia, questo si rispecchia anche nella enorme lista di risk factors, in particolare:

- storia familiare.
- Obesità in particolare dall'infanzia. RESTRIZIONE CALORICA incrementa il tempo di vita, sia nell'uomo sia in moltissimi altri eucarioti come vermi, ratti, drosophila ecc...comporta una diminuzione del consumo di ossigeno e quindi inferiore produzione di radicali liberi.
- Mancanza di attività fisica, il consumo del glucosio e del glicogeno non viene stimolato, moltissimi problemi possono essere risolti da questo punto di vista.
- Razza ed etnicità legate ad abitudini genetiche: individui provenienti da diverse etnie presentano per predisposizione genetica necessità più o meno elevate dal punto di vista energetico.
- ImpairedFastingGlucose e impairedGlucoseTolerance precedentemente diagnosticate.
- Ipertensione.
- Colesterolo.
- Gravidanza.
- Problemi vascolari.

EZIOLOGIA del diabete di tipo due: si tratta di una mescolanza di fattori genetici e ambientali, per quanto concerne l'effetto metabolico in particolare possiamo dire che si affiancano una diminuita sintesi di insulina e diminuita sensibilità alla insulina stessa che provoca una conseguente INTOLLERANZA AL GLUCOSIO; il quadro è quello di una malattia multifattoriale, infatti si riconoscono:

1. elevata concordanza nei gemelli omozigoti (80%).
2. familiarità.
3. Elevata predisposizione in determinati gruppi etnici.

Possiamo dividere la vita del paziente malato di diabete in tre parti che riflettono di fatto

l'incremento di richiesta e la minor disponibilità di insulina:

1. parte iniziale in cui sta bene, il problema non si presenta in alcun modo:
 1. livelli di glucosio normali sia a digiuno che dopo il pasto.
 2. Insulina perfettamente funzionante.
2. Prediabete: si assiste ad un incremento della glicemia dopo il pasto e della glicemia a digiuno in particolare che varia nel tempo:
 1. l'effetto si riscontra inizialmente a livello della glicemia post pasto e aumenta la richiesta di insulina che viene prodotta in maggior quantità; la glicemia a digiuno resta normale in questo primissimo stadio.
 2. Oltre al quadro sopra descritto risulta incrementata anche la glicemia a digiuno.
3. Diabete:
 1. cresce la glicemia sia a digiuno che dopo il pasto.
 2. Si perde la capacità delle cellule beta del pancreas di soddisfare le necessità dell'organismo.

Le cellule beta possono incrementare la produzione di insulina per un certo periodo, in particolare possono aumentare il ritmo di lavoro e la loro capacità di sintesi, questo è possibile unicamente in un primo momento, ma con il tempo si assiste all'instaurazione di un fenomeno di questo tipo:

- CELLULE BETA DEL PANCREAS: producono meno insulina.
- CELLULE ALFA DEL PANCREAS: producono più glucagone.
- INCREMENTATO OUTPUT DI GLUCOSIO NEL SANGUE a livello EPATICO.

inoltre nei tessuti muscolari e adiposi viene a diminuire il numero di recettori.

INSULINO RESISTENZA = ridotta risposta alla azione della insulina.

Nello sviluppo della malattia possiamo dire che:

1. le cellule, in risposta ad una prima stimolazione, crescono:
 1. in numero.
 2. in massa.
2. Eccessivamente stimulate si LOGORANO e si instaura il sopra descritto fenomeno.

Il tutto è descrivibile attraverso lo schema sopra riportato.

COME CONSEGUENZA POSSIAMO DIRE CHE LA SITUAZIONE in un primo tempo tamponata dalla azione della insulina, VIENE A PEGGIORARE NEL MOMENTO IN CUI VI SIA LOGORAZIONE DELLE CELLULE BETA DEL PANCREAS.

Abbiamo quindi un danno CELLULARE e FUNZIONALE.

La degenerazione delle cellule beta del pancreas è tale che un diabetico affetto da diabete di tipo secondo presenta circa la metà delle cellule beta di un soggetto sano.

Possiamo dire che INSULINO RESISTENZA e DEGENERAZIONE DELLE CELLULE BETA DEL PANCREAS influiscono nel tempo in modo diverso nell'instaurarsi del diabete di tipo due:

Glucotossicità e lipotossicità: il diabete crea danni anche al sistema vascolare che possono portare a conseguenze devastanti come:

- cecità.
- Insufficienza renale.

- insufficienza vascolare dell'arto inferiore.

In caso di diabete di tipo secondo i valori di glicemia risultano estremamente diversi rispetto ai normali valori di glucosio ematico; in particolare possiamo dire che:

1. abbiamo valori genericamente estremamente più elevati.
2. Picchi normali, dovuti alla assunzione di glucidi attraverso la dieta, sono estremamente sbilanciati verso l'alto.
3. Variazioni della glicemia decisamente più marcate.

Inoltre nel soggetto diabetico si riscontrano nella secrezione insulinica:

- ritardo nella secrezione in risposta all'introito di glucosio nel circolo.
- Diminuzione della quantità secreta.

GLUCOSAMMINA: si pensa sia il mediatore chimico di glucotossicità e lipotossicità.

NEFA LIBERI: la presenza di acidi grassi liberi presenta una duplice influenza a livello del diabete:

- sono inibitori rispetto all'uptake del glucosio da parte delle cellule.
- Stimolano l'output di glucosio dal fegato incrementando la glicemia

hanno cioè una duplice influenza a livello dell'incremento della glicemia.

Altro tipico sintomo di questa patologia è l'incremento della massa grassa che va quindi a peggiorare la situazione proprio per l'accumulo di lipidi e la aumentata concentrazione di NEFA liberi; il grasso intraaddominale è il più pericoloso, soprattutto nel maschio, in quanto rappresenta tipicamente DEPOSITI DI VLDL DA PARTE DEL FEGATO che sono particolarmente ricchi in TRIGLICERIDI.

Il diabete di tipo due e le conseguenze che esso ha a livello metabolico si estrinsecano quindi in un livello anomalo estremamente elevato di glicemia, la presenza di glucosio libero va inevitabilmente ad influire su altri meccanismi cellulari:

- EFFETTO DIRETTO DELL'IPERGLICEMIA:
 - GLICOSILAZIONE DI PROTEINE: eccessi di glucosio ematico vanno ad intaccare anche la funzionalità delle proteine:
 - la presenza eccessiva di glucosio stimola la glicosilazione.
 - Processi di glicosilazione incontrollati portano a:
 - FORMAZIONE DI PROTEINE GLICOSILATE NELLA CELLULA con alterazione delle loro funzionalità.
 - FORMAZIONE DI PRODOTTI FINALI EXTRACELLULARI alterati.
 - Si parla perfino di EMOGLOBINA GLICOSILATA, o COLLAGENE GLICOSILATO questo ha delle influenze estremamente gravi sia dal punto di vista metabolico che dal punto di vista funzionale (le conseguenze possono essere anche molto diverse).
 - ACCUMULO DI SORBITOLO E FRUTTOSIO: la presenza di glucosio in eccesso va ad incrementare la produzione di SORBITOLO E FRUTTOSIO che possono provocare DANNI OSMOTICI CONSISTENTI, soprattutto il sorbitolo, e danni OSSIDATIVI CONSIDEREVOLI.
 - ATTIVAZIONE DELLE PROTEIN CHINASI C.
- EFFETTO DELLA IPERGLICEMIA SUI TESSUTI:
 - alterazione della funzione di proteine.

Giordano Perin; biochimica nutrizionale4: ormoni2: ormoni addetti alla omeostasi del glucosio

- Stress ossidativi e osmotici.
- Riduzione della velocità di alcuni impulsi nervosi.
- Incremento della filtrazione renale.

ORMONI STEROIDEI:

GLI ORMONI STEROIDEI sono ormoni prodotti :

1. dalla porzione CORTICALE DELLA ghiandola surrenale.
2. DALLE ghiandole sessuali.

derivano dal colesterolo e sono classificabili come:

- CORTICOSURRENALICI prodotti dalla regione corticale della ghiandola surrenale nelle sue sezioni glomerulare e fascicolata.
- SESSUALI prodotti invece dalla parte reticolare della corticale del surrene e, soprattutto, dalle ghiandole sessuali.

LA ghiandola surrenale nel suo complesso è la sede di sintesi degli ormoni steroidei e della catecolamine, si tratta della ghiandola che si colloca al di sopra del polo superiore del rene ed è costituita da una parte CORTICALE e una parte MIDOLLARE.

1. MIDOLLARE: produce le catecolamine adrenalina e noradrenalina.
2. CORTICALE: classificabile in tre parti:
 1. GLOMERULARE → aldosterone che fa parte degli ormoni CORTICOSURRENALICI.
 2. FASCICOLATA → cortisolo che fa parte degli ORMONI CORTICOSURRENALICI
 3. RETICOLARE → ORMONI SESSUALI, in particolare androgeni; questa biosintesi avviene sia a livello maschile che femminile; nel maschio non è rilevante vista la presenza predominante di testosterone (prodotto dalle gonadi), nella femmina è più rilevante per la assenza di altri ormoni di questo tipo, a livello di menopausa o quadri patologici la presenza di tali ormoni può essere rilevante nel dare fenomeni di mascolinizzazione.

TUTTI GLI ORMONI STEROIDEI DERIVANO DAL COLESTEROLO PASSANDO PER UN INTERMEDIO DETTO PREGNENOLONE.

GLI ORMONI STEROIDEI CORTICOSURRENALICI relativamente alla della loro struttura e funzione sono classificabili in:

- GLUCOCORTICOIDI → il cui principale esponente è il cortisolo; sono così definiti perché agiscono sulla omeostasi GLICEMICA.
- MINERALCORTICOIDI → il cui principale esponente è l'aldosterone; sono così definiti perché agiscono sulla omeostasi dei SALI MINERALI (o NATRIEMIA che dir si voglia) in particolare cloruro e sodio.

Tutti, come già sottolineato, DERIVANO DAL COLESTEROLO, questo giunge a livello delle cellule della surrenale circolando associato alle LDL che vengono internalizzate grazie alla presenza di uno specifico recettore per le LDL; il colesterolo assimilato viene quindi conservato in forma di ESTERE a livello cellulare; complessivamente della riserva

accumulata possiamo dire che:

- 80% deriva dal sangue.
- 20% deriva dalla sintesi de novo via acetilCoA.

Nessuna delle cellule che producono questi ormoni presenta un deposito intracellulare di ormone, la sintesi avviene unicamente in funzione della secrezione immediata, lo STIMOLO ALLA PRODUZIONE, e quindi alla secrezione, viene perpetuato dalla ipofisi grazie alla azione dell'ormone ADENOCORTICOTROPO o ACTH che stimola la produzione di CORTISOLO, o dalle cellule juxta glomerulari che grazie alla azione della renina e dell'angiotensina stimolano la produzione di ALDOSTERONE.

BIOSINTESI DEL PREGNENOLONE:

- TRASFERIMENTO DEL COLESTEROLO AL MITOCONDRIO avviene grazie alla presenza di una proteina apposita detta STEROID TRANSFER PROTEIN che viene attivata dall'ACTH stesso; questo inoltre attiva la COLESTEROLO ESTERASI che libera colesterolo intracellulare.
- AZIONE DEL CITOCROMO P450 (SCC side chain clavage, cioè rottura della catena laterale) che lega il colesterolo e agisce a livello del legame fra C20 e C22; si tratta di una ossidasi a funzione mista, quindi:
 - preleva ossigeno molecolare e lo trasforma in acqua.
 - Riduce una molecola di NADPH(H⁺) a NADP⁺.Complessivamente inserisce DUE OSSIDRILI A LIVELLO DELLA CATENA LATERALE.
- AZIONE DELLA COLESTEROLO DESMOLASI SULLA CATENA LATERALE: anche questo enzima agisce consumando due molecole di ossigeno e di NADPH(H⁺) OSSIDANDO ULTERIORMENTE LA CATENA LATERALE provocandone la rottura di modo da formare.
 - UNA MOLECOLA DI ALDEIDE ISOCAPRONICA.
 - UNA MOLECOLA DI PREGNENOLONE.

ATTRAVERSO QUESTE DUE REAZIONI VENGONO QUINDI ELIMINATI BEN 6 ATOMI DI CARBONIO DALLA CATENA LATERALE formando PREGNENOLONE (da C27 a C21).

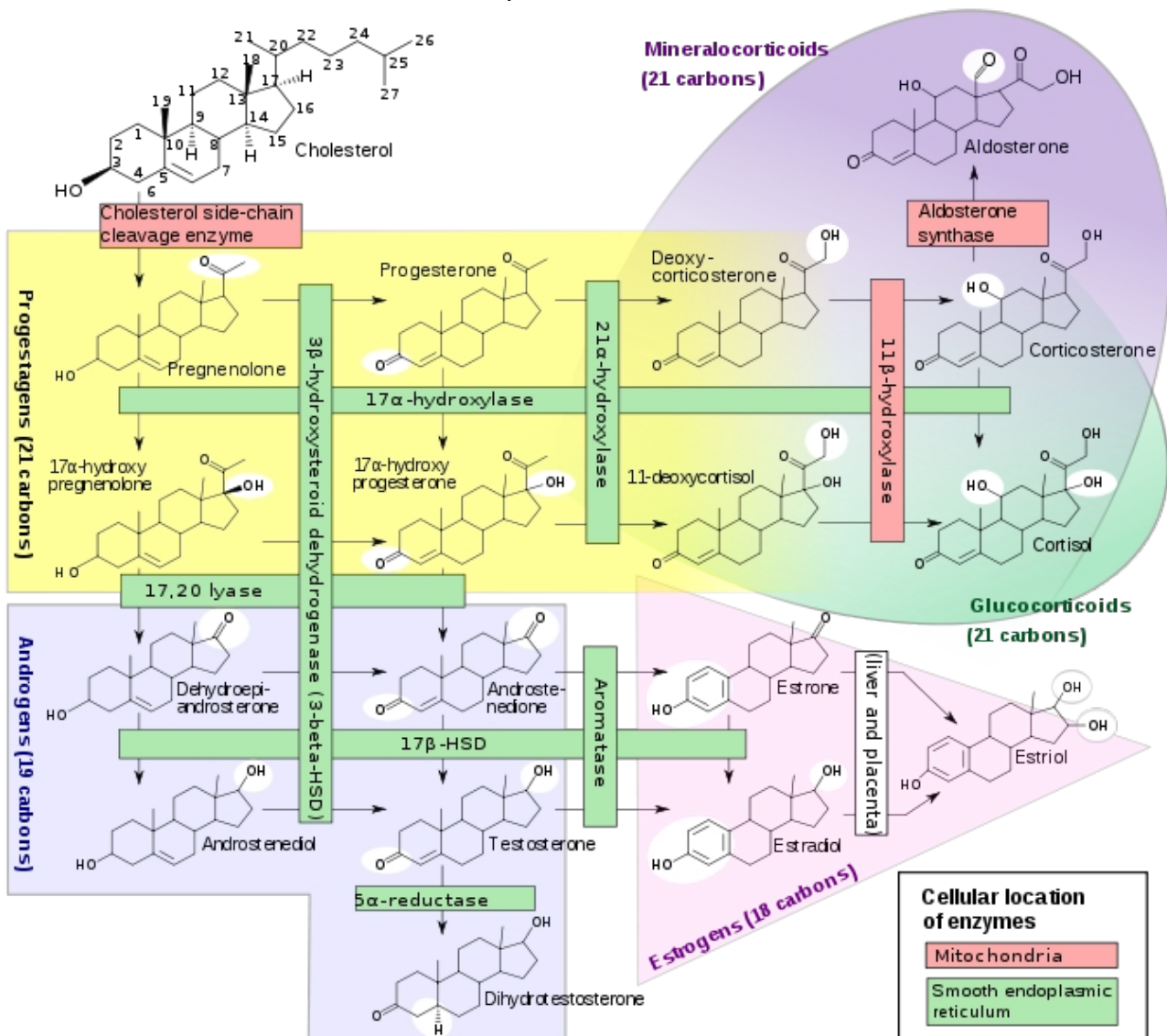
Dal PREGNENOLONE derivano per diverse vie TUTTI GLI ORMONI STEROIDEI.

Enzimi della classe P450 utilizzano una mini catena di elettroni essenziale per la attivazione dell'ossigeno molecolare, questo citocromo, al contrario dei suoi analoghi della famiglia P450, si colloca nel MITOCONDRIO, una localizzazione particolare.

BIOSINTESI DI CORTISOLO E ALDOSTERONE:

- AZIONE DELLA 3,4 DEIDROGENASI:
l'enzima agisce sull'ossidrile in posizione 3, l'OSSIDAZIONE forma un GRUPPO CHETONICO e muta la posizione della insaturazione dalla posizione 5-6 alla posizione 4-5, otteniamo così PROGESTERONE.
- OSSIDRILAZIONE DEL PROGESTERONE tramite una 17 idrossilasi che genera

17IDROSSI PROGESTERONE precursore immediato del CORTISOLO.



Questa serie di prodotti, grazie alla natura di enzima a substrato sovrapponibile della 3,4 deidrogenasi, può essere ottenuta tramite una via alternativa:

- IDROSSILAZIONE DEL PREGNENOLONE che può divenire substrato di nuovo di IDROSSILASI A FUNZIONE MISTA, sempre della classe p450; questa inserisce un ossidril in posizione 17 formando 17 IDROSSI PREGNENOLONE. Questo intermedio è un precursore degli ormoni steroidei sessuali.

Dal 17 idrossi PEGNENOLONE viene prodotto il CORTISOLO.

- AZIONE DELLA 3,4 DEIDROGENASI:
l'enzima agisce sull'ossidril in posizione 3, l'OSSIDAZIONE forma un GRUPPO CHETONICO otteniamo quindi, nelle due distinte vie metaboliche, due composti:
 - PROGESTERONE dal PREGNENOLONE.
 - 17 idrossi PROGESTERONE dal 17 idrossi PREGNENOLONE.

Contemporaneamente alla formazione del carbonile assistiamo alla isomerizzazione del doppio legame che prima si collocava in posizione 5-6 e che ora si colloca in posizione 4-5.

In ogni caso le due vie alternativa e normale si riuniscono a livello della azione della p450 21 e p450 11 idrossilasi:

- AZIONE DELLA P450 21 IDROSSILASI E P450 11 IDROSSILASI attraverso la cui azione otteniamo due idrossilazioni nelle posizioni 21 e 11; i composti che si formano per le due vie metaboliche sono:
 - CORTICOSTERONE dal PROGESTERONE.
 - CORTISOLO dal 17 idrossi PROGESTERONE; l'ormone è completo a questo punto.
- AZIONE DI UNA ULTERIORE IDROSSILASI per cui otteniamo l'inserimento di un gruppo ossidrilico su C18.
- OSSIDAZIONE DEL GRUPPO OSSIDRILICO: l'ossidrilico in posizione C18 viene ossidato ad ALDEIDE formando ALDOSTERONE.

QUESTA SERIE DI REAZIONI AVVIENE NEL RETICOLO ENDOPLASMATICO.

Geni delle citocromo P450 sono definiti CYP; questa classe di proteine consuma sempre NADPH e OSSIGENO MOLECOLARE per generare fenomeni di idrossilazione.

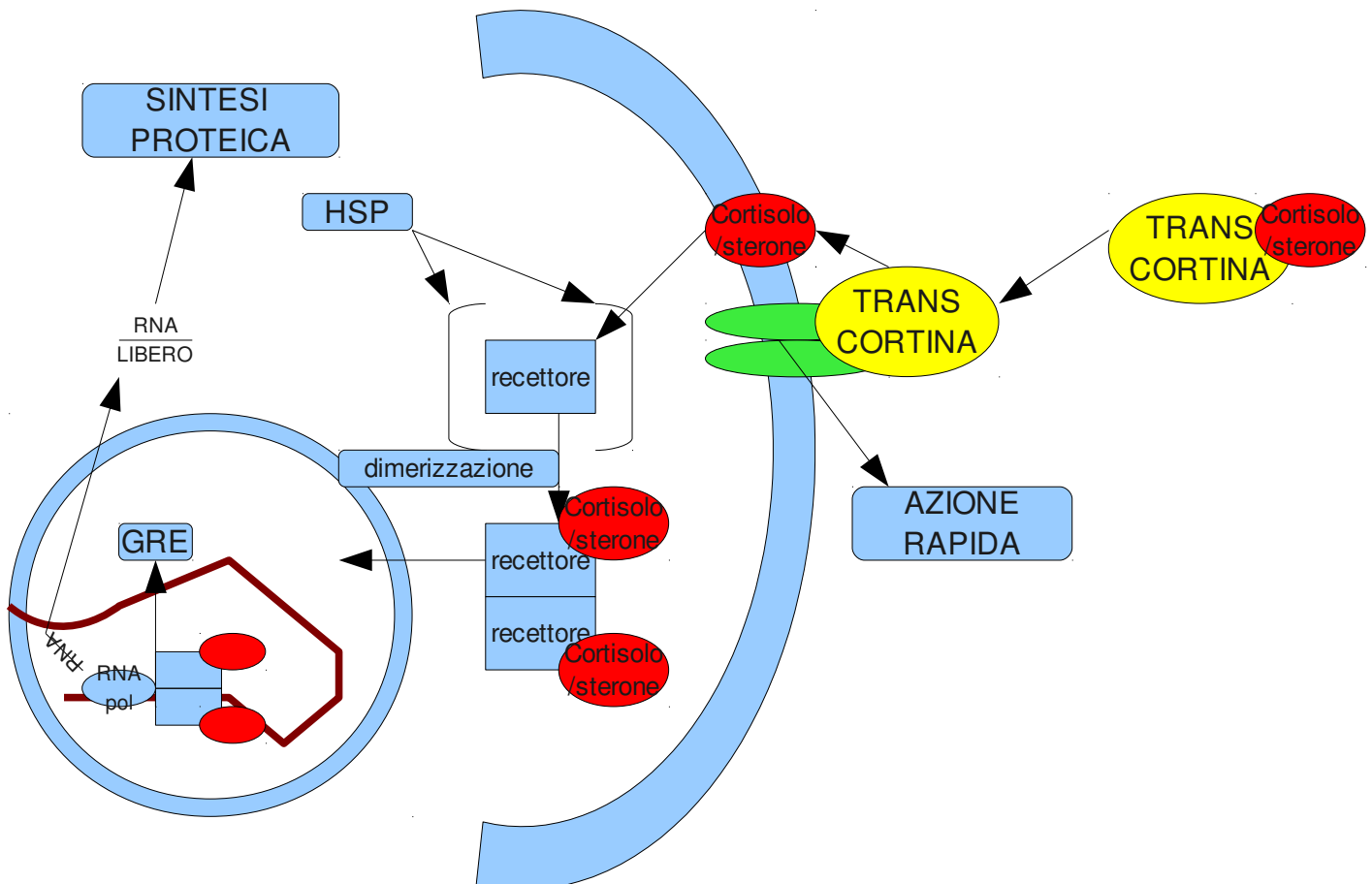
AZIONE DEGLI ORMONI CORTISOLO E ALDOSTERONE:

mineral corticoidi e glucocorticoidi vengono rilasciati dalla corteccia della ghiandola surrenale: entrambi gli ormoni sono insolubili in acqua, circolano quindi nel sangue legati ad una proteina detta TRANSCORTINA; si forma quindi un complesso ovviamente fra la transcortina e l'ormone; questo complesso presenta un RECETTORE A LIVELLO DELLA MEMBRANA CELLULARE che media il trasporto facilitato dell'ormone a livello del citoplasma (si tratta di un ormone insolubile), QUESTI ORMONI, infatti, SI LEGANO A RECETTORI INTRACELLULARI, in particolare CITOPLASMATICI, che presentano una struttura abbastanza conservata, normalmente l'azione si svolge in questo modo:

- in una situazione di non stimolazione il RECETTORE è complessato a delle HIT SHOCK PROTEIN che lo tengono fermo e inattivo nel citosol.
- Giunto l'ormone e formato un primo complesso con il recettore, il RECETTORE SI DISSOCIA DALLA HSP.
- il COMPLESSO RECETTORE ORMONE, dopo aver subito ulteriori modificazioni a livello conformazionale, SI LEGA AD UN SUO OMOLOGO DIMERIZZANDO.
- il dimero viene eventualmente fosforilato e MIGRA NEL NUCLEO.
- Nel nucleo si lega al DNA su una sequenza CONSENSO detta GRE o glucocorticoid response element (famiglia delle HRE) attraverso l'utilizzo di DITA DI ZINCO.
- ATTIVAZIONE DEI FATTORI DI TRASCRIZIONE e conseguente ATTIVAZIONE DELLA TRASCRIZIONE con legame della RNA polimerasi alla sequenza adatta.

Questa modalità di azione è piuttosto lenta, tuttavia è possibile per azione del medesimo

ormone, UNA VIA METABOLICA VELOCE, ancora non molto chiara, che coinvolge la REAZIONE DELLA CELLULA AL LEGAME DEL COMPLESSO CARRIER-ORMONE CON IL SUO RECETTORE DI MEMBRANA che generalmente media il TRASPORTO FACILITATO dell'ormone nella cellula.



AZIONE METABOLICA DEL CORTISOLO: anzitutto è necessario sottolineare il fatto che il cortisolo è un ormone PERMISSIVO (cioè la sua presenza non è, teoricamente essenziale), tuttavia la sua presenza è così importante che in sua assenza in condizioni normali sopraggiunge la morte in pochi giorni, si tratta di un ormone iperglicemico, in particolare agisce in questo modo:

- A LIVELLO EPATICO determina AUMENTO DELLA GLUCONEOGENESI inducendo i diversi enzimi essenziali per la sua formazione:
 - in particolare la FOSFOENOL PIRUVATO CARBOSSI CHINASI che converte ossalacetato in PEP.
 - fruttosio 1,6di fosfato fosfatasi.
 - glucosio 6 fosfato fosfatasi.

In questo modo la gluconeogenesi viene attivata.

La GLUCONEOGENESI è possibile, in una situazione di stress prolungato, unicamente a spese di alfa chetoacidi derivati dalla deaminazione di aminoacidi che giungono al fegato attraverso la circolazione sanguigna.

- A LIVELLO MUSCOLARE aumenta la PROTEOLISI: il cortisolo stimola la proteolisi di proteine miofibrillari (actina e miosina) con produzione di peptidi che vengono riversati nel circolo sanguifero per essere poi assorbiti a livello epatico (il medesimo meccanismo viene utilizzato per la distruzione di proteine malformate). La degradazione delle proteine in questione avviene per UBIQUITINAZIONE proteica, fenomeno estremamente importante: si tratta di un meccanismo di catabolizzazione ESTREMAMENTE CONSERVATO che utilizza tre enzimi E1, E2 ed E3 indotti dal CORTISOLO. IL CORTISOLO AUMENTA LA VELOCITÀ DELLA UBIQUITINAZIONE. La molecola ubiquitinata viene trasportata a livello di una struttura sovramolecolare a botte cava detta PROTEOSOMA caratterizzata dalla presenza di due parti:
 - R o regolatrice che lega le molecole UBIQUITINATE e le FA PASSARE NELLA STRUTTURA.
 - C o catalitiche che DISTRUGGONO LE MOLECOLE UBIQUITINATE, ciascuna molecola C PRESENTA UNA SPECIFICITÀ PROTEOLITICA ELEVATA.

Al termine del processo otteniamo una serie di aminoacidi. Alcune subunità C del proteosoma sono stimulate dal cortisolo.

Il CORTISOLO viene liberato sotto effetto dell'ACTH, non risponde ad una necessità immediata dell'organismo come invece fanno glucagone e insulina; attraverso la sua azione possiamo dire che INCREMENTA LA GLICEMIA, in conseguenza stimola le cellule beta del pancreas nella INCREZIONE DI INSULINA:

- NEL MUSCOLO la INSULINA trova il RECETTORE GLUT4 per il GLUCOSIO BLOCCATO DAL CORTISOLO non ha quindi effetto sul muscolo che continua la sua opera di distruzione proteica.
- A LIVELLO ADIPOSO si riscontrano due effetti fondamentalmente:
 - il cortisolo inibisce la PEP CK (PEP carbossi chinasi) con conseguenti:
 - diminuzione di PEP.
 - Diminuzione della produzione di GLICEROLO 3P nella gluconeogenesi.
 - IMPOSSIBILITÀ DI ESTERIFICARE GLI ACIDI GRASSI con conseguente INCREMENTO DELLA LIPOLISI. (morbo di Cushing si tratta di un morbo che genera diminuzione della massa muscolare e adiposa in conseguenza alla secrezione continua ed esagerata di cortisolo).
 - L'INSULINA, liberata in conseguenza all'aumento della glicemia, STIMOLA LA LIPOGENESI in particolare a livello dell'OMENTO in quanto:
 - ADIPOCITI del livello sottocutaneo presentano una sensibilità inferiore alla insulina e subiscono l'effetto della azione anti lipogenetica del cortisolo che invece a livello epatico può non essere avvertita per la presenza di

glicogeno.

- ADIPOCITI a livello addominale ricevono uno stimolo alla lipogenesi.

QUINDI a livello adiposo il cortisolo provoca DIMINUIZIONE DELLA MASSA GRASSA SOTTOCUTANEA ma parallelo AUMENTO DELLA MASSA GRASSA ADDOMINALE.

- ALTRI BERSAGLI DI QUESTO ORMONE SONO:

- cervello.
- Tessuto osseo.
- Tessuto connettivo.
- Sistema cardiovascolare.
- Rene: a livello del quale presenta effetto simile all'aldosterone.
- Sistema immunitario; agisce sostanzialmente sulla FOSFATIDIL COLINA, fosfolipide presente in tutte le cellule, questa può essere idrolizzata da una fosfolipasi A2 con conseguente liberazione di ACIDO ARACHIDONICO, acido grasso a 20 atomi di carbonio triinsaturo che può divenire substrato di diversi enzimi ossidanti essenziali per la produzione di EICOSANOIDI:

- CICLOOSSIGENASI o COX che produce:

- prostaglandine.
- Trombossani.

Tipicamente provocano vasodilatazione;

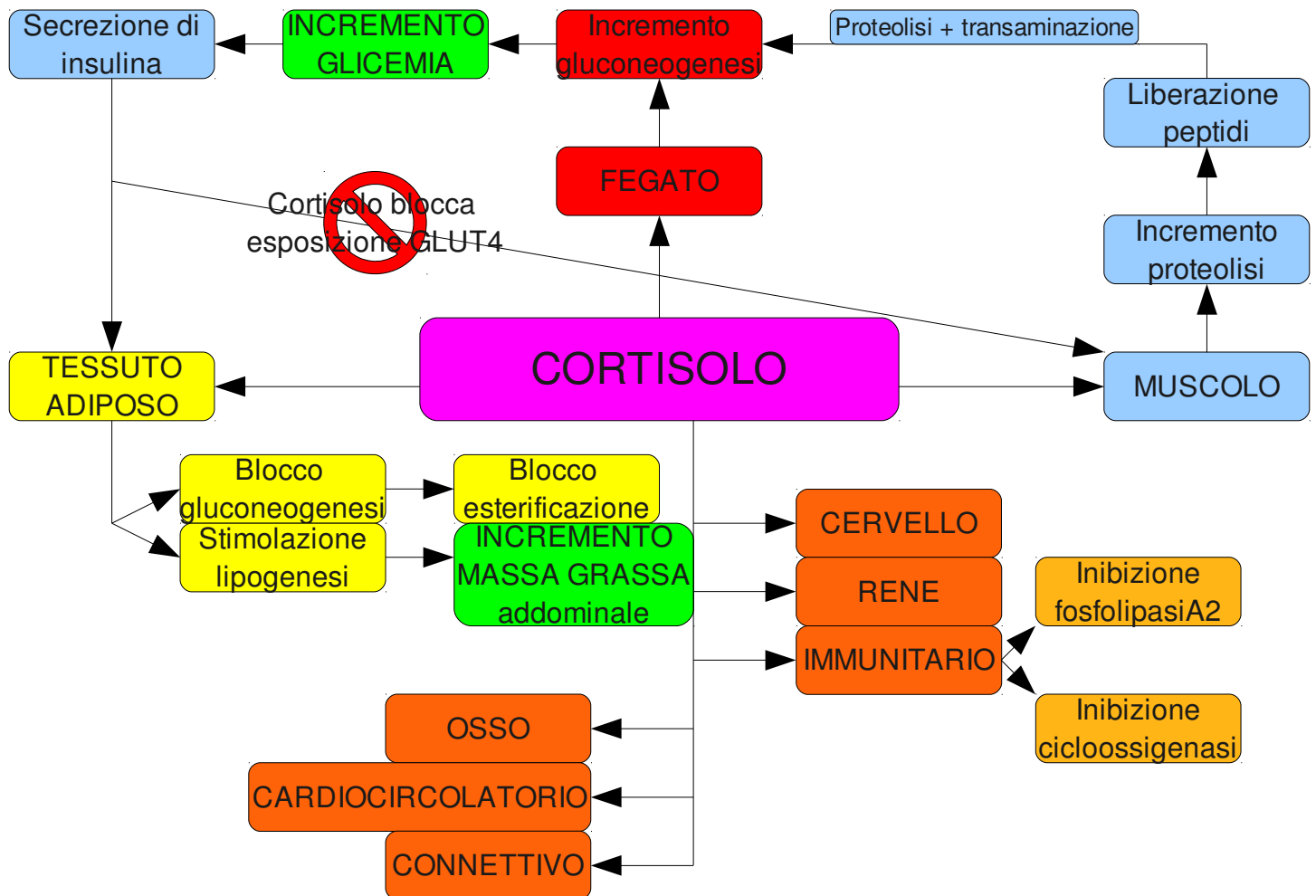
- LIPOOSSIGENASI o LOX che produce:

- leucotrieni.

Che stimolano la fagocitosi.

IL CORTISOLO a riguardo va ad INIBIRE:

- FOSFOLIPASI A2 che produce acido arachidonico e quindi abbassa in linea generale la produzione di tali composti.
- CICLOOSSIGENASI e quindi la produzione di prostaglandine.



IL CORTISOLO nel sangue si trova in equilibrio con il suo prodotto di ossidazione il CORTISONE, ottenuto tramite ossidazione mediata dal NAD⁺ per azione di una deidrogenasi detta type1; questo composto presenta l'ossidril in posizione 11 ossidato a carbonile, è importante sottolineare che:

- IL CORTISOLO è attivo.
- IL CORTISONE è inattivo.

IL CORTISONE viene ritrasformato in CORTISOLO da una DEIDROGENASI DETTA TYPE 2; questo avviene perché è necessario in alcuni casi limitare la concentrazione di cortisolo nel sangue in particolare perché:

- la situazione di stress non porti ad esacerbazione di date condizioni.
- nel caso in cui vi sia una eccessiva concentrazione di CORTISOLO questo A

LIVELLO RENALE SI LEGA AI RECETTORI DELL'ALDOSTERONE stimolando le cellule responsabili dell'aumento della pressione arteriosa, ABBIAMO QUINDI UN EFFETTO IPERTENSIVO NOTEVOLE.

A volte vista la elevatissima concentrazione di CORTISOLO la velocità di inattivazione dello stesso da parte della deidrogenasi type1, presente a livello renale, non è sufficientemente elevata, e si assiste ad un incremento incontrollato della pressione arteriosa.

La deidrogenasi type1 è inibita da GLICIRIZINA, il principio attivo della liquirizia, questa INIBENDO LA INATTIVAZIONE DEL CORTISOLO INCREMENTA IL SUO EFFETTO IPERTENSIVO.

A livello EPATICO, inoltre, la attività del CORTISOLO può essere inibita per glucuronazione: si tratta della formazione di un legame covalente fra il cortisolo e l'acido glucuronico per dare CORTISOLO GLUCORONIDE.

CORTISOLO viene prodotto dalla parte fascicolata della corticale del surrene, su stimolo esterno, sono presenti ovviamente dei recettori a livello cellulare che, legato il recettore, attivano la biosintesi delle molecole ormonali.

Il controllo della PRODUZIONE E RILASCIO DEL CORTISOLO si colloca nel CERVELLO in particolare nell'IPOTALAMO nel quale si collocano due nuclei:

- sopraottico che sintetizza OSSITOCINA.
- Paraventricolare: dal quale origina, in ultima istanza, lo stimolo, i neuroni qui presenti sono sensibili al livello ematico di CORTISOLO (o CORTISOLEMIA) possiamo dire che:
 - CORTISOLEMIA BASSA → il rilascio del trasmettitore avviene nelle vescicole del terminale sinaptico, anche se non si tratta di vero e proprio neurotrasmettitore, questo fattore è il CORTICOTROPIN RELEASING FACTOR o CRF che agisce in questo modo:
 - VIENE SECRETO NELLA IPOFISI ANTERIORE o ADENOIPOFISI, si tratta della parte anteriore di una ghiandola endocrina che si colloca a livello della sella turcica dello sfenoide (caratterizzata dalla presenza di una composizione cellulare mista); l'ipotalamo riversa il suo contenuto a livello di un sistema capillare portale che è in contatto con la eminenza mediana (parte della adenoipofisi).
 - VA AD AGIRE SULLE CELLULE CORTICOTROFE: si tratta di quelle cellule che nutrono e attivano le cellule della corteccia surrenale, qui si colloca un recettore di membrana per la CRF.
 - ATTIVAZIONE DI UN SECONDO MESSAGGERO che stimola la secrezione dell'ormone che andrà ad agire poi sulla corticale del surrene detto ACTH.
 - SECREZIONE DI ACTH o ORMONE ADENOCORTICOTROPO.
 - CORTISOLO ALTO → feedback negativo, viene inibita la produzione del fattore di rilascio per l'ACTH e di conseguenza viene meno lo stimolo alla produzione e

secrezione di ACTH stesso.

Possiamo quindi dire che ALL'ABBASSAMENTO DELLA CORTISOLEMIA CONSEGUE LA SECREZIONE DI ACTH, che agisce sulle cellule della surrenale.

ACTH: viene detto anche adenocorticotropina, si tratta di un PEPTIDE che deriva da un PEPTIDE DI MAGGIOR DIMENSIONE detto POMC pro opiomelanocortina; per proteolisi del POMC si ottengono diversi ormoni anche se il prodotto di maggiore importanza e quantità è sicuramente L'ACTH; questo fattore viene definito pro opiomelanocortina perché :

- da POMC vengono ricavati anche oppioidi, l'effetto della eroina e dell'oppio è mediato dai recettori già presenti per gli oppiacei endogeni ricavati dal POMC; gli oppiacei endogeni vengono rilasciati in caso di traumi gravi per aiutare a sopportare il dolore
- da POMC si ricava anche l'ormone melanostimolante.

ACTH:

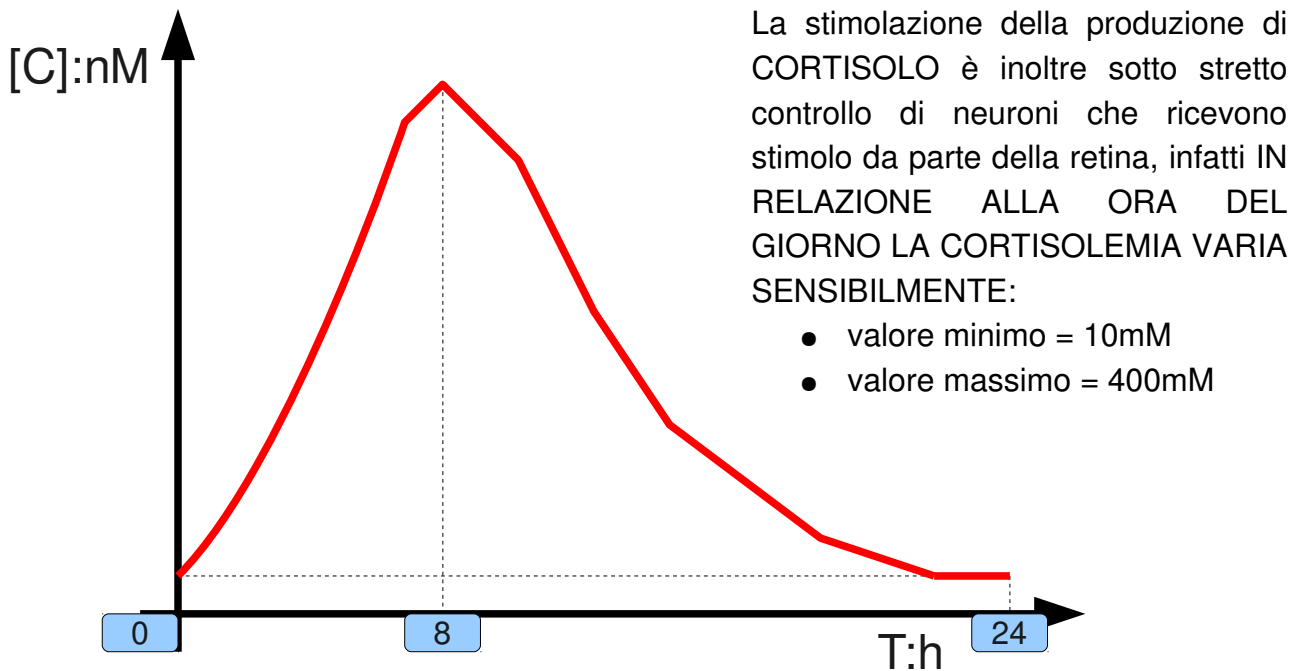
- RAGGIUNGE LE CELLULE DELLA CORTECCIA DELLA ghiandola surrenale.
- SI LEGA AD UN RECETTORE SPECIFICO accoppiato ad una G protein.
- PROVOCA INCREMENTO DI cAMP.
- STIMOLA LA FOSFORILAZIONE mediata dalla protein chinasi A di vari substrati cui consegue
- ATTIVAZIONE DI:
 - colesterolo esterasi che idrolizza gli esteri del colesterolo incrementandone la concentrazione intracellulare.
 - Sistema di trasporto del colesterolo al mitocondrio.
 - Operatività del P450_{scc} che stimola la trasformazione del colesterolo in PREGNENOLONE.

LA MEDESIMA FORMA DI CONTROLLO È RELATIVA ANCHE AD ORMONI SESSUALI E ORMONI TIROIDEI.

Naturalmente le cellule dell'ipotalamo sono strettamente regolate da altre parti del cervello.

L'EFFETTO del CORTISOLO è responsabile sovente di aspetti psicosomatici legati allo stress che emergono in particolare con sintomi come:

- IPERTENSIONE.
- ABBASSAMENTO DELLE DIFESE IMMUNITARIE.



possiamo dire che incrementa la mattina per diminuire la sera; il livello di cortisolo è anche fortemente controllato dai ritmi vitali dell'individuo: in particolare in caso di ritmi vitali diversi dal normale ciclo giorno-notte la concentrazione di cortisolo nella giornata non risponderà al grafico sopra presentato. In caso di DEPRESSIONE ci troviamo in una situazione di stress tale per cui il CORTISOLO non cala nei momenti di riposo e non cresce nei momenti di stress, ma resta stabile a livelli elevati.

IL CORTISOLO È L'ORMONE DELLO STRESS PROLUNGATO, l'effetto principale del CORTISOLO, nonostante i numerosi effetti deleteri dell'ormone stesso, come la diminuzione della massa muscolare, è di AUMENTARE LA GLICEMIA; in caso di stress FISICI inoltre il CALO DELLA INFIAMMAZIONE stimola la riparazione della struttura lesa, un eccesso infiammatorio, infatti, è deleterio alla guarigione, per questo viene secreto il cortisolo. Quindi gli effetti complessivi sono di:

- AUMENTARE LA GLICEMIA.
- IMPEDIRE CHE LA AZIONE DEL MUSCOLO LA ABBASSI (inibizione del glut4).
- STIMOLARE LA RIPARAZIONE DELLE STRUTTURE LESE.

ALDOSTERONE: si tratta di un meccanismo essenziale di controllo del livello di sodio e cloruro ematici, possiamo dire che STIMOLA IL RIASSORBIMENTO DEGLI IONI SODIO E POTASSIO a livello RENALE e conseguentemente il RIASSORBIMENTO DI ACQUA che i due ioni, fortemente idratati, mantengono legata, di conseguenza assistiamo ad:

- un incremento della PRESSIONE ARTERIOSA.
- NESSUNA VARIAZIONE DELLA PRESSIONE OSMOTICA né a livello capillare, né arterioso, né venoso.

Lo ione sodio è il principale ione extracellulare e con la sua azione OSMOTICA è essenziale per il controllo di:

- pressione osmotica.
- Volume plasmatico (trasudazione a livello dei microcircoli).
- Controllo del livello dei liquidi corporei in generale.

Le ultime teorie suggeriscono che il sistema di controllo del livello di fluidi corporei si sia evoluto con lo sviluppo delle necessità, in particolare:

- ANTICHITÀ: l'introito di sale era basso e il livello di controllo era, conseguentemente, adeguato a conservarne il più possibile.
- CON LA CONSERVAZIONE SALINA DEI CIBI si assiste ad un conseguente incremento dell'introito di sale e conseguente adattamento del corpo a tali esigenze.
- OGGI CON L'IPERTENSIONE: l'introito di SODIO deve essere tenuto sotto controllo in quanto il SODIO è la PRINCIPALE FORMA DI CONTROLLO DELLA PRESSIONE ARTERIOSA.

Il livello del riassorbimento RENALE del SODIO è controllato da alcune proteine essenziali:

- EnaC epithelial Na⁺ channel: si tratta di un canale di membrana IONICO che consente l'ingresso di sodio a livello cellulare.
- NHE sodium proton exchanger: sistema di trasporto attivo secondario che accoppia in un sistema di ANTIPORTO:
 - USCITA DI PROTONI DALLA CELLULA.
 - INGRESSO DEL SODIO NELLA CELLULA.Stimola, quindi, il riassorbimento del sodio ed è responsabile della acidità delle urine; a livello dello STOMACO il medesimo sistema è responsabile del controllo della ACIDITÀ GASTRICA.
- POMPA DI INGRESSO: si tratta di nuovo di un sistema di trasporto attivo secondario che con un meccanismo di SIMPORTO consente l'ingresso nella cellula contemporaneamente di:
 - UNO IONE SODIO.
 - DUE IONI CLORURO.
 - UNO IONE POTASSIO.

TUTTI QUESTI SISTEMI DI ASSORBIMENTO DEL SODIO SONO STIMOLATI, a diversi livelli nel nostro organismo, DALLA AZIONE DELL'ALDOSTERONE.

Il sodio accumulato attraverso questi sistemi nella cellula può essere RIVERSATO A LIVELLO EMATICO grazie alla POMPA SODIO POTASSIO ATPasi che è stimolata dall'ALDOSTERONE (l'omeostasi del potassio viene regolata anche dal sistema di controllo della concentrazione di potassio intracellulare).

CONTROLLO DELLA SECREZIONE DELL'ALDOSTERONE: anche in questo caso la regolazione della secrezione non è affidata alla percezione diretta della necessità fisica da

parte della ghiandola, ma viene controllata dalla ANGIOTENSINA2: si tratta di un sistema di controllo che parte dal RENE; a livello del GLOMERULO RENALE, luogo dal quale origina lo stimolo, si riconoscono:

- arteriola AFFERENTE → a questo livello sono presenti delle cellule MIOEPITELIALI, dette anche JUXTA GLOMERULARI in virtù della loro vicinanza al glomerulo renale, caratterizzate da:
 - presenza di fibre muscolari e conseguente capacità di PERCEPIRE LA PRESSIONE IDROSTATICA DELLA ARTERIOLA che corrisponde, di fatto, alla pressione arteriosa.
 - Capacità di secrezione, in particolare:
 - PERCEZIONE CALO DI PRESSIONE: secrezione di RENINA, si tratta di una proteasi che agisce sull'ANGIOTENSINOGENO, si tratta di una proteina plasmatica sintetizzata nel fegato, per azione proteolitica della renina diviene ANGIOTENSINA I, questa:
 - diviene substrato di una seconda PROTEASI che provoca la formazione di ANGIOTENSINA II, la proteasi che si occupa di questa seconda reazione è la ACE angiotensin converting enzyme, che è bersaglio di numerosi farmaci per la ipertensione (blocco della formazione di angiotensina II).
 - ANGIOTENSINA II agisce sulla CORTICALE DEL SURRENE andando a STIMOLARE L'AUMENTO DELLA PRODUZIONE DI ALDOSTERONE.
 - LA RENINA VIENE SECRETA ANCHE in CONSEGUENZA AD UN ALTRO TIPO DI STIMOLAZIONE: si tratta di stimolazione da parte di cellule del TUBULO DISTORTO DISTALE DEL RENE dette CELLULE DELLA MACULA Densa; queste cellule:
 - percepiscono la differenza di concentrazione di sodio fra arteriola afferente e tubulo distorto e comunicano con le cellule JUXTA GLOMERULARI stimolandole o inibendole.
 - PERCEZIONE DI AUMENTO DI PRESSIONE: inibizione della produzione di renina.
- GLOMERULO.
- Arteriola EFFERENTE.

Attraverso i quali scorre di fatto l'ormone secreto

L'ANGIOTENSINA II trova il suo recettore SPECIFICO a livello della struttura cellulare della corticale del surrene: l'AT1 o angiotensin1, in seguito al legame fra ormone e recettore assistiamo ad:

- ATTIVAZIONE DELLA PROTEINA G legata al recettore.
- INCREMENTO DELLA FOSFOLIPASI C e conseguente attivazione del sistema di trasmissione interno del segnale mediato dalla produzione di:
 - IP3.

- DIACIL GLICEROLO.

Cui consegue:

- INCREMENTO DEL Ca^{++} citosolico.
- ATTIVAZIONE DELLA PKC.
- STIMOLAZIONE DELLA PRODUZIONE DI ALDOSTERONE.

L'angiotensina II inoltre agisce anche sulle ARTERIOLE dove determina VASOCOSTRIZIONE.

AGENDO a livello della ghiandola surrenale e a livello delle arteriole AUMENTA LA PRESSIONE ARTERIOSA.

ORMONI COINVOLTI NELLA REGOLAZIONE DELLA PRESSIONE ARTERIOSA:

oltre all'aldosterone e alla adrenalina ricordiamo due fattori essenziali per la regolazione della pressione arteriosa:

- FATTORE NATRIURETICO ATRIALE: che viene sintetizzato dall'atrio destro nel caso di un aumento della pressione arteriosa attraverso un meccanismo di questo tipo:

aumento del volume sanguigno in arrivo all'atrio destro → incremento della dilatazione dell'atrio → rilascio di ANF = fattore natriuretico atriale,

SI TRATTA DELL'ORMONE ANTAGONISTA DELL'ALDOSTERONE.

L'ormone natriuretico senoatriale è caratterizzato dalla capacità di legarsi ad un recettore di membrana estremamente semplice, un polipeptide, che provoca una serie di reazioni intracellulari che porta alla IDROLISI del cGMP in GMP, si tratta di un recettore ad attività catalitica, immediata e senza mediazione di Gprotein.

- ORMONE ANTIDIURETICO, ADH o VASOPRESSINA: ormone prodotto dal nucleo paraventricolare dell'ipotalamo, secreto dalla ipofisi posteriore che contiene i terminali assonici dei due nuclei ipotalamici (sopraottico e paraventricolare che producono rispettivamente OSSITOCINA e VASOPRESSINA).

L'ADH agisce sulle cellule tubulari renali attraverso un meccanismo già visto per la azione di molti altri ormoni:

- attivazione della Gprotein.
- Innesco del sistema IP3-diacilglicerolo.
- STIMOLAZIONE ALLA produzione di ACQUAPORINA.

L'ACQUAPORINA è la proteina che regola il passaggio di acqua, e quindi la sensibilità OSMOTICA, nelle cellule: questa viene RAPIDAMENTE RECLUTATA in seguito a stimolazione da parte dell'ADH a livello della MEMBRANA cellulare ed è essenziale per consentire il passaggio di liquidi dal tubulo renale verso la cellula e quindi il vaso sanguifero.

L'azione di questo ormone diminuzione della secrezione di liquidi con le urine e una conseguente incrementata concentrazione delle stesse.

GLI ORMONI TIROIDEI:

gli ormoni tiroidei sono sintetizzati dalla ghiandola tiroide (ghiandola posta nella parte anteriore del collo) si tratta di ORMONI AMMINOACIDICI che derivano cioè da un amminoacido, in questo caso DALLA TIROSINA. La sintesi di tali ormoni avviene a livello del FOLLICOLO TIROIDEO: si tratta di una struttura di sezione circolare circondata dai tireociti e cava all'interno, le cellule secernono una serie di molecole proteiche che vanno a comporre la COLLOIDE composta principalmente di TIREOGLOBULINA, si tratta della proteina precursore degli ormoni tiroidei ed è caratterizzata da:

- PM 660000 (10 volte l'albumina).
- Particolarmente ricca, ovviamente, in residui di TIROSINA.

La FORMAZIONE DEGLI ORMONI a partire dalla tireoglobulina avviene come segue:

- IODURAZIONE: si inseriscono sulla struttura aromatica della tirosina uno o due ioni ioduro con consumo di una o due molecole di perossido di idrogeno e produzione di acqua; complessivamente si assiste alla formazione di:
 - 3,5 DIODO TIROSINA o DIT, la tirosina ovviamente è ancora legata alla molecola di tireoglobulina,
 - 3 MONOiodo TIROSINA o MIT che in ogni caso resta legata alla molecola di tireoglobulina.

La reazione in questione è catalizzata dalla CATALASI.

si tratta in ogni caso di un fenomeno di ORGANICAZIONE DELLO IODIO.

LO IODIO arriva alla tiroide attraverso il circolo dal SANGUE e accede alla struttura cellulare attraverso un trasportatore specifico che sfrutta un sistema di COTRASPORTO con il SODIO e viene detto NaIC (Na^+ I $^-$ cotransporter; si tratta di un trasporto attivo secondario mantenuto in attività dal gradiente generato dalla pompa sodio potassio ATPasi; il trasporto attivo è necessario visto il gradiente dello iodio: la concentrazione nel tireocita è 20 volte quella presente nel sangue).

- MIT e DIT vengono ulteriormente modificate tramite CONDENSAZIONE, due molecole vicine si legano una all'altra con formazione di:
 - PRECURSORE DEL T3 → in particolare formato da MIT+DIT.
 - PRECURSORE DEL T4 → formato in particolare da DIT+DIT.
- STIMOLO ORMONALE; si tratta di uno stimolo che arriva dalla IPOFISI attraverso l'ormone TIREOSTIMOLANTE, questo:
 - LI LEGA AL RECETTORE.
 - STIMOLA L'INCREMENTO DI cAMP.
 - TUTTO QUESTO STIMOLA:
 - endocitosi della colloide.
 - proteolisi della TIREOGLOBULINA.

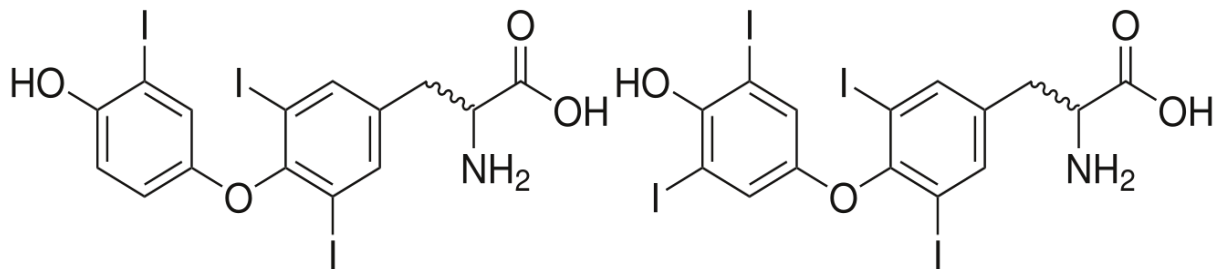
■ FORMAZIONE DEI DUE ORMONI T3 E T4.

La proteolisi della tireoglobulina produce quindi di fatto gli ormoni; dalla proteolisi della molecola vengono prodotti:

1. T3 → TRIIODOTIRODINA.
2. T4 → tetraiodotirodina o TIROXINA.

Che vengono riversati in circolo.

3. MIT E DIT: vengono deiodinati da una deiodinasi specifica che libera iodio nella cellula.



IL DISTACCO PROTEOLITICO delle componenti avviene per gradi grazie alla colloide: la colloide tiene insieme in un'unica molecola tutti i precursori di modo che questi NON ESERCITINO UNA PRESSIONE OSMOTICA ECCESSIVAMENTE ELEVATA come avverrebbe ovviamente in presenza di amminoacidi liberi.

PROTEINE VETTORE: i due ormoni T3 e T4 liberati nel sangue si associano a delle proteine specifiche in particolare:

- TBG o thyroxin binding protein.
- ALBUMINA.

AZIONE DELL'ORMONE: veicolato dalla molecola proteica giunge al suo organo bersaglio dove trova il suo recettore NUCLEARE e produce una azione STIMOLATORIA RISPETTO A TUTTI I GENI DI PROLIFERAZIONE E CRESCITA. L'ormone tiroideo è un ormone che:

- nell'età evolutiva è essenziale allo SVILUPPO PSICOFISICO (in caso di carenze si assiste all'insorgenza di CRETINISMO), in particolare possiamo dire che la sua funzione ANABOLICA STIMOLA LA TRASCRIZIONE PER INCREMENTO DELLA ATTIVITÀ DELLA RNA POLIMERASI DNA DIPENDENTE.
- In età adulta è essenziale per le sue azioni CATABOLICHE, in particolare:
 - AUMENTO DEL METABOLISMO BASALE.
 - AUMENTO DEL CONSUMO DI OSSIGENO.
 - TERMOGENESI.

Mantiene in ogni caso una funzione anabolica anche in età adulta, ma questa è meno rilevante; in età adulta la stimolazione degli ormoni TIROIDEI è DISTRIBUITA A TUTTO IL CORPO eccetto che:

- CERVELLO.
- MILZA.
- GONADI.

EFFETTO CELLULARE DEL T4:

- INCREMENTA LA AZIONE DELLA SODIO-POTASSIO ATPasi, si tratta del trasportatore di membrana che consente il mantenimento del potenziale di membrana, maggiore è il numero delle pompe, maggiore è il consumo di ATP maggiore è il METABOLISMO BASALE, considerando soprattutto che tale pompa assorbe il 20% dell'ATP prodotto (mancanza della Na+K+ATPasi significa perdita del potenziale di membrana e conseguente morte cellulare).
- STIMOLA LA GLICEROLO 3P DEIDROGENASI che esiste in due isoforme:
 - forma mitocondriale che è FAD dipendente.
 - Forma citosolica che è NAD+ dipendente.Si tratta di uno dei sistemi shuttle che consente il trasporto degli equivalenti riducenti dal citosol al mitocondrio; complessivamente questa azione incrementa:
 - CONSUMO di metaboliti.
 - INCREMENTO ALLA GLICOLISI che dipende dalla disponibilità di NAD+ garantita proprio dal passaggio di equivalenti al mitocondrio.
- UCP si tratta di uncoupling protein, sono dei DISACCOPIANTI ENDOGENI, molecole che cioè vanno a disaccoppiare la associazione dei processi di consumo di equivalenti riducenti e di produzione di ATP, questo avviene per la azione diretta delle uncoupling protein stesse che vanno ad eliminare il gradiente protonico mitocondriale, A QUESTO CONSEGUE LA PRODUZIONE DI CALORE QUINDI:
 - IPERTIROIDISMO → il paziente sente caldo.
 - IPOTIROIDISMO → il paziente sente freddo.
- STIMOLA LA PRODUZIONE DI CITOCROMI che vengono prodotti dal DNA mitocondriale e garantiscono lo SMALTIMENTO DEGLI EQUIVALENTI.

Il CATABOLISMO DEL T4 avviene nel FEGATO per GLUCURONAZIONE; viene associato un GLUCOURONIDE all'ossidrile libero del secondo anello del T4 per azione della GLUCURONIL TRASFERASI che ricava il glucuronide dall'UDP glucuronato (stesso destino del cortisolo a livello epatico).

CONTROLLO DELLA SECREZIONE DEGLI ORMONI TIROIDEI: anche in questo caso il rilascio dell'ormone è regolato a distanza dal sistema ipotalamo-ipofisi tramite il rilascio rispettivamente di TSH (o tireostimolante), secreto dalle cellule TIREOTROFE della ipofisi, e TRF (o fattore di rilascio del TSH); il sistema è regolato come segue:

- CONTROLLO IPOFISARIO ATTRAVERSO INIBIZIONE DA FEEDBACK: la PRODUZIONE IPOFISARIA di TSH è INIBITA DA ECCESSIVE CONCENTRAZIONI di T3 e T4; in particolare T3 inibisce la produzione di TSH.
- CONTROLLO IPOTALAMICO ATTRAVERSO STIMOLAZIONE DA FEEDBACK: in mancanza di T3 e T4 l'ipotalamo viene stimolato a secernere TRF (fattore di rilascio del TSH) che stimola la produzione di TSH che a sua volta stimola la produzione di ormoni tiroidei.

IN CASO DI DEFICIENZA CRONICA NELLA ASSUNZIONE DI IODIO assistiamo

all'instaurarsi di una forma patologica detta IPERTROFIA COMPENSATORIA che si estrinseca nel GOZZO, questo avviene perché:

- le concentrazioni di T3 e T4 sono al di sotto della soglia critica.
- Si perde il controllo della STIMOLAZIONE MEDIATA DA TSH che viene SECRETO CONTINUATIVAMENTE senza nessun controllo.
- La STIMOLAZIONE CONTINUA DELLA TIROIDE provoca inevitabilmente IPERTROFIA vista la IMPOSSIBILITÀ DI SODDISFARE LA RICHIESTA DI SINTESI (assenza di iodio).

Il TSH è un ormone di natura peptidica, in particolare glicoproteica, caratterizzato dalla presenza di due subunità: una subunità alfa, comune a LH ed FSH, ed una subunità beta specifica. La presenza della componente glucidica è essenziale al mantenimento della proteina nella sua forma attiva.

A livello tissutale il T4 viene spesso convertito a T3 che risulta fisiologicamente più attivo sia livello di azione sia a livello di controllo da feedback; l'enzima che si occupa di questa reazione è una deiodinasi specifica che elimina un atomo di iodio a livello dell'anello più lontano rispetto al gruppo amminico; questo avviene perché l'isomero della T3 che presenti un solo iodio a livello del ciclo più vicino al gruppo amminico risulta inattiva.

REGOLAZIONE DELLA MASSA CORPOREA

La massa corporea è un indice dal carattere individuale ma che viene generalizzato utilizzando un parametro detto BMI, o indice di massa corporea, che corrisponde al rapporto tra la massa espressa in chilogrammi e l'altezza espressa in metri al quadrato.

$$\text{BMI} = \text{peso Kg} / \text{altezza}^2$$

possiamo dire che ad un BMI fra 20 e 25 corrisponde un individuo NORMOPESO.

In soggetti normali a seconda del momento e dell'introito calorico si assiste a variazioni di tale parametro ritenute normali, del 10% generalmente; queste variazioni sono dovute principalmente al variare di:

- Apporto calorico.
- Consumo di calorie che dipende, di fatto, dal metabolismo ossidativo.

Ad un incremento dell'apporto calorico ovviamente l'equilibrio risulta sbilanciato verso un aumento della massa corporea, al contrario ad un consumo eccessivo di calorie corrisponde una diminuzione della massa corporea.

LEPTINA: si tratta di un ormone essenziale per la regolazione della massa corporea (leptos = magro) si tratta di una proteina a basso peso molecolare, composta di 167 amminoacidi.

Possiamo dire che il livello di assunzione DI CIBO è regolato da due sensazioni neurogene:

- FAME.
- SAZIETÀ.

L'introito di cibo dipende da quanto forti sono le singole sensazioni che sono, come già sottolineato, sotto controllo neuronale in particolare da parte di due gruppi di neuroni detti:

- ORESSIGENICO che genera lo stimolo della fame e presenta come NEUROTRASMETTITORE il NEUROPEPTIDE Y o NPY.
- ANORESSIGENICO che genera la sensazione di sazietà; presenta come NEUROTRASMETTITORE L'ORMONE STIMOLANTE I MELANOCITI, in particolare il tipo alfa-MSH, che deriva per proteolisi dalla PROOPIOMELANOCORTINA (che da origine anche all'ACTH e a numerosi oppiacei endogeni).

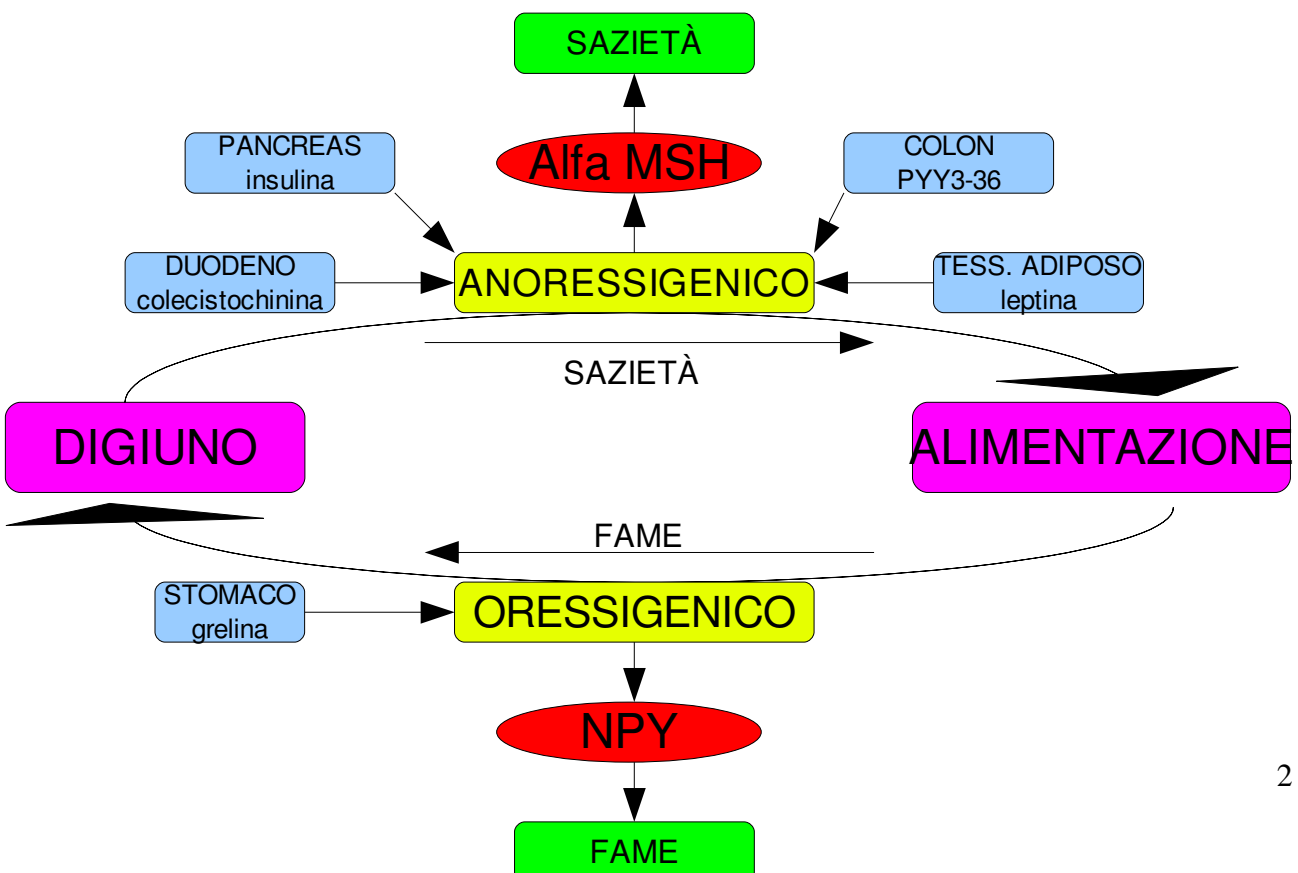
Questi due gruppi di neuroni si collocano nel NUCLEO ARCUATO in vicinanza all'ipotalamo; l'attività di un neurone, ovviamente, inibisce l'attività dell'altro, i sistemi di controllo sono quindi integrati; in ogni caso LA ATTIVITÀ DEI DUE TIPI DI NEURONI È CONTROLLATA DA ALTRI ORMONI che SONO INCRETI NEI TESSUTI PERIFERICI e riescono a raggiungere l'ipotalamo oltrepassando la barriera ematoencefalica anche se si tratta di peptidi di dimensioni non trascurabili (BBB = blood brain barrier); questo fenomeno è molto particolare anche perché la barriera emato encefalica consente il passaggio a pochissime molecole al punto che risulta difficile trovare dei farmaci capaci di valicarla. Il passaggio avviene per TRANSCITOSI, disfunzioni di questa forma di

transcitosi sono estremamente importanti per la regolazione dello stato nutrizionale.

I TRASMETTITORI ORMONALI sono ovviamente diversi a seconda dello stato nutrizionale dell'organismo, in particolare:

- DIGIUNO: viene liberato il peptide GRELINA dallo STOMACO, si tratta di un potente stimolante che RAGGIUNGE IL NEURONE ORESSIGENICO e stimola la secrezione di NPY. Questa molecola presenta un livello di concentrazione di tipo CIRCADIANO, aumenta prima dei pasti.
- POST PRANDIALE: vengono liberate:
 - LA COLECISTOCHININA o CCK dal DUODENO, (secreta prima dell'insulina) che:
 - inibisce l'azione del neurone oressigenico e quindi il senso di fame.
 - Stimola il neurone anoressigenico e quindi il senso di sazietà.
 - L'INSULINA dal PANCREAS che risulta:
 - inibitoria rispetto al neurone ORESSIGENICO.
 - Stimolatoria rispetto al neurone ANORESSIGENICO.
 - PYY3-36 secreto dal COLON in seguito alla DISTENSIONE dello stesso:
 - STIMOLA IL SENSO DI SAZIETÀ: la distensione del colon in generale, quindi, genera senso di sazietà anche se dovuta a diversi tipi di situazioni (compreso il semplice gonfiore).
 - LEPTINA: nel caso in cui sia presente una discreta quantità di tessuto adiposo assistiamo alla LIBERAZIONE DI LEPTINA DAL TESSUTO ADIPOSO STESSO che presenta AZIONE ANORESSIGENICA.

Lo stimolo della sazietà è quindi posto sotto un controllo estremamente preciso, in particolare possiamo notare che MENTRE SOLO LA GRELINA presenta una AZIONE STIMOLATORIA ALLA FAME molti enteropeptidi PRESENTANO AZIONE STIMOLATORIA RISPETTO ALLA SAZIETÀ.



LEPTINA viene liberata dagli adipociti, possiamo dire che esiste una **CORRELAZIONE LINEARE TRA LA PRESENZA DI MASSA ADIPOSA E IL LIVELLO DI LEPTINA PLASMATICA**: alla crescita della massa adiposa corrisponde un incremento della azione della leptina con tutto quello che ne consegue. La secrezione di **LEPTINA** è sotto il controllo dell'insulina, in particolare possiamo schematizzare l'influenza reciproca dei due ormoni in questo modo:

INCREMENTO GLICEMIA → INCREMENTO INSULINEMIA → INCREMENTO
LEPTINEMIA → DIMINUZIONE INSULINEMIA

il meccanismo di inibizione-stimolazione viene detto **ASSE ADIPO-PANCREATICO** nel quale la leptina presenta un effetto prettamente **PARACRINO** in quanto:

- viene secreta a livello addominale principalmente.
- Agisce sul **PANCREAS** in particolare associata al suo recettore sulle cellule beta genera:
 - INCREMENTO DELLA ATTIVITÀ DEL CANALE DEL POTASSIO ATP DIPENDENTE E CONSEGUENTE MANTENIMENTO DELLA POLARITÀ DELLA MEMBRANA (normalmente in conseguenza all'ingresso di glucosio nella cellula tale canale viene chiuso).
 - MANTENIMENTO DELLE CONCENTRAZIONI INTRACELLULARI di CALCIO (che normalmente entrerebbe nella cellula vista la depolarizzazione generata dalla inibizione della azione del canale per il potassio)
 - DIMINUZIONE DELLA SECREZIONE DELL'INSULINA.

LEPTINA CIRCOLANTE: l'effetto **ENDOCRINO** della **LEPTINA** si manifesta in modi e tessuti diversi:

NERVOSO agisce su tre distretti distinti:

- 1) sul neurone oreossigenico (**NPY**) che viene inibito.
- 2) sul neurone anoressigenico (**ALFA-MSH**) che viene stimolato.
- 3) il risultato di questa stimolazione provoca un terzo risultato: la **STIMOLAZIONE DI UN NEURONE ADRENERGICO** che rilascia **NORADRENALINA** e **INCREMENTA IL TONO DEL SISTEMA NERVOSO SIMPATICO**, questa raggiunge i recettori adrenergici **BETA1** su:
 - **MUSCOLO** → aumento della attività motoria in quanto il muscolo risulta, vista la presenza di energia, preparato alla azione, questo:
 - incrementa consumo di ATP.
 - Diminuisce il rapporto ATP/AMP.

FEGATO → **ASSISTIAMO ALL'INCREMENTO DELLA ATTIVITÀ DEL Pi3K** stesso messaggero stimolato dalla **INSULINA**, che incrementa in particolare la **GLICOGENOSINTESI**, (si tratta di un'altra azione insulin-like).

ADIPE → la presenza della leptina genera:

- incremento del cAMP.
- attivazione della PKA.
- attivazione delle LIPASI e quindi:
 - incremento della concentrazione degli acidi grassi.
 - Incremento della concentrazione di GLICEROLO.

- INCREMENTO DELLA SINTESI DI UCP uncoupling protein (termogenina) LA CUI AZIONE DISACCOPIANTE genera un AUMENTO DELLA TERMOGENESI.

GHIANDOLA TIROIDE: INCREMENTO DELLA CONCENTRAZIONE DEGLI ORMONI TIROIDEI stimola infatti tutta la pathway TRF → TSH → T3 e T4 → AZIONE CELLULARE cui consegue l'attivazione di:

- fenomeni di catabolizzazione.
- Termogenesi ancora attraverso la sintesi di UCP.
- Incremento del consumo di equivalenti citosolici.
- Incremento della sintesi di citocromi.

COMPLESSIVAMENTE AUMENTA LA TRASCRIZIONE DEL GENE UCP in seguito a molteplici stimolazioni:

1. effetto autocrino della leptina.
2. Effetto della noradrenalina.
3. Effetto di T3 e T4.

Altro effetto generato dalla leptina è l'INCREMENTO DELLA BETA OSSIDAZIONE: per incrementare questo fenomeno ossidativo è necessario INCREMENTARE LA AZIONE DELLA ACIL CARNITINA TRASFERASI, questa dipende dalla concentrazione di MALONIL CoA che dipende a sua volta dalla attività della ACETILCoA CARBOSSILASI (che risulta INATTIVA SE FOSFORILATA) che viene bloccata per fosforilazione in due modi diversi:

1. fosforilata dalla PROTEIN CHINASI A che viene attivata da elevate concentrazioni di cAMP.
2. Altra chinasi è capace di compiere questa azione a livello muscolare, si tratta della CHINASI AMP DIPENDENTE che viene ATTIVATA DALL'AMP.

Quindi nel muscolo in contrazione in modo consistente si assiste a:

- consumo dell'ATP disponibile ad AMP.
- Attivazione della chinasi AMP dipendente.
- Fosforilazione della acetilCoA carbossilasi.
- Inibizione della produzione di malonilCoA.
- INCREMENTO DELLA BETA OSSIDAZIONE.

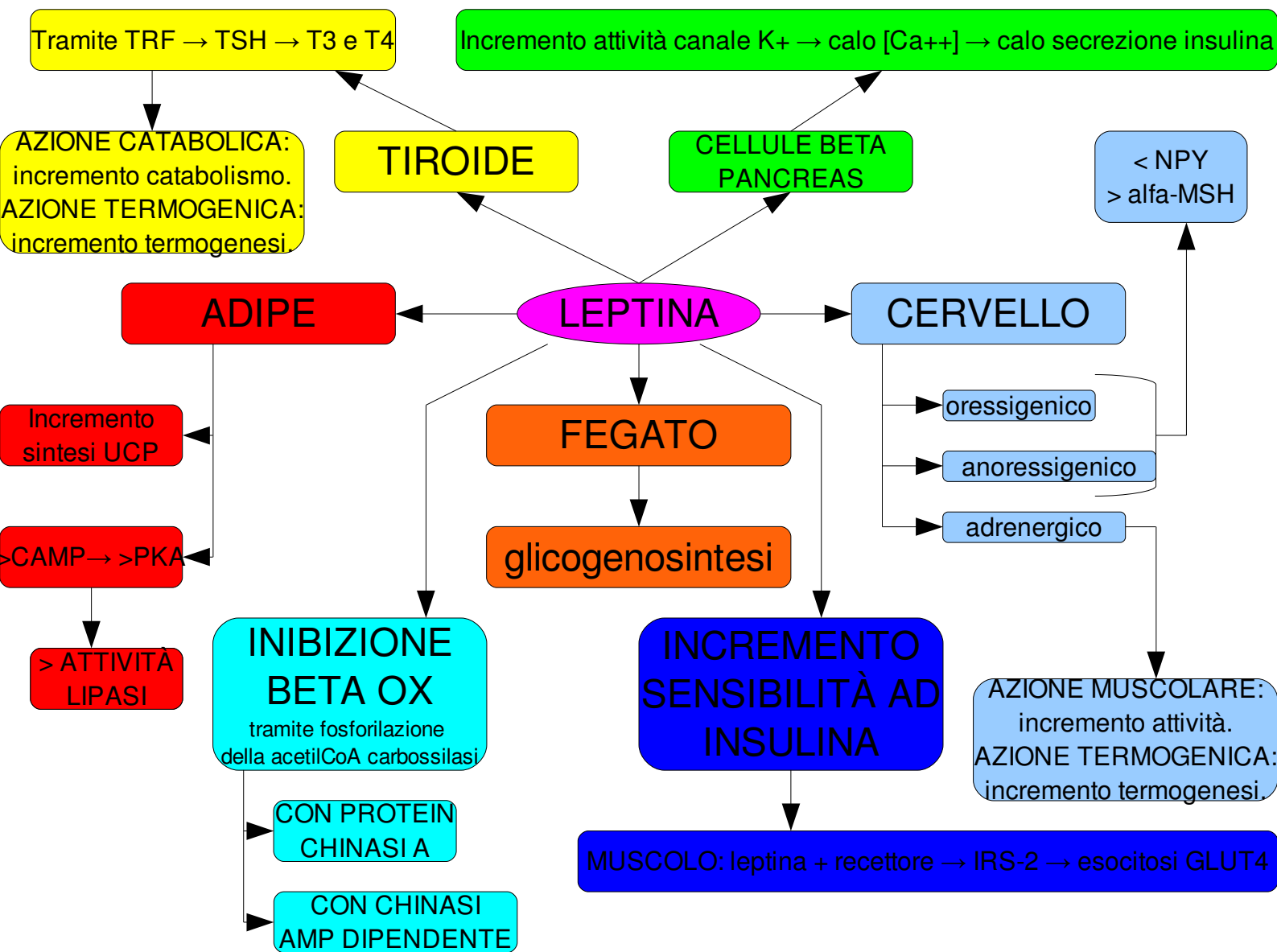
Il medesimo meccanismo è innescato da:

1. LEPTINA.
2. ADIPONECTINA (adiponectin).

Altra importante azione della LEPTINA è l'incremento della SENSIBILITÀ ALL'INSULINA, in particolare questo significa che SOMMINISTRANDO LEPTINA e GLUCOSIO AD UN ANIMALE L'INSULINEMIA CRESCE DI MENO, il meccanismo di questa aumentata sensibilità è dovuto ad una azione di questo tipo:

- LEPTINA arriva al MUSCOLO e si lega ad un recettore con azione TIROSINCHINASICA che attiva un trasmettitore interno stimolato anche dalla insulina, l'IRS2 che attiva la pathway di esocitosi del recettore GLUT4.
- Viene incrementato il GLUT 4 con conseguente incremento della permeabilità del muscolo al GLUCOSIO.
- L'EFFETTO DELLA LEPTINA È QUINDI SIMILE A QUELLO DELLA INSULINA.

in questo modo è necessaria MENO INSULINA per ottenere il MEDESIMO EFFETTO IPOGLICEMIZZANTE.



OBESITÀ: perché la massa grassa, vista la presenza di numerosi fattori stimolati la LEPTINA, NON DIMINUISCE? Un esperimento genetico condotto sui topi per i due geni ob (gene necessario per la sintesi della leptina) db (gene necessario per la sintesi del suo recettore) mostra che:

topi con genotipo ob/ob (entrambi gli OB alterati) → LEPTINO DIPENDENTI, non è possibile la sintesi della leptina in quanto ob è mutato; in particolare questi topi presentavano:

- CORTISOLO ELEVATO.
- CRESCITA PONDERALE ANORMALE.
- APPETITO INCONTROLLATO.
- PESO TRE VOLTE SUPERIORE ALLA NORMA.

- **INSULINO RESISTENZA** (dovuta alla mancata azione supplementare della leptina alla azione della insulina).

db/db → fenotipo **DA ASSENZA DEL RECETTORE** si tratta di un **FENOTIPO LEPTINO RESISTENTE**.

Oggi sappiamo che **LA MAGGIORANZA DEI CASI UMANI** di obesità dovuta a problemi correlati alla sintesi della **LEPTINA È DOVUTA ALLA LEPTINO RESISTENZA**, si tratta di un problema legato **AL RECETTORE ORMONALE** non è solo un problema di comportamento.

IL SISTEMA DELLA LEPTINA è stato elaborato nel corso dell'evoluzione per garantire **RESISTENZA AD UN DIGIUNO A LUNGO TERMINE**:

DIMINUZIONE MASSA GRASSA → DIMINUZIONE LEPTINA

cui conseguono ovviamente:

- calo della stimolazione del neurone **ANORESSIGENICO** e della produzione di **ALFA MSH**.
- Calo della **SECREZIONE DELLA NORADRENALINA** cui conseguono:
 - **CALO DELLA ATTIVITÀ MUSCOLARE**.
 - **CALO DELLA TERMOGENESI**.
 - **CALO DEL CONSUMO DI OSSIGENO**.
- Calo della **SECREZIONE DEL TRF** (fattore tireostimolante) e quindi calo della via di stimolazione **TIROIDEA** con conseguente ulteriore **CALO DELLA TERMOGENESI** e del **CATABOLISMO**.
- Calo della **SECREZIONE DELLE GONADOTROPINE** e quindi calo della **SINTESI DEGLI ORMONI SESSUALI**, cui conseguono:
 - calo della fertilità.
 - calo della attività sessuale.

REGISTRANDO LA QUANTITÀ DI MASSA GRASSA DISPONIBILE, quindi, **REGOLA IL METABOLISMO DI MODO DA MANTENERE IL LIVELLO DELLA STESSA IL PIÙ CONTROLLATO POSSIBILE**.

ADIPONECTINA: si tratta di un ormone caratterizzato da livelli di produzione **INVERSAMENTE PROPORZIONALI ALLA MASSA ADIPOSA**: minore è la massa grassa, maggiore è la secrezione. Si tratta di una proteina plasmatica (224aa) estremamente importante anche perché fa parte delle proteine del complemento; agisce in questo modo:

- formazione del complesso recettore-adiponectina.
- Incremento della azione della **AMPchinasi** che agisce:
 - **NEL MUSCOLO**:
 - incrementando lipolisi.
 - Incrementando uptake di glucosio e glicolisi.
 - Inibizione della lipogenesi.
 - **NEL FEGATO**:
 - incremento della glicolisi cui consegue, vista la presunta carenza di ossalacetato **INCREMENTO DELLA PRODUZIONE DI CORPI CHETONICI** essenziali per **LA SOPRAVVIVENZA DELL'INDIVIDUO IN ASSENZA DI NUTRIENTI**.

- Inibizione della gluconeogenesi.
- Inibizione della lipogenesi.

Ad un nuovo ACCESSO AL CIBO consegue un incremento della sintesi della LEPTINA cui consegue un RITORNO AL METABOLISMO NORMALE CON CONSEGUENTE INCREMENTO di:

- NORADRENALINA.
- TERMOGENESI con conseguente ripristino della buona vascolarizzazione e fisiologia della PELLE (essenziale per la guarigione di ferite e la protezione dalle infezioni).
- ANGIOGENESI con conseguente incremento della VASCOLARIZZAZIONE.
- MECCANISMO DELLA RIPRODUZIONE SESSUALE.

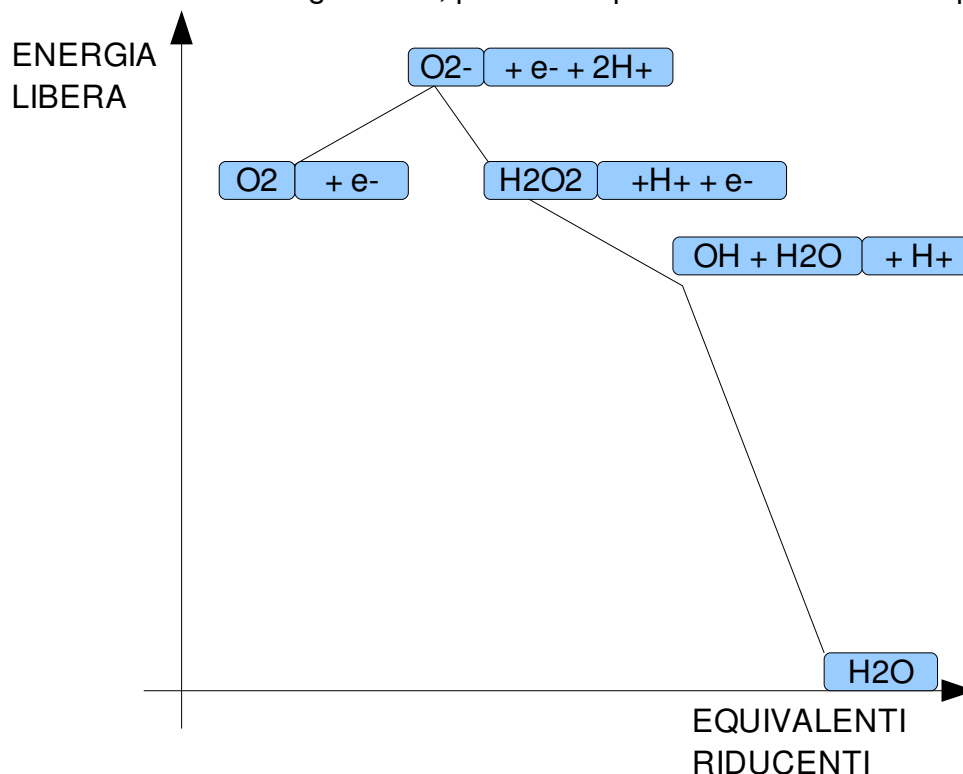
LA LEPTINA È L'ORMONE DEL BENESSERE, DEL LAVORO MUSCOLARE, DELLA RIPRODUZIONE SESSUALE.

I RADICALI LIBERI DELL'OSSIGENO

sono specie reattive dell'ossigeno, si tratta cioè di specie chimiche che presentano una struttura e conformazione elettronica tale da poter reagire potenzialmente con qualsiasi molecola o macromolecola cellulare:

- fino ad esaurimento del reagente.
- Fino a formazione di un composto stabile.

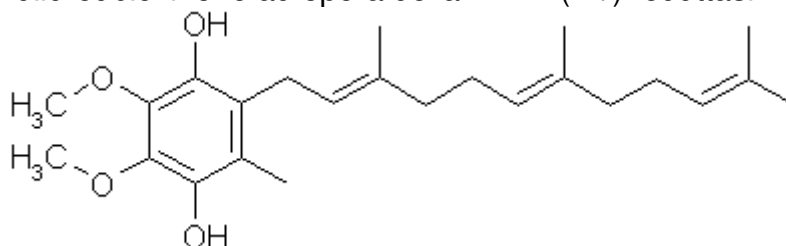
La loro reattività è inversamente proporzionale all'emivita che esse hanno nella cellula e proporzionale alla loro energia libera, possiamo quindi schematizzare in questo modo:



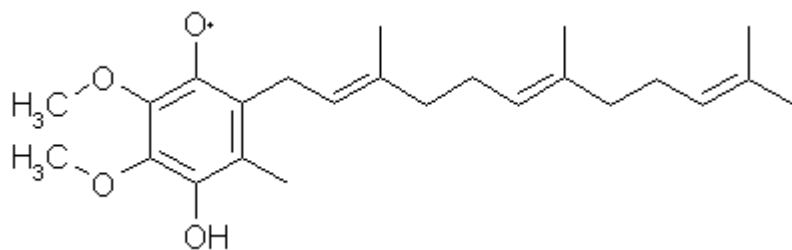
1. ANIONE SUPEROSSIDO: presenta una emivita di microsecondi.
2. PEROSSIDO DI IDROGENO: presenta un'emivita nell'ordine di minuti.
3. IONE OSSIDRILICO: presenta una emivita nell'ordine di nanosecondi.

Queste specie chimiche estremamente pericolose si formano normalmente nella cellula in particolare in relazione ad alcune vie metaboliche come:

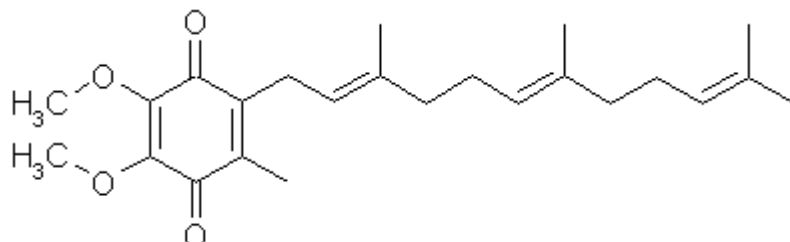
- nei MITOCONDRI in particolare in tutti quei processi che coinvolgono il passaggio di un unico elettrone ma soprattutto nel processo di riduzione del ubiquinone in diidroubichinone ad opera della NADH(H⁺) reduttasi:



ridotto



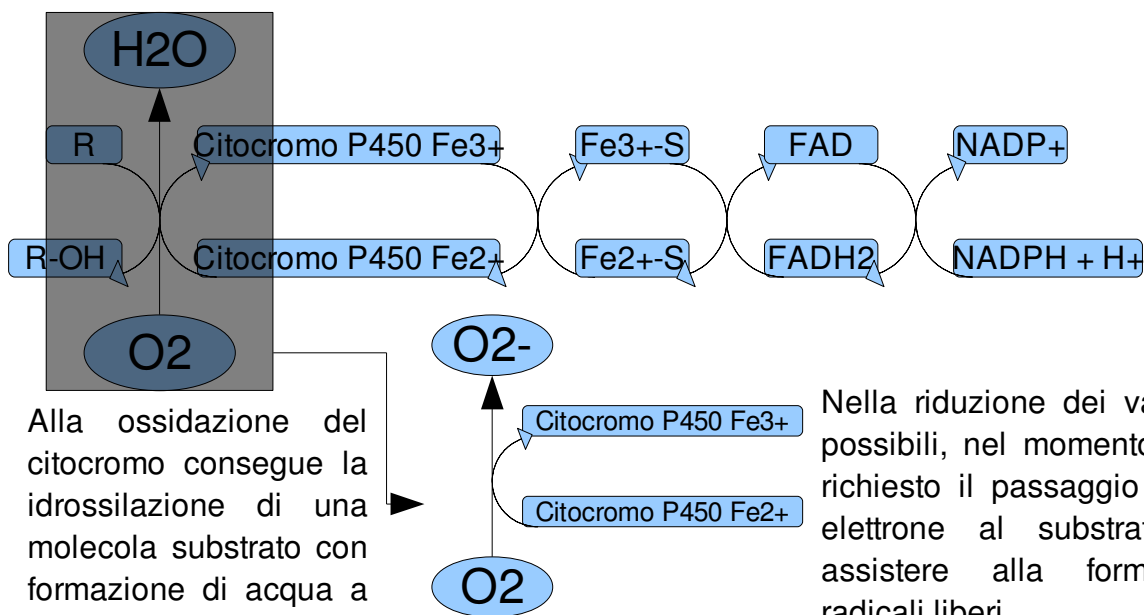
radicalico



ossidato

L'ubisemichinone ovviamente reagisce poi con l'ossigeno saturando sé stesso ma trasformando l'ossigeno molecolare in ANIONE SUPEROSSIDO.

- Nel RETICOLO ENDOPLASMATICO: nel reticolo troviamo un complesso multienzimatico di citocromi ed enzimi di vario genere funzionali alla ossidrilazione di molecole substrato ma che in alcuni casi possono divenire fonte di produzione dei radicali dell'ossigeno, in particolare ricordiamo il CITOCROMO P450, la via redox è così descrivibile:



Alla ossidazione del citocromo consegue la idrossilazione di una molecola substrato con formazione di acqua a partire da ossigeno.

Nella riduzione dei vari substrati possibili, nel momento in cui sia richiesto il passaggio di un solo elettrone al substrato si può assistere alla formazione di radicali liberi.

Questo tipo di reazione può avvenire sia su catene di natura alifatica che aromatica nel tentativo di renderle aggredibili da enzimi idrolitici e distruggerle o per semplice necessità biosintetiche, tuttavia, per quanto riguarda composti come il benzene, altamente tossico, la reazione di ossidrilazione risulta estremamente difficile e stimola molto la formazione di anione superossido.

- NELLA MEMBRANA PLASMATICA: un caso particolare a riguardo concerne

sicuramente la produzione del materiale necessario alla esplosione respiratoria: si tratta di un fenomeno che avviene tipicamente a livello del sistema immunitario in particolare come meccanismo di difesa aspecifico che si estrinseca nella PRODUZIONE DI SPECIE REATTIVE DELL'OSSIGENO CHE VANNO A COLPIRE L'AGENTE ESOGENO UCCIDENDOLO, contribuiscono in maniera fondamentale a questo processo i granulociti neutrofili. Il processo di formazione dei radicali liberi dell'ossigeno avviene in modo particolare grazie ad una proteina transmembrana che:

- DA UN LATO ossida $\text{NADPH} + \text{H}^+$ ad NADP^+
- DALL'ALTRO riduce l'ossigeno ad anione superossido.

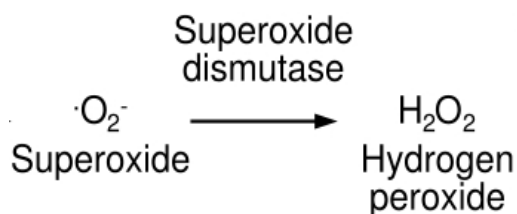
I radicali dell'ossigeno sono estremamente pericolosi a livello cellulare in quanto:

1. SONO IN GRADO DI DANNEGGIARE GRUPPI SULFIDRICI che in particolare interessano enzimi fondamentali come:
 1. FOSFOFRUTTOCHINASI 1.
 2. COMPLESSO I DELLA CATENA RESPIRATORIA.Inibendo la produzione di energia cellulare.
2. BLOCCANO LA POMPA CALCIO fondamentale per il mantenimento della omeostasi del calcio stesso e il suo ruolo di secondo messaggero.
3. DANNEGGIANO GLI ACIDI NUCLEICI provocando quindi:
 1. DEFORMAZIONI DELLA CATENA DEL DNA.
 2. MUTAZIONI.
4. DANNEGGIANO STRUTTURE EXTRACELLULARI come:
 1. acido ialuronico.
 2. Collagene.

COMPLESSI ENZIMATICI DIFENSIVI:

I meccanismi difensivi messi in atto dal nostro corpo per combattere la formazione e la propagazione di radicali liberi dell'ossigeno sono numerosi, in particolare ricordiamo alcuni enzimi e complessi enzimatici fondamentali:

- SUPEROSSIDO DISMUTASI: si tratta dell'enzima che elimina l'anione superossido per azione diretta nella reazione di dismutazione:

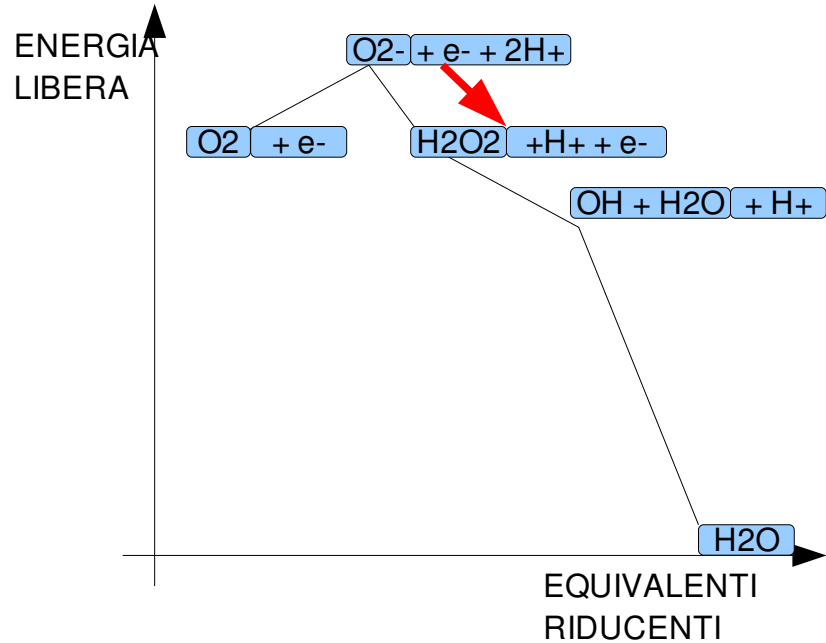


la superossido dismutasi elimina quindi sul nascere la presenza di molecole pericolose come l'anione superossido trasformandolo in una specie ancora reattiva ma sicuramente smaltibile in modo più rapido e meno pericoloso; le superossido dismutasi sono METALOPROTEINE e si distinguono in:

- MITOCONDRIALI E BATTERICHE contenenti magnesio.
- CITOPLASMATICHE contenenti rame o zinco.

Graficamente abbassa l'energia della molecola in questo modo:

In ogni caso è necessario ora eliminare il perossido di idrogeno che, seppur decisamente meno reattivo dell'anione superossido, permane un composto altamente pericoloso.

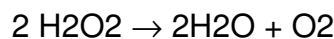


- LA REAZIONE DI FENTON: si tratta di una reazione particolarmente importante per lo smaltimento del perossido di idrogeno:



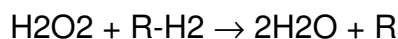
anche in questo caso la cellula sfrutta la presenza di una molecola di ferro ridotto ossidandolo per rompere la molecola di perossido di idrogeno in radicale ossidrilico e ione idrossido.

- IDROPEROSSIDASI: si tratta di molecole che demoliscono l'acqua ossigenata che si forma per l'azione delle deidrogenasi aerobie, sono fortemente presenti nei perossisomi, in particolare ricordiamo:
 - CATALASI; si tratta di una emoproteina caratterizzata dalla presenza di QUATTRO GRUPPI EMI OSSIDATI A Fe³⁺ o emine; la reazione catalizzata da questo enzima è:

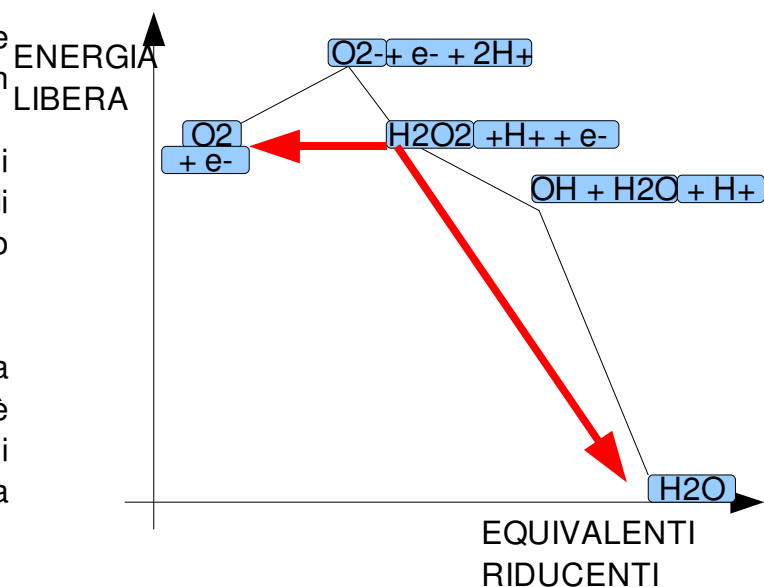


capace quindi di trasformare due molecole potenzialmente pericolose in tre molecole utilizzabili dalla cellula.

La CATALASI è inoltre in grado di catalizzare reazioni di eliminazione di perossido di idrogeno sfruttando substrati riducenti diversi:



La prima reazione è esclusiva della CATALASI mentre la seconda è condivisa con la categoria di idrossiperossidasi detta PEROSSIDASI.



Altre reazioni catalizzate dalla catalasi ed essenziali per processi biosintetici o catabolici sono:

- IODIZZAZIONE DEI RESIDUI DI TIROSINA essenziale per la sintesi di MIT e DIT.
- OSSIDAZIONE DELL'ETANOLO AD ALDEIDE ACETICA, essenziale a livello epatico per lo smaltimento dell'etanolo in eccesso.
- PEROSSIDASI: si tratta di nuovo di enzimi emoproteici CATALIZZANO LA DEMOLIZIONE DEL PEROSSIDO DI IDROGENO MA UNICAMENTE IN PRESENZA DI UN ADATTO SUBSTRATO RIDUCENTE. Un caso particolarmente importante per quanto concerne le perossidasi è sicuramente quello DELLA GLUTATIONE PEROSSIDASI: si tratta dell'enzima capace di eliminare una molecola di perossido di idrogeno provocando ossidazione di due molecole di glutatione a formare un ponte solfuro; il glutatione in forma ridotta viene poi recuperato dalla GLUTATIONE REDUTTASI:
la GLUTATIONE PEROSSIDASI è un enzima SELENIO DIPENDENTE, in caso di mancanza di selenio a livello della dieta si assiste a mancata degradazione, in particolare a livello degli eritrociti, di perossido di idrogeno. LA GLUTATIONE REDUTTASI necessita di NADPH per funzionare, in particolare il meccanismo di riduzione del glutatione ossidato viene accoppiato alla VIA DEI PENTOSO FOSFATO principalmente e anche ad altre vie che producono NADPH.

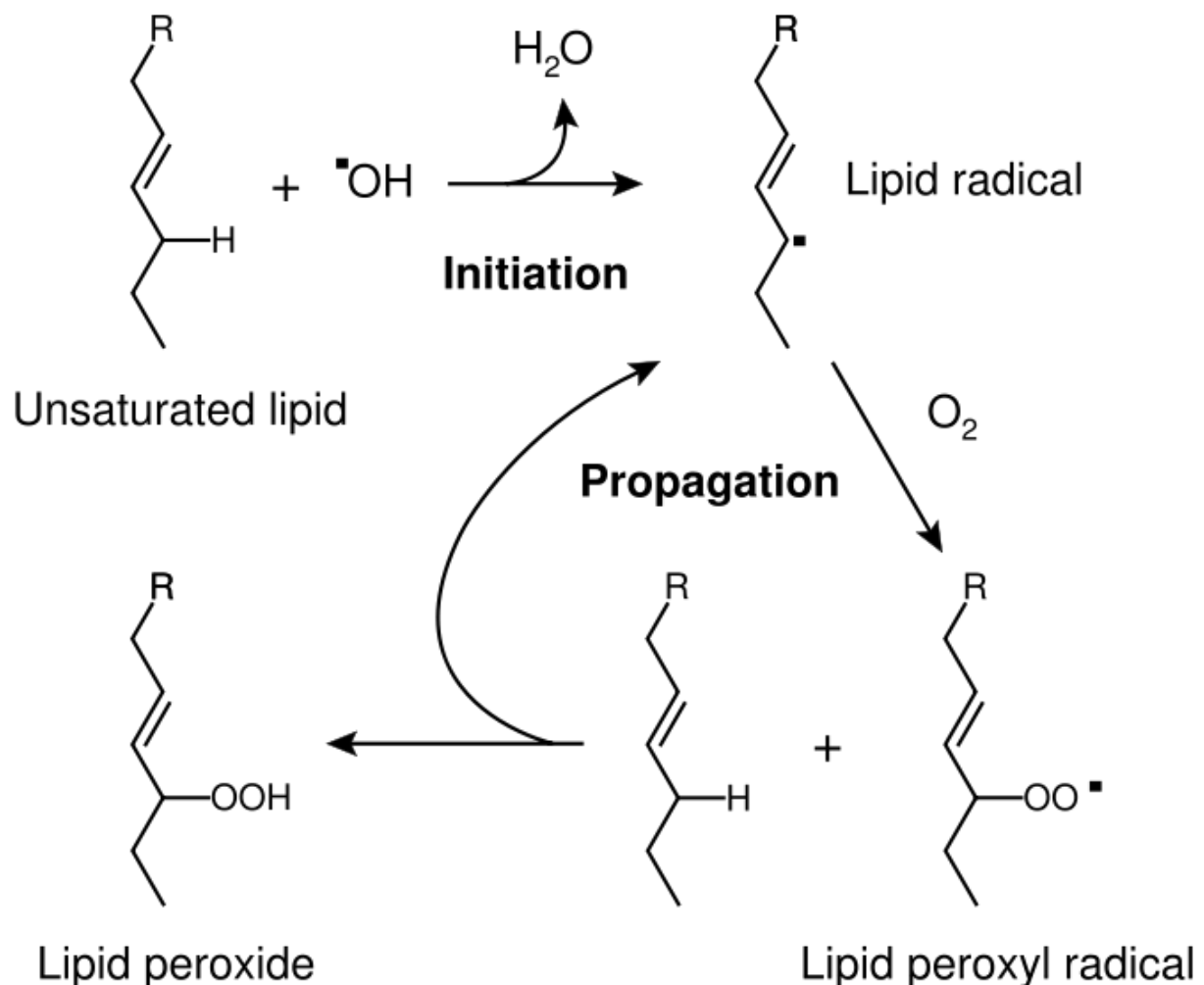
Attraverso la azione di questi diversi enzimi detti SCAVENGERS questi ROS sono intercambiabili e, possiamo dire, spostano il radicale in composti diversi, in particolare riconosciamo una serie di competizioni fra le diverse reazioni sopracitate.

RADICALE OSSIDRILICO: può

- provocare danni del DNA.
- Perossidare acidi grassi e lipidi.
- Perossidare proteine: si tratta di formazione di ponti disolfuro.

PEROSSIDAZIONE DEI LIPIDI:

- il lipide di membrana reagisce con un perossido formando un perossilipide.
- La formazione del perossido rende il lipide POLARE e scardina la struttura della membrana provocando:
 - INCREMENTO della permeabilità.
 - DEFORMAZIONE del mosaico.
- Esiste a livello della MEMBRANA la vitamina E o TOCOFEROLO: questa molecola si carica di un elettrone formando un IDROPEROSSIDO che è esposto sulla membrana e non più all'interno, in questo modo elimina il problema.
- INTERVIENE UNA SERIE di ENZIMI che elimina il pericolo a livello della membrana.



PEROSSIDAZIONE DEGLI AMMINOACIDI:

tutti gli amminoacidi sono suscettibili a danni ossidativi, alcuni più alcuni meno, in particolare alcuni possono essere recuperati, altri risultano irrimediabilmente danneggiati. Quando una proteina presenta dei danni si assiste alla rottura della molecola con formazione, quindi, di carbonili liberi, questi possono essere misurati in funzione dell'età e su tessuti molto diversi anche di organismi diversi: possiamo dire PER TUTTE LE SPECIE E TUTTI TESSUTI:

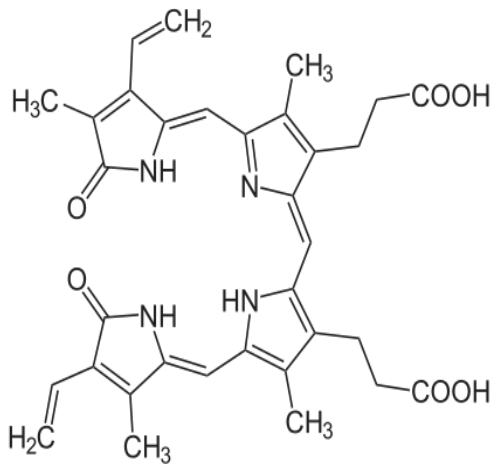
per la PRIMA METÀ DELLA VITA i meccanismi di riparazione risultano efficaci.

Per la SECONDA METÀ DELLA VITA i sistemi di smaltimento endogeni divengono meno efficaci.

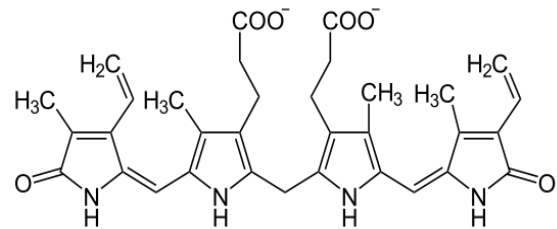
SISTEMI ANTIOSSIDANTI ENDOGENI:

- ACIDO LIPOICO che sfrutta i suoi gruppi tiolici per smaltire radicali liberi.
- CHELANTI DEL FERRO il ferro è essenziale per la reazione di fenton e il suo sequestro provoca di conseguenza:
 - STIMOLAZIONE DELLE ALTRE REAZIONI DI SMALTIMENTO del perossido di idrogeno.

- LA LIMITATA PRODUZIONE DI ANIONE IDROSSIDO.
- BILIVERDINA: che come visto può essere trasformata in bilirubina che può assorbire un anione superossido per tornare a biliverdina (300mg/d).



biliverdina



bilirubina

- VIA INVERSA ALLA CATABOLIZZAZIONE DELLE PURINE in particolare l'acido urico può essere ritrasformata a xantina assorbendo una molecola di perossido di idrogeno, la xantina a sua volta assorbendo un altro perossido di idrogeno può essere ritrasformata in ipoxantina.
- ACIDO ASCORBICO: l'acido ascorbico diviene protagonista di un processo particolare che presenta una valenza duplice:
 - TRASFORMAZIONE DELL'ACIDO ASCORBICO A RADICALE ASCORBATO questo consente l'eliminazione di un ROS.

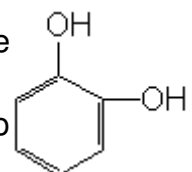
Il radicale ascorbato, tuttavia, può anche agire sul ferro tripositivo formandolo in ferro bipoisitivo per ritornare alla sua conformazione normale ed ALIMENTANDO quindi LA REAZIONE DI FENTON e stimolando quindi la formazione del radicale ossidrilico. Come sottolineato in precedenza l'ascorbato può essere utilizzato anche per il recupero della vitamina E sulla membrana citoplasmatica.

AGENTI ESOGENI DIFENSIVI: polifenoli altamente presenti a livello di frutta, verdura e vino: si tratta di molecole aromatiche ricche di gruppi ossidrilici dette CATECOLI.

1. Il catecolo può donare un protone per annullare il radicale divenendo SEMICHINONE.
2. Il SEMICHINONE assorbendo un altro radicale diviene PARACHINONE estremamente stabile.

La particolarità di questo tipo di composti è che più assorbono e annullano agenti radicalici, più diventano stabili.

Anche i flavonoidi possono essere ossidanti, ma le quantità assorbite sono tali da rendere questo effetto insignificante.



CATABOLISMO DELL'ETANOLO

L'ETANOLO è un composto che nella storia è stato essenziale per il suo alto contenuto calorico e per la possibilità di ricavarlo da scarti alimentari altrimenti inutilizzabili.

Di fatto la grappa viene prodotta in questo modo:

- si prende uno scarto di frutta non commestibile (per esempio vinaccia).
- Lo si fa fermentare.
- Si distilla il ricavato per ottenere alcool.

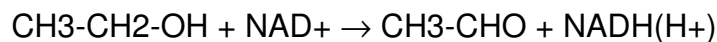
L'aspetto fondamentale è che IL PRODOTTO RICAVALO È ALTAMENTE ENERGETICO e nella storia è servito soprattutto per questo motivo.



si tratta di una molecola piccola e relativamente apolare, questa sua natura consente di fatto UN ASSORBIMENTO TRAMITE LIBERA DIFFUSIONE e di conseguenza PROPORZIONALE ALLA QUANTITÀ INGERITA; questo composto giunge in particolare a livello EPATICO dove:

- VIENE TRASFORMATO IN ALDEIDE ACETICA DA TRE ENZIMI FONDAMENTALMENTE:

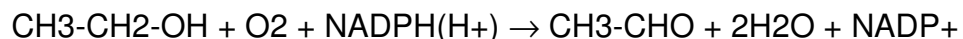
- ALCOOL DEIDROGENASI che utilizza NAD^+ per produrre $\text{NADH} + \text{H}^+$ formando in questo modo ACETALDEIDE.



- DEIDROGENASI MISTA DETTA MEOS sistema microsomiale ossidante l'etanolo CHE:

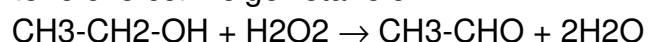
- sfrutta $\text{NADPH}(\text{H})^+$ per la riduzione.
- Preleva ossigeno per produrre una molecola di ACQUA.

QUESTO TIPO DI REAZIONE STIMOLA IL FUNZIONAMENTO DELLA DEIDROGENASI MISTA stessa e la sua SINTESI in un meccanismo di autoinduzione.



Il medesimo meccanismo viene utilizzato per la catabolizzazione dei farmaci, in particolare la induzione di tale deidrogenasi provoca lo SMALTIMENTO PIÙ VELOCE DEI PRINCIPI ATTIVI e conseguentemente UNA MINORE EFFICACIA DEL FARMACO. La deidrogenasi in questione opera a livello del RETICOLO ENDOPLASMICO LISCIO che, in presenza di quantità eccessive di etanolo, DIVIENE IPERTROFICO. Si tratta in ogni caso di una deidrogenasi a funzione mista.

- CATALASI: fra le tante reazioni di eliminazione dell'acqua ossigenata la catalasi catalizza una reazione che coinvolge l'etanolo:



- FORMAZIONE DI ACIDO ACETICO avviene grazie alla azione di una ACETALDEIDE DEIDROGENASI NAD^+ dipendente che agisce in modo:

- IRREVERSIBILE in quanto la affinità dell'acido acetico per l'enzima è bassissima.
- IN PRESENZA DI SH liberi a livello del sito attivo (reagenti tiolici vengono utilizzati per eliminare tali siti, processo essenziale per la "TERAPIA DEL DISGUSTO" in quanto il mancato smaltimento dell'aldeide acetica provoca un fastidio estremamente spiacevole)

ACIDO ACETICO prodotto in questo modo può essere utilizzato in particolare per:

- formazione di AcetilCoA attraverso IDROLISI DI ATP ad AMP E PIROFOSFATO per generare la integrazione del CoA con l'acetile; QUESTO:
 - VIENE UTILIZZATO NELLA CATENA RESPIRATORIA per produrre energia a livello epatico, evento raro in quanto eccessi a livello della assunzione di etanolo sono correlati generalmente ad una assunzione di nutrienti di altra natura.
 - STIMOLA LA LIPOGENESI in particolare formazione di TRIACILGLICEROLI, l'etanolo stimola infatti la produzione di LDL.
 - PRODUZIONE DI CORPI CHETONICI.
 - RIVERSATO NEL SANGUE tramite il quale giunge a:
 - MUSCOLO.
 - CERVELLO.

dove viene trasformato in ACETILCoA che viene utilizzato in forme di ossidazione.

EFFETTI METABOLICI DELL'ETANOLO ASSUNTO IN QUANTITÀ ECCESSIVE:

- BLOCCO DELLA GLUCONEOGENESI: la produzione di NADH(H⁺) dovuta alla azione delle deidrogenasi alcolica e aldeidica provoca:
 - MANCANZA DI NAD⁺ essenziale per la glicolisi.
 - STIMOLAZIONE DELLA TRASFORMAZIONE DEL PIRUVATO IN LATTATO con conseguenti:
 - DIMINUIZIONE DELLA CONCENTRAZIONE DI METABOLITI ESSENZIALI ALLA CELLULA COME:
 - piruvato.
 - Ossalacetato che:
 - non viene prodotto a partire dal piruvato (che non c'è).
 - viene ridotto a malato per ottenere NAD⁺ essenziale per la glicolisi.
 - INCREMENTO DELLA ACIDITÀ dovuto alla presenza di corpi chetonici e di lattato.
 - IMPOSSIBILITÀ DI PRODURRE GLUCOSIO in quanto mancano i precursori fondamentali (ossalacetato e piruvato).
- STIMOLAZIONE ALLA LIPOGENESI: la mancanza di NAD⁺ stimola anche la reazione di RIDUZIONE DEL DIIDROSSI ACETONE FOSFATO A GLICEROLO FOSFATO cui conseguono:
 - ASSOCIAZIONE DEL GLICEROLO FOSFATO AD ACILI LIBERI prodotti a partire dal acetilCoA prodotto per catabolizzazione dell'etanolo stesso.
 - INCREMENTO EMATICO DELLE VLDL ad alto contenuto di trigliceridi.
 - STEATOSI EPATICA in quanto questi triacilgliceroli si ACCUMULANO A LIVELLO EPATICO provocando EPATOMEGALIA dovuta alla presenza di

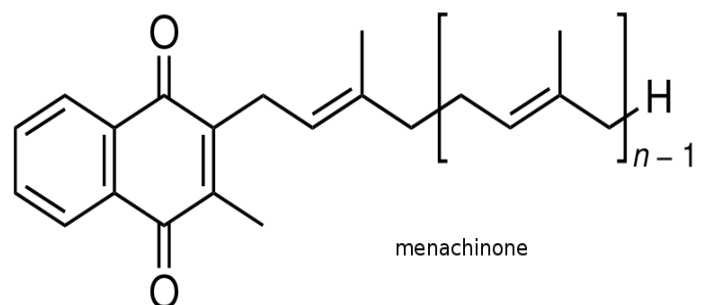
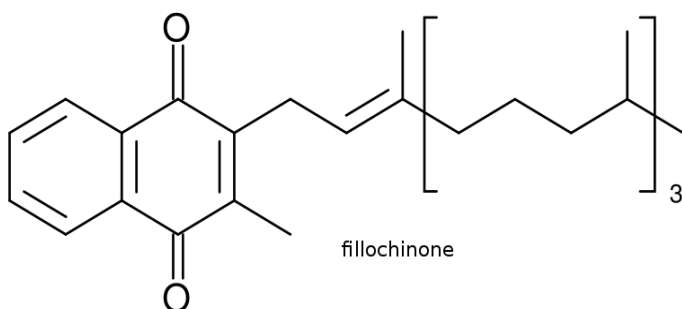
accumuli di gocce lipidiche nel citosol degli epatociti; il fenomeno è detto STEATOSI EPATICA (che può dare problemi relativi a diversi aspetti del metabolismo del fegato, in particolare viene meno in modo molto pericoloso la produzione di proteine della coagulazione con possibilità di emorragie molto più frequenti, emorragie occulte, inoltre, si possono anche verificare a livello epatico vista la formazione di VARICI conseguenti all'indebolimento del vaso e all'aumento della concentrazione di VLDL) che può sviluppare in CIRROSI EPATICA.

Visto l'apporto nutritivo che genera e la sua funzione rilassante nonché vasodilatatrice l'alcool assunto in piccole quantità è positivo per l'organismo.

LA VITAMINA K

VITAMINA K: si tratta di una proteina liposolubile essenziale, in particolare si tratta di una struttura formata da due anelli, uno benzenico e uno chinonico, che presenta due sostituenti di cui quello in posizione 1 è variabile e può essere:

- IDROGENO: in tal caso il composto si definisce MEDANIONE, si tratta di un composto sintetico che viene somministrato nelle terapie di supplemento per le avitaminosi e nella vita immediatamente postnatale; viene definita anche vitamina K3.
- QUATTRO MOLECOLE DI ISOPRENE: e in tal caso il composto si definisce FILLOCHINONE, tipicamente sintetizzato dalle piante e detto vitamina K1.
- SEI MOLECOLE DI ISOPRENE: si parla di MENACHINIONE, prodotto dai batteri della flora batterica intestinale che di fatto ci proteggono dall'attacco di altre forme batteriche. Se in risposta ad una infezione intestinale si assumono degli antibiotici e si uccidono i batteri della flora intestinale, si può verificare una AVITAMINOSI da vitamina K. Nella vita immediatamente postnatale la vitamina K deve essere assunta dall'esterno in quanto la flora batterica non è sufficientemente sviluppata. Il menachinone viene detto vitamina K2.



I livelli di assorbimento di questi fattori sono strettamente legati, come per tutte le proteine liposolubili, alla attività dei sistemi di digestione lipidica in particolare quelli biliari; una volta assorbita la vitamina viene vincolata a chilomicroni e in questa forma accumulata in circolo. Le fonti principali da cui è possibile ricavare tale vitamina:

- vegetali a foglie verdi, in particolare gli spinaci a livello vegetale.
- Fegato e uova a livello animale.

I punti di assorbimento delle diverse forme della vitamina sono:

ILEO per quanto concerne la K1 o fillochinone.

COLON per quanto concerne K2 e K3 o menachinoni.

La VITAMINA K generalmente si presenta in forma DI POLIALCOOL non di POLICHETONE.

Il naftochinone risulta essenziale per la COAGULAZIONE in particolare in questo modo:

- PROTEINE DELLA COAGULAZIONE sono caratterizzate dalla presenza di RESIDUI DI GLUTAMMATO che la VITAMINA K TRASFORMA in un processo di GAMMA CARBOSSILAZIONE in GAMMA CARBOSSI GLUTAMMATO inserendo

un secondo CARBOSSILE A LIVELLO DEL CARBONIO TERMINALE posttraduzionalmente.

- LA PROTEINA GAMMA CARBOSSILATA diviene un CHELANTE DEL CALCIO: il calcio bivalente viene intrappolato a livello dei due carbossili che presentano carica negativa, questo consente LA COAGULAZIONE DEL SANGUE.

L'enzima che si occupa di tale reazione è quindi una CARBOSSILASI che utilizza la vitamina K e non la BIOTINA, in particolare il processo di carbossilazione della molecola avviene in questo modo:

- ingresso di una molecola di ossigeno che si comporta in questo modo:
 - UN ATOMO DI OSSIGENO forma un EPOSSIDO SULL'ANELLO IDROCHINONICO (e non sulla forma chinonica), questo atomo di ossigeno per intervento di una molecola di NADPH(H⁺) forma una molecola di acqua consentendo lo smaltimento del SECONDO ATOMO DI OSSIGENO. Il chinone viene nuovamente RIDOTTO alla sua forma idrogenata da una reduttasi apposita e ricomincia il ciclo.
 - L'ALTRO ATOMO DI OSSIGENO va ad unirsi alla molecola di ANIDRIDE CARBONICA formando il CARBOSSILE.
- Uscita di una molecola di acqua e del gamma glutammato.

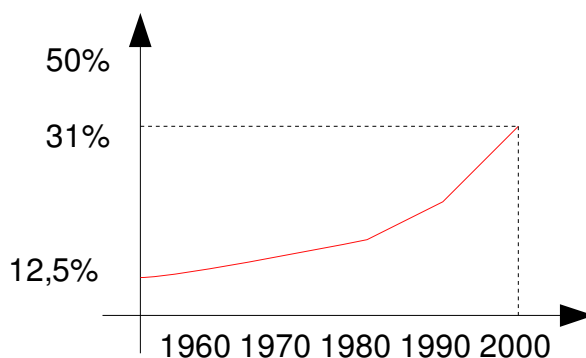
Il medesimo meccanismo di gamma carbossilazione risulta essenziale per il funzionamento di una proteina presente a livello osseo: la calbindina che grazie ai residui di gamma glutammato diviene un chelante del calcio.

IMPOSTAZIONE DELLE DIETE

il problema della IMPOSTAZIONE CORRETTA DELLA DIETA è estremamente importante per quanto ci riguarda in quanto la disponibilità di cibo nelle nostre regioni è ILLIMITATA cioè largamente superiore alla necessità: il livello di NUTRIZIONE è un aspetto molto importante nella nostra vita sia in senso positivo che negativo, si parla infatti di OBESITÀ e di MALNUTRIZIONE.

OBESITÀ NEGLI USA: l'incremento della obesità negli stati uniti presenta un trend raffigurabile in questo modo:

- 1960 → 12,5%
- 1970 → 14,5%
- 1980 → 15%
- 1990 → 23%
- 2000 → 31%



possiamo dire che si è registrata negli ultimi anni una decisa impennata del livello di obesità; l'aspetto importante è sicuramente il fatto che questa patologia va a colpire persone che in precedenza erano SANE aumentando considerevolmente le spese sanitarie e non solo, in particolare questo trend è imputabile:

1. crescita dell'apporto di CIBO sia in senso quantitativo che qualitativo (più raffinato e quindi meno fibroso).
2. Diminuzione, DECISIVA, DEL LAVORO MUSCOLARE dovuta alla presenza di sempre maggiori automazioni sia nella vita quotidiana sia nel lavoro, in particolare possiamo dire che l'introduzione di:
 1. PC (anni 80-90)
 2. INTERNET (anni 90)

Hanno contribuito notevolmente all'instaurarsi di tale fenomeno.

Per quanto concerne la DIMINUZIONE DEL LAVORO MUSCOLARE si possono dare informazioni relativamente alla qualità e quantità del cibo ingerito necessarie a supplire a tale diminuzione: È NECESSARIO CONOSCERE IL FABBISOGNO CALORICO UTILE A MANTENERE IL BMI NORMALE (possiamo dire compreso 20-25); si individuano in particolare delle fasce così distribuite:

- <20 → sottopeso
- 20-25 → normale
- 25-30 → sovrappeso
- >30 → obeso

sovrappeso e obesità come sottopeso presentano come conseguenze:

- incremento del rischio di morte RELATIVO, in particolare:
 - si stabilisce come rischio di mortalità "1" per una persona con BMI normale.
 - Tale indice di rischio risulta più elevato in caso di situazioni come:
 - sottopeso (incremento rischio di infezioni in particolare).
 - sovrappeso.
 - Obesità: condizione per la quale si arriva ad un RADDOPPIO DEL RISCHIO DI MORTALITÀ.
- Si assiste inoltre all'incremento della morbidità per condizioni come:
 - malattie cardiovascolari e non solo, per le donne in particolare:
 - Ipertensione > 4,2 volte.
 - Infarto > 3,2 volte.
 - cancro COLON > 3 volte.
 - Diabete di tipo 2 > 13 volte.

Per tutti questi motivi è necessaria una regolazione precisa delle necessità caloriche correlate ovviamente alle necessità e alla attività del proprio organismo, si parla di circa:
30 kcal/kg*die → VITA SEDENTARIA.

35 kcal/kg*die → LAVORO MUSCOLARE MODERATO.

40 kcal/kg*die → LAVORO MUSCOLARE INTENSO.

Complessivamente per quanto concerne il fabbisogno metabolico complessivo, possiamo dire che delle calorie assunte con la dieta:

- 60% è assorbito dal metabolismo basale.
- 30% è consumato dal lavoro muscolare (quando moderato).
- 10% è legato alle NECESSITÀ ENERGETICHE DI:
 - digestione → peristalsi per esempio ma anche sintesi di enzimi.
 - Assorbimento → in particolare TRASPORTO ATTIVO.
 - Riassorbimento → di nutrienti e composti.

Dei NUTRIENTI ASSUNTI.

Possiamo distinguere i macroalimenti tipicamente presenti a livello della nostra dieta in quattro categorie caratterizzate dalla presenza di diverso CONTENUTO ENERGETICO (espresso in kcal/g):

- CARBOIDRATI → 4 Kcal/g
- PROTEINE → 4 Kcal/g
- GRASSI → 9 Kcal/g
- ETANOLO → 7 Kcal/g

quest'ultimo è inoltre una fonte nutritizia particolarmente energetica, inoltre bevande alcoliche leggere come vino e birra contengono:

- micronutrienti.
- Vitamine.
- Sali minerali.

Essenziali per il nostro metabolismo.

in una dieta nella quale è necessario ridurre l'apporto calorico viene per prima cosa eliminato l'ETANOLO proprio in virtù del suo elevatissimo contenuto calorico.

Altro aspetto da tenere presente relativamente alla impostazione di una dieta è

sicuramente lo STATO DI STRESS dell'individuo: risulta necessario tenere conto della eventuale SECREZIONE INCREMENTATA DI ADRENALINA e della TERMOGENESI ACCENTUATA ad essa correlata.

I MACRONUTRIENTI, cioè come già detto CARBOIDRATI, PROTEINE E LIPIDI, sono vettori di micronutrienti essenziali per coprire il fabbisogno nutrizionale; nella impostazione di una dieta equilibrata quindi è necessario tener presenti:

- apporto CALORICO.
- Macronutrienti essenziali, non sintetizzabili come:
 - 10 AMMINOACIDI.
 - ALCUNE TIPOLOGIE DI LIPIDI.
- Micronutrienti essenziali come:
 - VITAMINE.
 - IONI e SALI MINERALI.

Possiamo quindi dire che in una dieta equilibrata il fabbisogno calorico deve essere coperto:

1. CARBOIDRATI → 45-65%
2. PROTEINE → 10-35%
3. LIPIDI → 20-35%

I CARBOIDRATI: si tratta sostanzialmente di semi di piante, in particolare distinguiamo fra i carboidrati comunemente disponibili sul mercato:

- CARBOIDRATI SEMPLICI: mono e di saccaridi come SACCAROSIO.
- CARBOIDRATI COMPLESSI: polisaccaridi come l'AMIDO.
- CARBOIDRATI GREZZI: cioè carboidrati complessi e fibre.

Questi carboidrati, una volta idrolizzati, producono glucosio essenziale per il nostro organismo; il comportamento di questi alimenti è differente a seconda della forma in cui vengono assunti: i CARBOIDRATI COMPLESSI e GREZZI presentano una capacità di aumento della glicemia MINORE e PIÙ LENTA, in particolare:

- MONO E DI SACCARIDI: sono metabolizzati immediatamente, giunti a livello intestinale vengono assorbiti molto velocemente provocando:
 - incremento immediato della GLICEMIA fino a picchi molto elevati, anche molto più elevati dei carboidrati complessi.
 - IPOGLICEMIA POST PRANDIALE dovuta alla IPERINSULINEMIA CAUSATA DALL'INCREMENTO DELLA GLICEMIA.

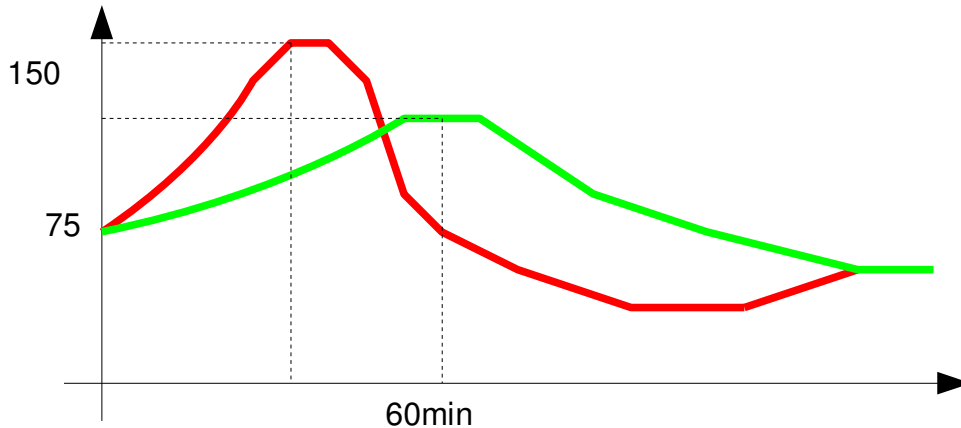
L'abbassamento, per assorbimento di glucosio, della glicemia accelera la sintesi di LIPIDI.

Possiamo quindi dire che CARBOIDRATI SEMPLICI presentano un ELEVATO INDICE GLICEMICO.

- CARBOIDRATI COMPLESSI: presentano un incremento della glicemia più lieve che raggiunge il suo picco in circa 60 minuti, non causano inoltre, visto il rilascio controllato a livello ematico, una ipoglicemia post prandiale.
Possiamo dire che I CARBOIDRATI COMPLESSI presentano un BASSO INDICE GLICEMICO

Gli alimenti ad elevato indice glicemico provocano uno STRESS SECRETIVO RISPETTO

ALLE CELLULE BETA DEL PANCREAS con incremento del rischio di patologie ad esse legate come per esempio il diabete di tipo II; per questo motivo si cerca di limitare nell'infanzia l'abuso di queste sostanze così da evitare problemi che si possono ripercuotere nell'età adulta.



Il livello di assunzione quotidiano di questi composti dovrebbe essere di 130g/die, questi alimenti sono infatti essenziali al mantenimento della omeostasi glicemica, non possiamo farne a meno infatti, nonostante la possibilità di ricavare glucosio da fonti di natura proteica, l'apporto glucidico è essenziale perché:

- il catabolismo delle proteine, alternativo al consumo di glucidi, produce azoto inorganico che viene ESCRETTO con le urine e le feci generando un bilancio azotato negativo.
- Al calo della concentrazione di amminoacidi corrisponde CALO DELLA SINTESI PROTEICA.
QUINDI UN bilancio azotato NEGATIVO.
- Il catabolismo degli amminoacidi, inoltre, può produrre due risultati:
 - glucosio.
 - Corpi chetonici con conseguente aumento della chetonemia.
- Inoltre nel complesso queste forme proteiche una volta consumate risultano essere estremamente COSTOSE a livello di produzione.

LE FIBRE: si tratta di composti non digeribili che quindi:

INCREMENTANO IL VOLUME DI CIBO ASSORBITO.

NON INCREMENTANO IL VALORE CALORICO DELLO STESSO.

Inoltre la fibra essendo idratata lentamente a livello intestinale PROVOCA UNA DIMINUITA VELOCITÀ DI SVUOTAMENTO DELL'INTESTINO cui conseguono nell'ordine:

- rigonfiamento DELL'INTESTINO cui consegue:
 - Stimolo alla secrezione delle COLECISTOCHININA duodenale.
 - Stimolo al NEURONE ANORESSIGENICO e STIMOLAZIONE DELLA SENSAZIONE DI SAZIETÀ.
- Stimolo del rigonfiamento del COLON cui consegue:
 - Stimolo alla SECREZIONE DEL PYY 3-36.
 - Stimolo al neurone ANORESSIGENICO e STIMOLAZIONE DELLA

SENSAZIONE DELLA SAZIETÀ.

Inoltre a livello del COLON la FIBRA presenta un'altra funzione essenziale: STIMOLANDO LA CONCENTRAZIONE DI SALI BILIARI A LIVELLO DEL LUME, che VENGONO SECRETI CON LE FECI, genera:

- Eliminazione dei sali biliari stessi.
- Stimolo alla sintesi dei sali biliari in sostituzione di quelli secreti.
- Consumo del colesterolo cellulare epatico.
- Diminuzione della colesterolemia.

LE PROTEINE: ci forniscono i 20 amminoacidi che utilizziamo per la sintesi delle proteine necessarie al nostro corpo, di questi:

- 10 sono non essenziali.
- 10 sono essenziali, in particolare:
 - 2 sono essenziali unicamente nella crescita:
 - arginina.
 - Istidina.
 - 8 sono essenziali nel corso di tutta la vita.
 - Triptofano.
 - Fenilalanina.
 - Lisina.
 - Treonina.
 - Valina.
 - Leucina.
 - Isoleucina.
 - Treonina.

LE PROTEINE possono essere ricavate da forme sia ANIMALI che VEGETALI; a seconda della fonte di riferimento possiamo ottenere proteine che per composizione presentano una qualità maggiore o inferiore, tale livello di qualità è definito numericamente con un numero inferiore o uguale a 1, in particolare distinguiamo:

PROTEINE ANIMALI che si trovano principalmente:

- UOVO = 1, si tratta infatti dell'alimento di riferimento per la categoria delle proteine di origine animale.
- CARNE E PESCE = 0,85-0,92
- GELATINA = 0,08

VEGETALI:

- SOIA = 1, si tratta infatti dell'alimento di riferimento per la categoria delle proteine di origine vegetale.
- LEGUMI = 0,68 sono:
 - POVERI IN METIONINA.
 - RICCHI IN LISINA.
- PANE INTEGRALE e CEREALI = 0,40 sono:
 - RICCHI IN METIONINA.
 - POVERI IN LISINA.

(sono cioè complementari, l'introito di cereali e legumi a livello della medesima dieta

è estremamente importante).

l'introito di cereali in ogni caso non è sufficiente a coprire il fabbisogno di proteico del nostro organismo.

LIPIDI: sono essenziali per la alimentazione e generalmente vengono assunti in forma di TRIACILGLICEROLI, possiamo distinguere:

- **ACIDI GRASSI SATURI:** si trovano principalmente nei prodotti caseari, nella carne e in alcuni oli vegetali (palma e cocco, molto diffusi in sud America), possiamo dire che complessivamente:
 - incrementano il livello plasmatico di LDL.
 - Incrementano il livello di COLESTEROLO PLASMATICO.

Incrementando quindi nel complesso il rischio di incorrere in rischi di natura cardiovascolare.

- **ACIDI GRASSI INSATURI:**
 - monoinsaturi: possiamo dire che derivano principalmente da vegetali e dal pesce, l'effetto complessivo di questi alimenti è di:
 - diminuire le LDL.
 - Incrementare le HDL.
 - Diminuire il livello di colesterolo ematico.

Presentano quindi un effetto decisamente positivo rispetto agli acidi grassi saturi.

- Polinsaturi: il loro effetto è strettamente legato alla posizione della insaturazione, in particolare vengono classificati in base alla distanza della insaturazione rispetto al metile che chiude la molecola in:
 - n6 o omega6: sono principalmente acidi LINOLEICO e LINOLENICO, sono essenziali e si trovano principalmente a livello di frutta secca e oli di vari semi; presentano complessivamente un effetto di questo tipo:
 - diminuiscono il livello di LDL.
 - Diminuiscono il livello di HDL.
 - Diminuiscono il livello del COLESTEROLO PLASMATICO.
 - N3: si trovano principalmente nelle piante e negli oli del pesce, in particolare MERLUZZO, ALICI, SALMONE, SARDINE e ARINGHE; l'effetto complessivo di questo tipo di alimenti è di:
 - riduzione dei triacilgliceroli sierici.
 - Eliminazione delle aritmie.
 - Riduzione delle trombosi.

Pur presentando un effetto limitato sui livelli di LDL e HDL presentano un effetto decisivo sul RISCHIO CARDIOVASCOLARE complessivo.

- acidi grassi insaturi a conformazione trans: possiamo dire che nonostante la presenza di insaturazioni presentano un effetto estremamente simile a quello degli acidi grassi SATURI, in particolare:
 - incrementano il livello di LDL.
 - Incrementano il rischio di malattie cardiovascolari.

Si formano in particolare in conseguenza alla IDROGENAZIONE di OLI

VEGETALI.

- COLESTEROLO DI ORIGINE ANIMALE presenta di fatto effetti minimi sul livello di colesterolo ematico.
- STEROLI VEGETALI.

Numerosi altri composti influenzano il livello di assorbimento degli acidi grassi saturi, insaturi e di colesterolo, in particolare il consumo di SOIA riduce del 10% il livello di colesterolo associato alle LDL, allo stesso modo un consumo limitato di alcolici leggeri, in particolare il vino rosso, oltre ad essere utile alla neutralizzazione di radicali liberi, è associato alla diminuzione del rischio cardiovascolare legato alla diminuzione delle LDL plasmatiche.

ORMONI SESSUALI

il CONTROLLO DEL RILASCIO DEGLI ORMONI SESSUALI è un meccanismo complesso che interessa sia l'individuo non maturo sessualmente, sia l'individuo maturo sessualmente; in particolare noi trattiamo del meccanismo di controllo di tale rilascio per quanto concerne l'INDIVIDUO ADULTO.

Gli ormoni sessuali sono:

- **ANDROGENI:** steroidi a 19 atomi di carbonio, in particolare:
 - ANDROSTENEDIONE.
 - TESTOSTERONE.
- **ESTROGENI:** steroidi aromatici a 18 atomi di carbonio, in particolare:
 - ESTRONE.
 - ESTRADIOLO.
- **PROGESTERONE** steroide a 21 atomi di carbonio.

Sono presenti sia nel maschio che nella femmina ma in quantità variabili in modo considerevole in ragione del sesso e del periodo del ciclo mestruale per la donna.

In particolare possiamo dire che il meccanismo interessa un flusso ormonale di questo tipo:

IPOTALAMO → IPOFISI → GONADI → TESSUTI PERIFERICI

si passa quindi attraverso ormoni di natura PEPTIDICA ed ORMONI DI NATURA STEROIDEA, l'asse di comunicazione ormonale che si attiva è molto simile a livello di funzionamento a quella degli ormoni tiroidei.

- **IPOTALAMO:** neuroni specifici il cui corpo cellulare è collocato a livello del NUCLEO ARCUATO inviano le loro estroflessioni verso la ADENOIPOFISI STIMOLANDONE ALCUNE COMPONENTI TRAMITE IL FATTORE DI RILASCIO DELLE GONADOTROPINE o GnRH, fattore di natura peptidica.
- **ADENOIPOFISI:** l'obiettivo del GnRH sono delle cellule dette GONADOTROPE che utilizzano un recettore a serpentina che sfrutta come secondo messaggero il sistema DAG e IP3; una volta stimulate queste cellule secernono:

- ORMONE LUTEINIZZANTE o LH
- ORMONE FOLLICOLO STIMOLANTE o FSH

entrambi gli ormoni presentano una struttura glicoproteica composta di due subunità alfa e beta la prima delle quali comune per entrambi gli ormoni e per il TSH.

- **I DUE ORMONI** eseguono in entrambi i casi due funzioni principalmente:
 - **FAVORISCONO LA GAMETOGENESI:**
 - **TESTICOLO** → stimolano la produzione di sperma nel tubulo seminifero (dove avviene la maturazione dello spermatozoo); a livello del tubulo seminifero si riscontra la presenza di due citotipi:
 - **CELLULE DI LEIDIGH:** si appoggiano sulla membrana basale del tubulo

e presentano un recettore per l'ormone LH.

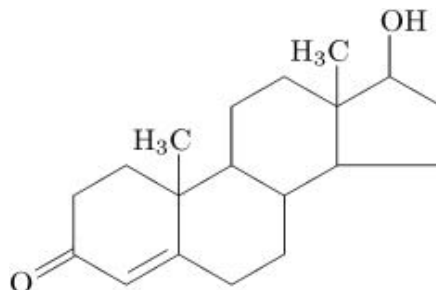
- CELLULE DEL SERTOLI: si collocano all'interno della membrana basale, in particolare queste sono unite fra loro da tight junction a formare la barriera EMATOTESTICOLARE; presentano il recettore per l'ormone FSH.

I GAMETI si collocano in sacche a livello della cellula del sertoli a diversi livelli di maturazione:

- spermatogoni.
- Spermatociti primari e secondari.
- Spermatidi.
- Spermatozoi.

Anche in questo caso i due recettori ormonali sono A SERPENTINA e in seguito alla stimolazione incrementano la produzione di cAMP e, conseguentemente, la attivazione delle chinasi; in particolare la azione si svolge in questo modo:

- STIMOLAZIONE DA PARTE DI LH DELLA CELLULA DI LEIDIGH → il colesterolo:
 - viene trasformato dalla P450scc in PREGNENOLONE.
 - Il PREGNENOLONE viene idrossilato dalla 17 idrossilasi in 17 IDROSSI PREGNENOLONE.
 - Un'altra idrossilasi della famiglia P450 interviene con azione DESMOLASICA e distrugge la catena laterale della molecola formando un gruppo carbonilico; il composto presenta ora 19 atomi di carbonio e viene detto DEIDROEPIANDROSTERONE.
 - OSSIDAZIONE DELL'OSSIDRILE IN POSIZIONE 3 tramite la 3IDROSSI DEOSSIGENASI che presenta anche in questo caso una funzione isomerizzante con spostamento del doppio legame dalla posizione 5,6 alla posizione 4,5; otteniamo così L'ANDROSTENE DIONE.
 - RIDUZIONE DELL'ANDROSTENE DIONE a TESTOSTERONE in particolare tramite trasformazione del gruppo chetonico in posizione 17 ad ossidile.



L'ORMONE SECRETO circola nel sangue VEICOLATO DA PROTEINE come ALBUMINA o SEX HORMONE BINDING PROTEIN; la produzione in un individuo adulto è di circa 4-10mg/die. In realtà sia L'ANDROSTENEDIONE che il TESTOSTERONE sono attivi a livello

ormonale.

La CATABOLIZZAZIONE avviene nel fegato per GLUCURONO E SOLFO CONIUGAZIONE; il catabolita principale è sicuramente l'ANDROSTERONE che viene eliminato con la bile e con le urine in particolare nella sua forma glucuronata.

- AZIONE DEL TESTOSTERONE SULLA CELLULA DEL SERTOLI: questo ormone incrementa la SINTESI PROTEICA, fra le proteine indotte si riconoscono:
 - ANDROGEN BINDING PROTEIN o ABP, la cellula del SERTOLI è quindi capace di catturare il testosterone dal circolo e di trattenerlo.
 - RECETTORE PER L'FSH che viene esposto a livello della membrana plasmatica.

Inoltre il testosterone viene liberato nel fluido cellulare STIMOLANDO LA GAMETOGENESI tramite un meccanismo di stimolazione della trascrizione.

- STIMOLAZIONE DA PARTE DI FSH DELLA CELLULA DEL SERTOLI: la stimolazione ormonale da FSH determina:
 - STIMOLAZIONE ALLA PRODUZIONE DEL RECETTORE DEL TESTOSTERONE.
 - STIMOLAZIONE ALLA PRODUZIONE DEL RECETTORE PER L'FSH stesso.

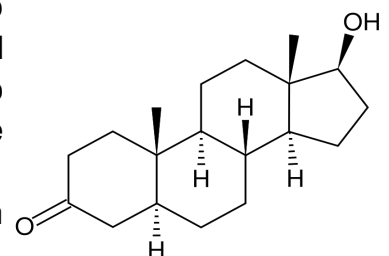
Possiamo dire che l'effetto di un ormone è di stimolare l'effetto dell'altro.

In generale per la azione degli ormoni sessuali sull'intero organismo maschile si assiste allo SVILUPPO DEI CARATTERI SESSUALI SECONDARI in particolare:

- sviluppo muscolare.
- Apparato pilifero.
- Epidermide maschile in generale.
- Laringe dalla quale deriva la voce maschile alla pubertà.
- Cervello in particolare influisce sul comportamento stimolando:
 - aggressività.
 - Competizione.
 - Il testosterone inoltre ha un effetto inibitorio sulla IPOFISI, inibendo il rilascio di FSH ed LH, e sull'IPOTALAMO, inibendo il rilascio del GnRH e quindi delle GONADOTROPINE stesse.

CASTRAZIONE CHIMICA → si sceglie un ormone capace di:

- legarsi al recettore ipotalamico e ipofisario dando quindi effetto FEEDBACK.
- Capace di dare effetti molto inferiori del testosterone a livello gonadico.



NEI TESSUTI inoltre il TESTOSTERONE viene idrossilato a DIIDROTESTOSTERONE ancora più potente del testosterone normale, questo:

- NON PUÒ ESSERE CONVERTITO IN ESTROGENI.
- NON HA EFFETTO DI FEEDBACK NEGATIVO SULLA IPOFISI.

È importante sottolineare per quanto concerne la regolazione della secrezione delle gonadotropine ipofisarie e quindi del testosterone che questa è regolata da un meccanismo ad intermittenza di questo tipo:

- GnRH viene secreto in modo PULSATILE.
- LH in risposta viene secreto in modo pulsatile esso stesso.
- LA STIMOLAZIONE ALLA PRODUZIONE DI TESTOSTERONE A LIVELLO GONADICO RISULTA QUINDI PULSATILE tuttavia la presenza della SHBG (sex hormone binding globulin o SHBP) consente un rilascio meno pulsatile del testosterone.

La frequenza della pulsazione risulta essere circa di due ore. Un altro fattore importante per quanto concerne i livelli di regolazione ormonale coinvolge sicuramente l'inibina, secreta a livello delle cellule del sertoli che presenta funzione inibitoria rispetto alla produzione di FSH.

- OVAIO → produzione di cellule uovo. A livello della gonade femminile abbiamo una cellula uovo unica che però strutturalmente si presenta in modo molto simile al tubulo seminifero:
 - CELLULA UOVO CENTRALE che di fatto rappresenta il GAMETE FEMMINILE.
 - CIRCONDATA DA:
 - cellule della granulosa → sensibili alla azione dell'FSH
 - Cellule della teca → sensibili alla azione dell'LH

LA AZIONE ORMONALE SI ESTRINSECA QUINDI IN QUESTO MODO:

- LH → agisce sulle cellule delle TECA stimolando la PRODUZIONE DI TESTOSTERONE A PARTIRE DA COLESTEROLO, ovviamente TRAMITE IL PREGNENOLONE, in particolare:
 - IDROSSILAZIONE cui consegue la formazione del 17 idrossi pregnenolone.
 - Azione DESMOLASICA con produzione di DEIDROEPIANDROSTERONE, questo può passare alle cellule della GRANULOSA, in seguito alla azione della 3,4deidrogenasi, in due forme distinte:
 - ANDROSTENE DIONE che presenta due gruppi carbonilici e può a sua volta essere trasformato in
 - TESTOSTERONE per riduzione del carbonile in posizione 17 a ossidile.

Entrambi passano alle cellule della GRANULOSA, non steroidogeniche:

- CONVERSIONE DEI DUE ANDROGENI IN ORMONI FEMMINILI:
 - AROMATASI interviene su entrambe le molecole; in particolare

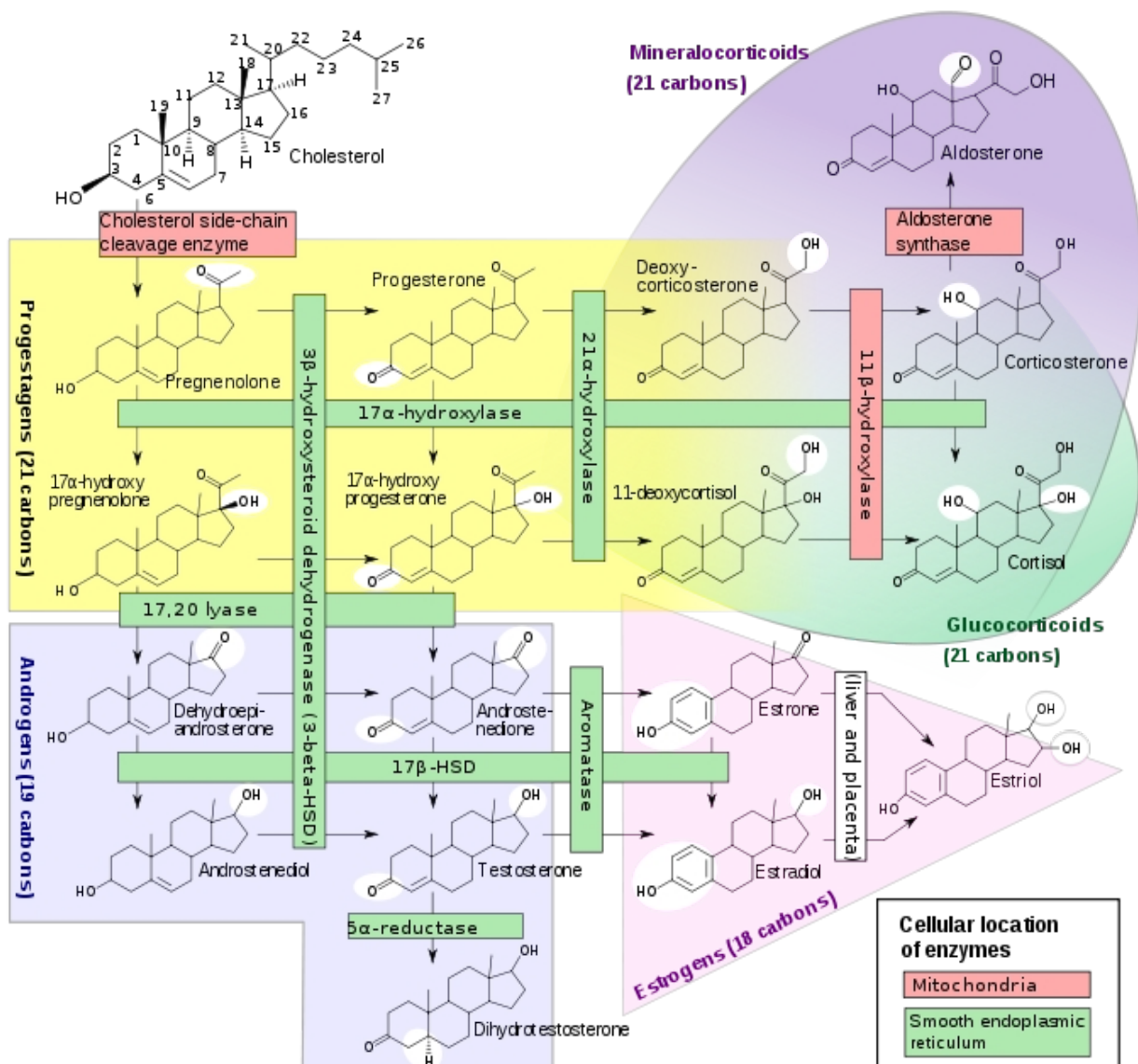
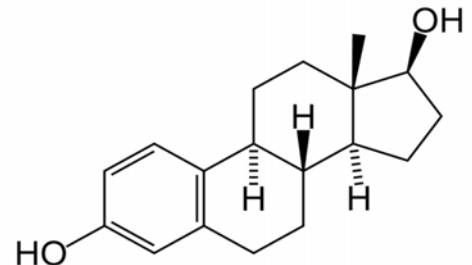
L'ANELLO A SUBISCE UNA MODIFICAZIONE che porta alla AROMATIZZAZIONE DELLA MOLECOLA cui consegue la ELIMINAZIONE DELL'ATOMO DI CARBONIO IN POSIZIONE 19 e la RIDUZIONE DEL CARBONILE IN POSIZIONE 3 AD OSSIDRILE; a queste modificazioni conseguono le trasformazioni:

- androstene dione → ESTRONE.
- testosterone → ESTRADIOLO (nell'immagine).

- FSH → stimolazione alla produzione di ORMONI FEMMINILI in particolare tramite STIMOLAZIONE DELLA AROMATASI; stimola anche l'esposizione dei recettori per l'LH preparando la granulosa alla luteinizzazione.

Possiamo dire quindi che i due ormoni LH ed FSH contribuiscono alla produzione di ESTROGENI agendo rispettivamente sulle cellule della TECA e della GRANULOSA.

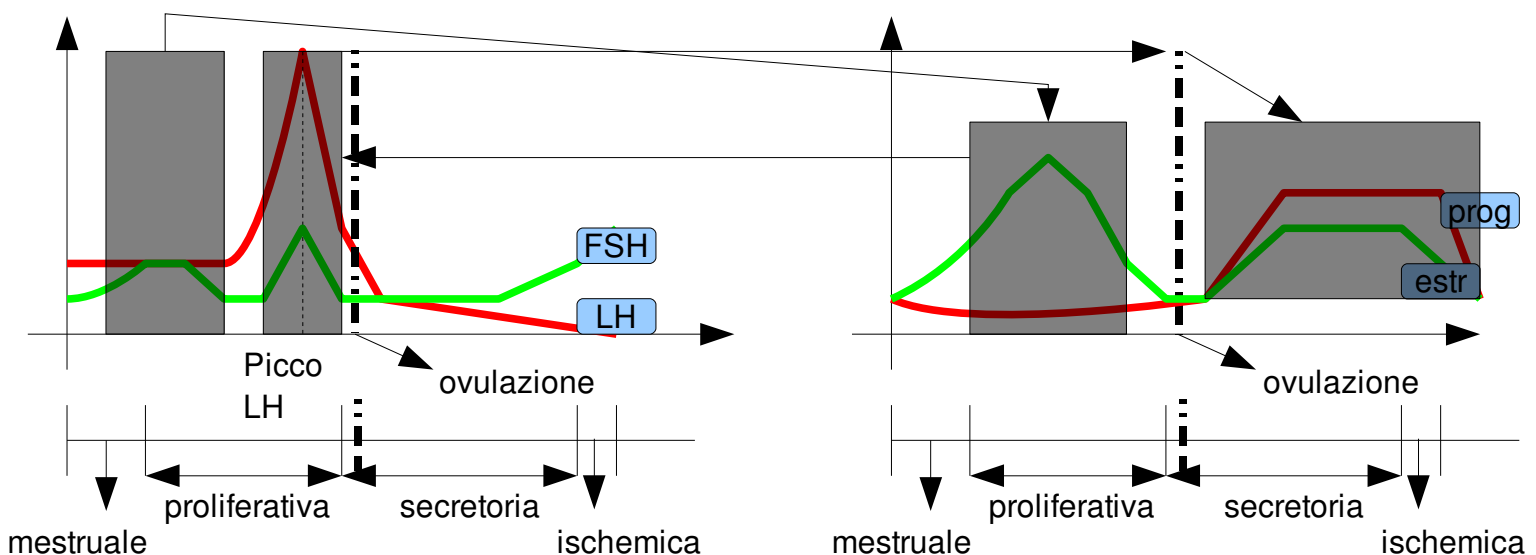
- LH agisce anche a livello delle cellule della GRANULOSA dove stimola la luteinizzazione delle cellule stesse e la loro conversione a cellule produttrici di progesterone.



CICLICITÀ DEI LIVELLI DEGLI ORMONI SESSUALI NEL CICLO MESTRUALE: si tratta di un meccanismo ciclico che possiamo schematicamente dividere in quattro parti distinte:

- **FASE MESTRUALE:** dalla durata di 4-5 giorni, comincia con il primo giorno di mestruazione.
- **FASE PROLIFERATIVA O ESTROGENICA:** dalla durata di circa 9 giorni, coincide con la crescita dei follicoli ovarici ed è controllata da livelli estrogenici prodotti dai follicoli stessi su stimolazione di LH ed FSH.
- **OVULAZIONE:** che avviene tipicamente appena in seguito al picco di LH (24-36 ore dopo).
- **FASE SECRETORIA: o PROGESTINICA:** della durata di circa 13 giorni, coincide con la formazione, la crescita e la attività del corpo luteo generata di fatto dalla luteinizzazione della granulosa stimolata dalla attività dell'ormone LH.

→ = causa



Possiamo dire che i quattro ormoni principalmente coinvolti nel controllo di tale ciclo si regolano in modo molto preciso vicendevolmente in particolare attraverso meccanismi di feedback che interessano principalmente IPOFISI ed IPOTALAMO e, di conseguenza, le gonadi. In particolare:

- **IPOTALAMO:** anche in questo caso la secrezione di GnRH risulta di natura pulsatile; il GnRH stesso presenta un effetto di feedback definito di natura ULTRABREVE rispetto alla secrezione di sé stesso.
- **IPOFISI:** le cellule gonadotrope, stimulate come noto da una via di trasmissione del segnale DAG-IP3 dipendente, secernono LH ed FSH, questi due ormoni:
 - LH presenta una azione stimolante rispetto alla produzione di androgeni e di alla luteinizzazione della granulosa con produzione

di progesterone. Presenta un effetto di feedback negativo breve a livello della produzione di GnRH.

- FSH presenta azione stimolante rispetto alla aromatasi, possiamo dire che esercita un effetto di feedback negativo breve rispetto alla produzione di GnRH.

A livello della cellula uovo risulta essenziale dividere il ciclo in due parti:

- **PRIMA DELLA OVULAZIONE:** la stimolazione di LH ed FSH genera rispettivamente:
 - stimolazione rispetto alla produzione di ANDROGENI.
 - Stimolazione rispetto alla loro conversione in ESTROGENIpossiamo dire che gli estrogeni presentano una azione di **FEEDBACK VARIABILE SULLA SECREZIONE DELLE GONADOTROPINE**, infatti:
 - livelli elevati di estrogeni stimolano la **PRODUZIONE DI GONADOTROPINE IPOFISARIE**, meccanismo essenziale per la **OVULAZIONE**: sono questi elevati livelli iniziali a stimolare l'insorgenza del picco di LH e quindi l'ovulazione.
 - Livelli di estrogeni normali presentano invece un effetto **INIBITORIO RISPETTO ALLA SECREZIONE DI GnRH** e quindi di LH ed FSH.
- **DOPO L'OVULAZIONE:** con lo sviluppo del corpo luteo, dato dalla luteinizzazione della granulosa stimolata dalla azione dell'LH, si assiste ad un incremento dei livelli di progesterone che presentano un effetto detto di feedback negativo lungo sulla produzione di LH ed FSH.

EFFETTO BIOLOGICO DEGLI ORMONI FEMMINILI:

ESTROGENI:

- sviluppo dei caratteri sessuali femminili.
- Crescita dell'utero.
- Sviluppo della ghiandola mammaria.
- Azione di regolazione sul metabolismo osseo.

PROGESTERONE:

- sviluppo della ghiandola mammaria.
- Inibizione della motilità uterina.

Trasformazione secretoria dell'endometrio.

L'AZIONE DELLA PILLOLA: la pillola ha come azione principale quella di impedire la ovulazione, in particolare questa forma di anticoncezionale orale contiene:

- UN ESTROGENO.
- UN PROGESTINICO.

Possiamo dire che la azione dei due ormoni sopracitati si estrinseca in questo modo:

- **LIVELLI ELEVATI DI ESTROGENI E PROGESTERONE** inibiscono in linea generale il livello di produzione ipotalamico e ipofisario degli ormoni necessari a garantire la funzionalità del ciclo.
- **LIVELLI ELEVATI DI PROGESTERONE** inibiscono la produzione in particolare di LH impedendo quindi la ovulazione, sostanzialmente comunica all'ipotalamo con la sua presenza nella prima parte del ciclo che l'ovulazione è avvenuta.

- LIVELLI CONTROLLATI DI ESTROGENI impediscono la maturazione della cellula uovo in quanto in quanto non consentono livelli di stimolazione necessari alla creazione del picco di LH essenziale alla ovulazione.

TRAMITE FENOMENI DI FEEDBACK NEGATIVI INIBISCONO LA SINTESI DI ORMONI SESSUALI IN PARTICOLARE

LA TEMPERATURA IDEALE PER LA SPERMATOGENESI è più bassa della temperatura corporea di circa 3-4 gradi, si aggira cioè intorno ai 33-34 gradi centigradi; una eccessiva vicinanza dell'apparato testicolare alla pelvi provoca inevitabilmente un innalzamento della temperatura e una diminuzione della produzione di spermatozoi.

SEDE DI PRODUZIONE DEGLI ORMONI SESSUALI:

- PROGESTERONE: viene sintetizzato da:
 - CORTICALE DEL SURRENE come precursore di altri ormoni principalmente ma anche a fine secretorio.
 - CORPO LUTEO.
 - PLACENTA.
- ESTROGENI:
 - ESTRADIOLO in particolare viene sintetizzato:
 - cellule della granulosa.
 - Cellule del Sertoli.
 - ESTRONE:
 - cellule della granulosa.
 - Corticale del surrene.
 - Placenta.
- ANDROGENI:
 - TESTOSTERONE: ottenibile a partire da PREGNENOLONE o da PROGESTERONE, viene sintetizzato a livello di:
 - cellule della teca.
 - Cellule di leydigh.
 - Corticale del surrene.
 - Placenta.

LE PROTEINE PLASMATICHE

IL PLASMA: il plasma costituisce il 55% in peso di tutto il tessuto del sangue; le sue componenti sono numerose e varie, in particolare si ricordano:

❖ ACQUA 90%.

❖ ANIDRIDE CARBONICA.

❖ COMPONENTI INORGANICHE:

○ Sodio.

○ Potassio.

○ Calcio.

○ Magnesio.

○ Ferro.

○ Rame.

○ Cloro.

○ Acido carbonico.

❖ LIPIDI: sono tutte le componenti tipicamente lipidiche del corpo umano, in particolare:

○ Colesterolo.

○ Fosfolipidi.

○ Acidi grassi.

○ Trigliceridi.

○ Ormoni steroidei.

❖ VITAMINE.

❖ SCARTI: azoto non proteico espresso in urea, acido urico e creatinina, spesso vengono smaltiti tramite il sudore.

❖ PROTEINE: sono una componente consistente, dal 7 al 9 % delle componenti del plasma; si ricordano in particolare:

NOME	LUOGO DI PRODUZIONE	FUNZIONE	VALORI NORMALI
ALBUMINE	Fegato	Trasporto di metaboliti e varie molecole associate al sangue.	3,2-5,1
GLOBULINE alfa1, di questa categoria fanno parte: ● HDL ● protrombina. ● Transcortina. ● Antitripsina.	Fegato	Trasportatori ma non solo	0,06-0,39
GLOBULINE alfa2, di	Fegato	Trasportatori	0,28-0,74

questa categoria fanno parte: ● proteine leganti vitamine liposolubili. ● Ceruloplasmina.			
GLOBULINE beta, di questa categoria fanno parte: ● LDL. ● Transferrina. ● Fibrinogeno. ● SHBG.	Fegato	Trasportatori	0,69-1,25
GLOBULINE gamma a loro volta classificabili in: ● IgA ● IgG ● IgM ● IgD ● IgE	Cellule ematiche del sistema reticolo endoteliale.	Funzione immunitaria	0,80-2,0 0,15-0,35 0,80-1,80 0,08-0,18 0,003
COMPLEMENTO	Fegato	Azione immunitaria.	
ORMONI PROTEICI	ghiandole	Messaggeri.	

Le proteine plasmatiche sono in realtà classificabili anche in numerose altre specie; alterazioni delle percentuali di tali proteine può essere essenziale per la diagnosi di date patologie. Le proteine plasmatiche presentano un turnover estremamente elevato, in modo particolare possiamo dire:

- ALBUMINA: subisce un ricambio di circa il 25% del totale ematico della sua concentrazione in un giorno.
- FIBRINOGENO: in 5-6 ore subisce un ricambio totale.

IN MEDIA LE PROTEINE PLASMATICHE HANNO UN TURNOVER DI 10 GIORNI.

Per quanto concerne le proteine che presentano struttura glicoproteica, cioè la quasi totalità delle proteine plasmatiche, la loro emivita è data generalmente dai livelli di acido sialico presente nella componente glucidica.

ALBUMINA: si tratta sicuramente della proteina plasmatica più rappresentativa, da sola costituisce il 55% di tutte le proteine plasmatiche, in particolare possiamo dire che:

1. PESO MOLECOLARE di circa 69.000 uma.
2. COSTITUITA DA UNA SOLA CATENA POLIPEPTIDICA.
3. 18 LEGAMI DISOLFURO che garantiscono la stabilità dei ripiegamenti strutturali.
4. Presenta due funzioni principalmente:
 1. TRASPORTO: si tratta di un trasportatore aspecifico essenziale per la mobilitazione sanguigna di:
 1. acidi grassi liberi.
 2. Bilirubina.

Giordano Perin; biochimica nutrizionale13: proteine plasmatiche

3. Ormoni tiroidei.
2. OSMOTICA: da sola contribuisce a costituire l'80% della pressione osmotica plasmatica totale.

Il materiale pubblicato è posto sotto [licenza creative commons](#)



[Leggi le note legali.](#)

Trovi una raccolta dei miei appunti e molto altro su

www.sonofgreatmatrix.altervista.org

nella sezione "I MIEI APPUNTI".

Tutte le immagini non prodotte da me (e di conseguenza poste sotto la medesima licenza sopra descritta) sono tratte:

- DA WIKIPEDIA e sono quindi poste sotto licenza, nello specifico le licenze possono essere:
 - [Creative Commons Attribution-ShareAlike 3.0 Unported License.](#)
 - [GNU Free Documentation License.](#)

Ogni immagine riporta uno specifico link alla pagina di riferimento su wikipedia dove sono indicate le specifiche licenze.

- DA UNA VECCHIA EDIZIONE DEL GRAY'S ANATOMY del 1918 che ha perso il diritto d'autore, tali immagini sono completamente opensource e le [trovate qui.](#)

Nonostante le mie attenzioni e le attenzioni delle persone che mi aiutano (e che ringrazio) sicuramente possono essere presenti degli errori o delle imprecisioni che vi invito, se possibile, a segnalarmi. Per qualsiasi problema, errori, consigli, informazioni mandami una mail a:

figliodibuonamatrix@gmail.com



Giordano Perin

I miei appunti li trovi anche su:
www.sonofgreatmatrix.altervista.org
Per qualsiasi problema mandami una mail a:
pperin@alice.it
figliodibuonamatrix@gmail.com