

La catena respiratoria

La **catena respiratoria** catalizza il *trasporto di elettroni dal NADH o dall'ubichinone ridotto all'ossigeno molecolare* (O_2). A causa della grande differenza tra i potenziali di riduzione del donatore ($NADH + H^+$ o ubichinone ridotto) e l'accettore (O_2), queste reazioni redox sono *fortemente esoergoniche* (vedi p. 28). Gran parte dell'energia disponibile viene utilizzata per la formazione di un **gradiente elettrochimico** (vedi p. 116) che viene a sua volta usato dall'ATP sintasi per produrre ATP.

A. Componenti della catena respiratoria

La catena di trasporto degli elettroni comprende **tre complessi proteici (complessi I, III e IV)** inseriti nella membrana mitocondriale interna (vedi p. 194) e **molecole di trasferimento mobili** quali l'*ubichinone* (coenzima Q) e il *citocromo c*. La *succinato deidrogenasi*, che in realtà appartiene al ciclo del citrato, viene indicata come complesso II della catena respiratoria. L'*ATP sintasi* (vedi p. 116) viene denominata **complesso V**, anche se non partecipa al trasporto degli elettroni.

Tutti i complessi della catena respiratoria sono formati da **numerosi subunità polipeptidiche** e contengono una serie di **coenzimi redox** legati alle proteine (vedi p. 100). Tra questi vi sono le *flavine* (FMN o FAD, nei complessi I e II), i **centri ferro-zolfo** (centri Fe/S; I, II e III) e i gruppi eme (II, III, IV). La struttura della maggior parte dei complessi non è ancora nota.

Gli elettroni possono essere **introdotti nella catena respiratoria in punti diversi**. Quando sono forniti dal NADH attraversano il **complesso I** passando dall'FMN ai centri Fe/S per giungere all'ubichinone. Anche gli elettroni che derivano dall'ossidazione del succinato, dall'acil-CoA e da altri substrati vengono trasferiti all'ubichinone rigenerando il FAD legato ad un enzima; il processo è mediato dal **complesso II** o da altre *deidrogenasi mitocondriali*.

L'ubichinone ridotto trasferisce i suoi elettroni al **complesso III** che a sua volta, attraverso due gruppi eme di tipo b, un centro Fe/S e un gruppo eme di tipo c (citocromo c_1), tutti legati al complesso, riduce la piccola emoproteina *citocromo c*. Quest'ultima trasporta gli elettroni al **complesso IV**, la *citocromo c ossidasi*. La citocromo c ossidasi contiene due ioni rame (Cu_A e Cu_B) e i gruppi eme a e a_3 attraverso i quali gli elettroni arrivano finalmente all'ossigeno. L'anione fortemente basico

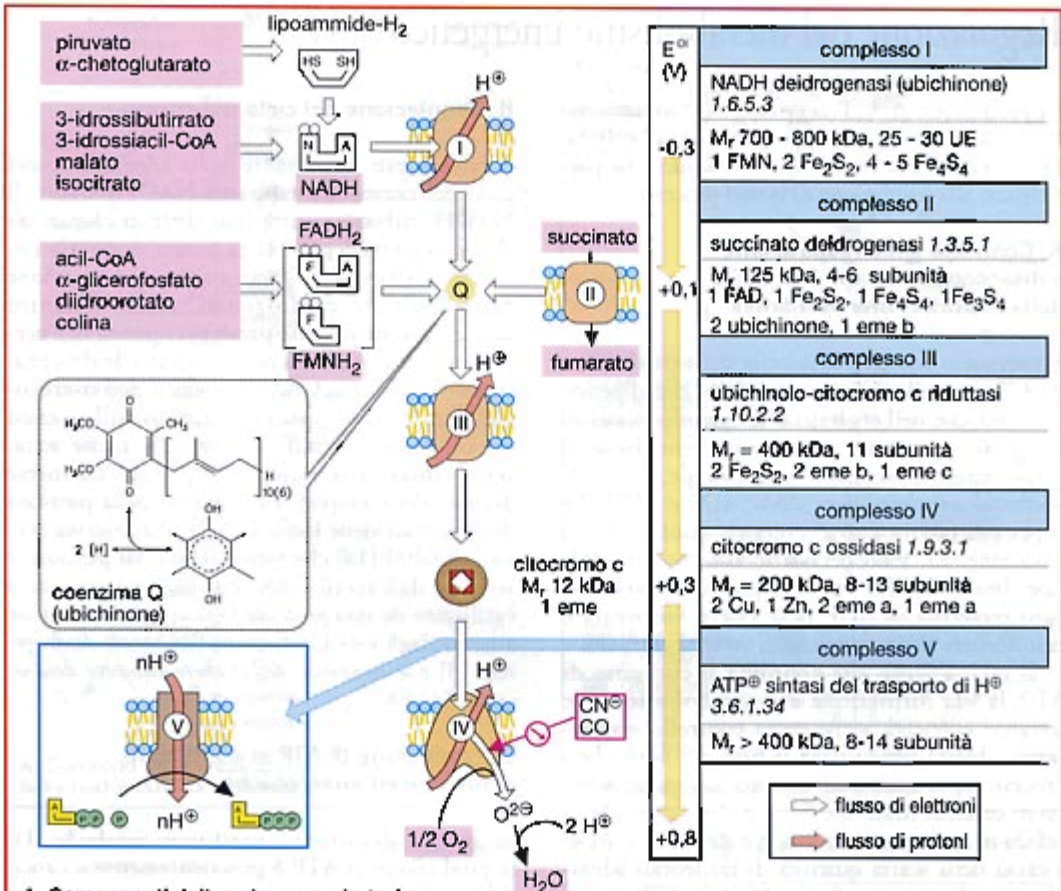
O_2^{2-} che nasce nella riduzione di O_2 lega due protoni e si trasforma così in acqua. Il flusso degli elettroni, attraverso i complessi I, II e IV, è energeticamente accoppiato alla formazione di un **gradiente protonico**.

B. Disposizione dei complessi nei mitocondri

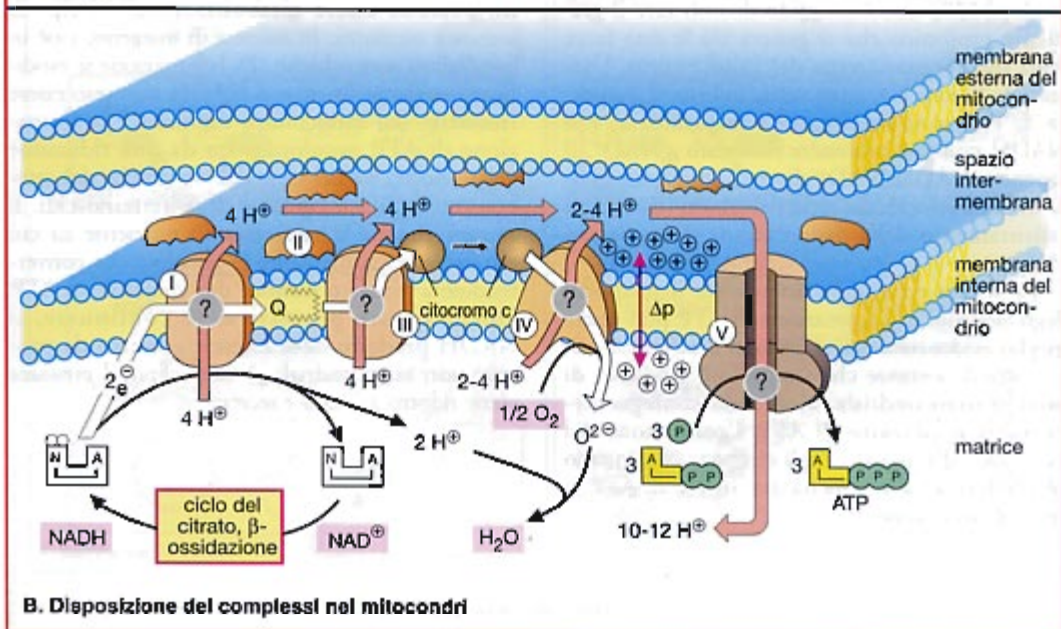
Il trasporto dei protoni effettuato dai complessi I, III e IV avviene in modo **vettoriale** dalla matrice verso lo spazio intermembrana. Durante il trasporto di elettroni, la concentrazione di H^+ in questa regione del mitocondrio tende ad aumentare per cui il valore del pH diminuisce. In mitocondri integri, solo la *ATP sintasi* permette il flusso inverso dei protoni nella matrice. Ciò è alla base dell'**accoppiamento energetico** tra il trasporto di elettroni e la formazione di ATP (vedi p. 132).

Come abbiamo visto, i complessi, compreso il V, sono tutti **proteine integrali della membrana interna del mitocondrio** e non sono in contatto diretto tra loro. L'ubichinone si muove liberamente nella membrana a causa della sua lunga catena laterale non polare. La citocromo c invece è solubile in acqua e si lega alla **superficie esterna della membrana interna**.

L'ossidazione del NADH, operata dal complesso I, ha luogo sulla **superficie interna** della membrana mitocondriale interna, quindi a contatto con la matrice, dove svolgono la loro funzione anche il ciclo del citrato e la β -ossidazione, i principali produttori di NADH. Anche la riduzione dell' O_2 e la formazione di ATP avvengono su questa faccia della membrana interna. L'ATP formato nella matrice viene poi trasportato all'esterno da un **antiporto** che lo scambia con ADP (vedi p. 196).



A. Componenti della catena respiratoria



B. Disposizione dei complessi nel mitocondrio

Regolazione del metabolismo energetico

La produzione di ATP deve essere continuamente adattata al fabbisogno energetico della cellula. Descriveremo ora alcuni dei meccanismi che partecipano alla regolazione di questi processi.

A. Controllo della respirazione e disaccoppiamento della fosforilazione ossidativa

È necessario adattare la velocità della produzione di ATP a quella del suo consumo, che dipende dal fatto che nell'organismo le quantità totali di coenzimi e nucleotidi sono relativamente basse. Il corpo umano contiene in totale solo da 3 a 4 g di nucleotidi adeninici liberi (AMP, ADP e ATP). Per coprire il fabbisogno energetico quotidiano di circa 8000 kJ, sono necessarie 160 moli di ATP, cioè circa 80 kg! Per ottenere questa disponibilità, ogni molecola di ADP deve essere fosforilata e defosforilata alcune migliaia di volte al giorno.

Il meccanismo che coordina il consumo di ATP, la sua formazione e il catabolismo delle sostanze nutrienti, viene detto **controllo respiratorio**. Questa regolazione si basa sul fatto che i processi sopra citati sono tra loro **accoppiati**, avendo in comune molti coenzimi e altri fattori. Se la cellula non consuma ATP, non è disponibile ADP a causa della scarsa quantità di nucleotidi adeninici ricordata prima. Senza ADP, la ATP sintasi (vedi p. 130) non è in grado di utilizzare il gradiente protonico che si genera tra le due facce della membrana interna del mitocondrio. L'accumulo di ioni H^+ , a sua volta, inibisce il trasporto di elettroni nella catena respiratoria, e il NADH non può più essere riossidato a NAD^+ . Il rapporto $NADH/NAD^+$ diventa quindi un indice di bassa velocità del ciclo del citrato (B) e di un rallentamento della degradazione dei substrati (SH_2).

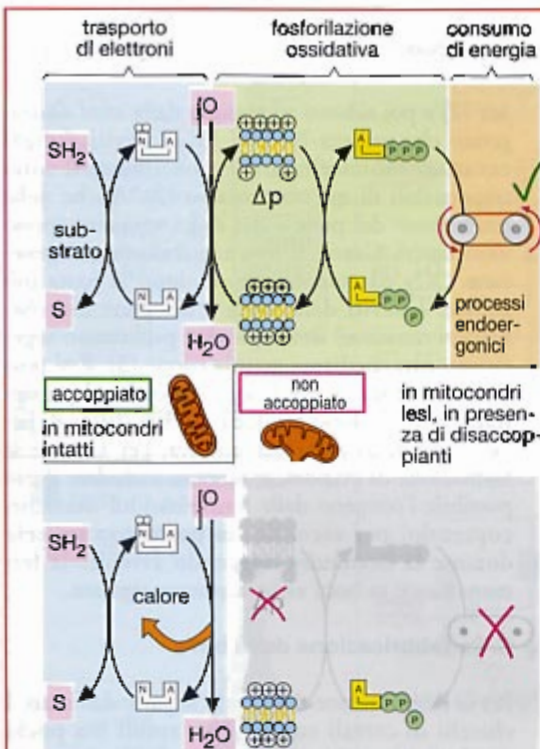
La stretta relazione esistente tra il trasporto degli elettroni e la formazione di ATP può essere meglio evidenziata dall'effetto dei disaccoppianti. Si tratta di sostanze che scaricano il gradiente di protoni mitocondriale, bloccando conseguentemente la produzione di ATP. L'ossidazione dei substrati e il trasporto degli elettroni continuano ad avvenire ad alta velocità ma, invece di ATP, si crea soltanto calore.

B. Regolazione del ciclo del citrato

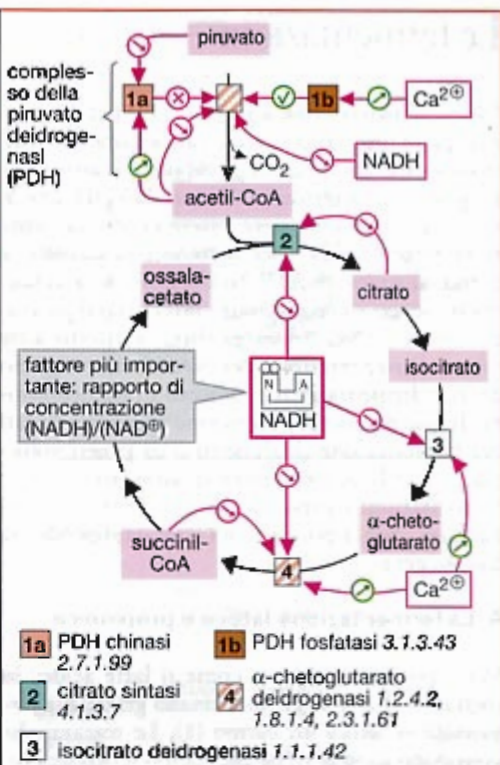
Il fattore più importante nella regolazione del ciclo del citrato è il rapporto $NADH/NAD^+$. Il NADH inibisce i complessi delle α -chetoadido deidrogenasi (vedi p. 124), la citrato sintasi e la isocitrato deidrogenasi. Questi enzimi, ad eccezione della isocitrato deidrogenasi, vanno incontro anche ad inibizione da prodotto operata dall'acetil-CoA nel complesso della piruvato deidrogenasi, da succinil-CoA nel complesso dell' α -chetoglutarato deidrogenasi e dal citrato nella citrato sintasi. Alcuni enzimi sono regolati anche attraverso l'interconversione (vedi p. 110) tra forme diverse. Per esempio, il complesso della piruvato deidrogenasi viene fosforilato da una proteina chinasi (in alto) [1a] che viene inibita dal piruvato e attivata dall'acetil-CoA. La reazione inversa è catalizzata da una proteina fosfatasi [1b] che viene attivata dagli ioni Ca^{2+} , come l'isocitrato deidrogenasi [3] e il complesso dell' α -chetoglutarato deidrogenasi [4].

C. Produzione di ATP in condizioni aerobiche ed anaerobiche

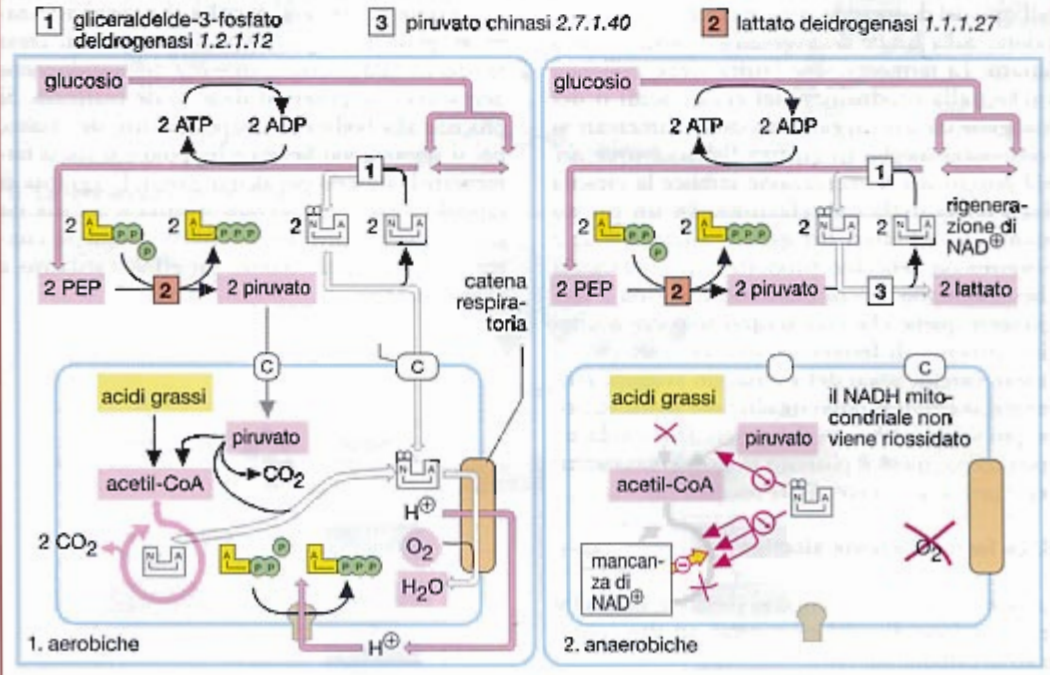
In presenza di ossigeno (condizioni aerobiche, 1), la produzione di ATP è prevalentemente a carico della fosforilazione ossidativa. In queste condizioni, possono essere catabolizzati tutti i tipi di sostanze nutrienti. In assenza di ossigeno, cioè in condizioni anaerobiche (2), la situazione si modifica considerevolmente: il NADH non può essere riossidato dai mitocondri, diminuisce la formazione di ATP, accompagnata da una riduzione della velocità sia del ciclo del citrato che del catabolismo degli acidi grassi e degli amminoacidi. Il glucosio rimane la sola sostanza nutriente da cui estrarre energia mediante la glicolisi, che convertendolo a piruvato fornisce due molecole di ATP. Poiché questo processo deve continuare, il NADH prodotto deve essere rigenerato da processi non mitocondriali. A tale scopo, il piruvato viene ridotto a lattato e secreto.



A. Controllo della respirazione e disaccoppiamento della fosforilazione ossidativa



B. Regolazione del ciclo del citrato



C. Produzione di ATP in condizioni aerobiche ed anaerobiche

Le fermentazioni

Come abbiamo visto a pagina 132, per la maggior parte degli organismi il catabolismo del glucosio a piruvato è l'unica possibilità, in assenza di ossigeno, di sintetizzare ATP. Il NADH che si forma nel processo deve essere continuamente riossidato a NAD⁺ per sostenere la glicolisi e quindi la sintesi di ATP. Nell'organismo animale, questo scopo viene raggiunto riducendo il piruvato a lattato. Nei microrganismi, esistono altre forme di rigenerazione del NAD⁺ che vengono definite **fermentazioni**. I processi di fermentazione di origine microbica vengono spesso impiegati per la produzione di alimenti o di generi voluttuari e per la conservazione di alimenti. Tutte le fermentazioni hanno in comune il prodotto di partenza, cioè il piruvato, e l'assoluta dipendenza dall'ossigeno.

A. La fermentazione lattica e propionica

Molti prodotti del latte come il latte acido, lo yoghurt o il formaggio si formano grazie alla *fermentazione lattica dei batteri* (1). Le reazioni che avvengono sono le stesse che hanno luogo nell'organismo animale.

Il piruvato, prodotto prevalentemente dal catabolismo del disaccaride lattosio (vedi p. 36), viene ridotto dalla *lattato deidrogenasi* [1] (vedi p. 94) a lattato. La fermentazione lattica viene utilizzata anche nella produzione dei crauti acidi o del mangime da stoccaggio; i prodotti alimentari si conservano meglio in quanto l'abbassamento del pH dovuto alla fermentazione inibisce la crescita dei batteri della putrefazione. In un primo momento, i batteri del genere *Lactobacillus* e *Streptococcus* generano prodotti lattici grezzi (3) che modificano le loro caratteristiche, fino a raggiungere quelle che conosciamo solo dopo ulteriori processi di fermentazione. Per esempio, il sapore caratteristico del formaggio svizzero emmental si sviluppa dopo un'ulteriore fermentazione propionica. I batteri del genere *Propionibacterium* trasformano il piruvato in propionato attraverso una serie di complicate reazioni (2).

B. La fermentazione alcolica

Le bevande alcoliche vengono prodotte mediante fermentazione di prodotti vegetali ad alto contenuto di carboidrati.

Il piruvato formato dal glucosio viene decarbossilato ad acetaldeide dalla *piruvato decarbossi-*

lasi [2] e poi ridotto ad etanolo dalla *alcol deidrogenasi* che utilizza NADH [3]. I lieviti, funghi eucarioti monocellulari, e non i batteri, sono responsabili di questo processo (3). Anche nella produzione del pane e dei dolci vengono spesso usati lieviti. Grazie al loro metabolismo, si generano CO₂ ed etanolo che rendono la pasta più soffice. I lieviti della birra e del pane (*Saccharomyces cerevisiae*) sono aploidi e proliferano vegetativamente mediante germinazione (3). Essi possono vivere sia in condizioni aerobiche che anaerobiche. I vini sono prodotti da altre specie di lieviti presenti in parte già sull'uva. Per favorire la formazione di etanolo, si cerca di escludere il più possibile l'ossigeno dalle fermentazioni alcoliche, coprendo, per esempio, la pasta con un telo durante la lievitatura o facendo avvenire la fermentazione in botti ermeticamente sigillate.

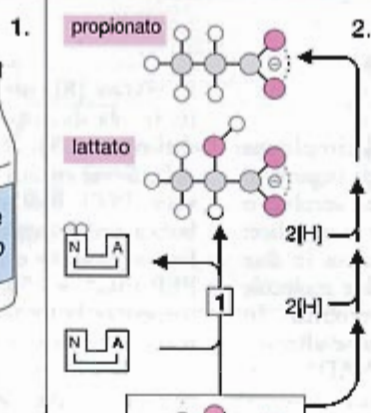
C. La fabbricazione della birra

Per la fabbricazione della birra si parte dall'orzo. I chicchi di cereali contengono amidi ma pochi zuccheri liberi. Di conseguenza, si fa prima germogliare l'orzo, processo durante il quale si formano le *amilasi*. Mediante blando riscaldamento dei germogli si ottiene il malto che viene macinato, disperso in acqua e mantenuto per un certo tempo in caldo. Così gran parte dell'amido viene degradata e si genera il disaccaride maltosio. Si procede alla bollitura (insaporimento) del malto, poi si aggiungono lievito e luppolo e si lascia fermentare la miscela per alcuni giorni. L'aggiunta di luppolo serve a conservare la birra e a darle un sapore leggermente amaro. Alcune sostanze contenute nel luppolo hanno un effetto sedativo e diuretico.

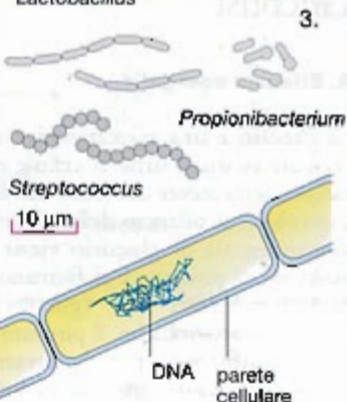
1 lattato deidrogenasi
1.1.1.27



A. La fermentazione lattica e propionica



Lactobacillus

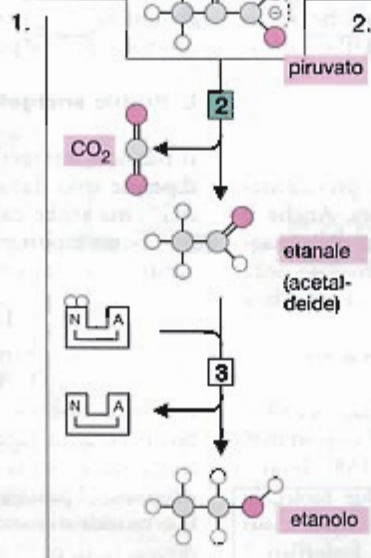


2 piruvato decarbossilasi
[TPP] 4.1.1.1

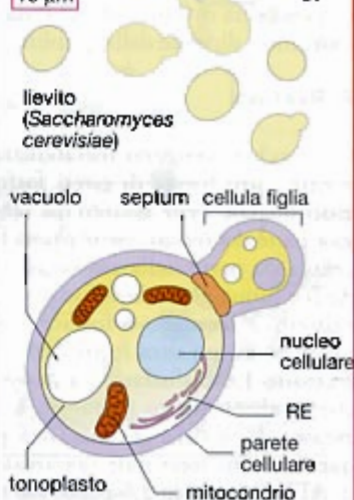
3 alcol deidrogenasi
[Zn²⁺] 1.1.1.1



B. La fermentazione alcolica



10 µm



orzo

lasciar germogliare, essiccare

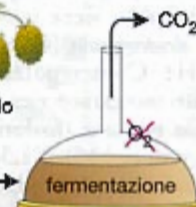
malto

macinare, incubare in acqua



insaporimento

luppolo



nel germoglio si formano

amilasi

1.

amido

amilasi

maltosio

2.

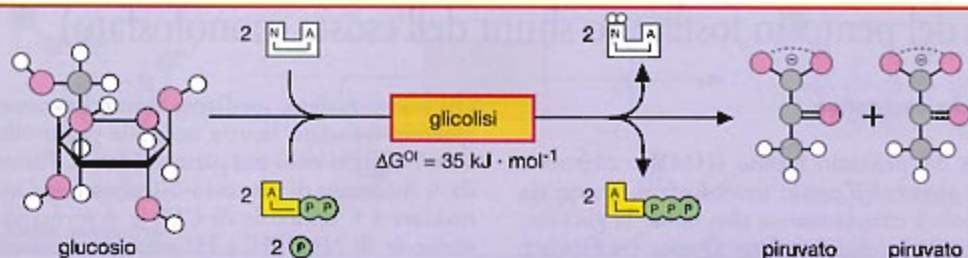
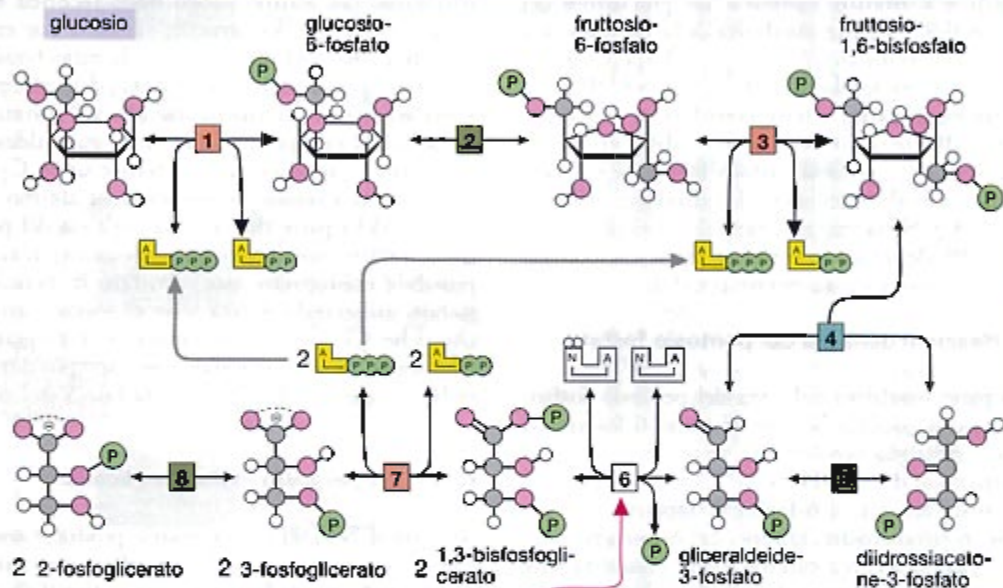
maltosio

glucosio

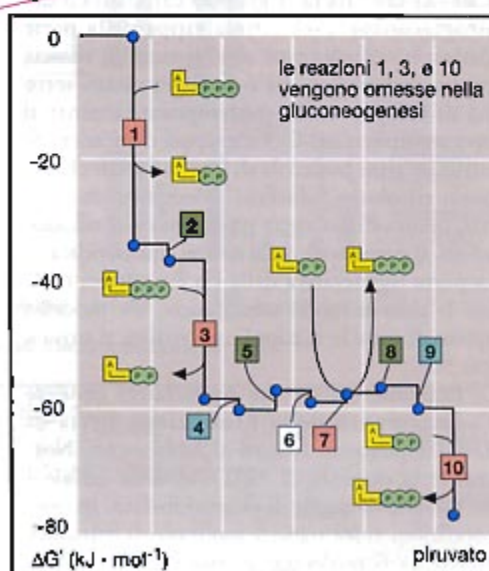
etanolo + CO₂

3.

C. La fabbricazione della birra


A. Glicolisi: bilancio energetico


- | | |
|---|--|
| 1 esochinasi 2.7.1.1 | 6 gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi 1.2.1.12 |
| 2 glucosio-6-fosfato isomerasi 5.3.1.9 | 7 fosfoglicerato chinasi 2.7.2.3 |
| 3 6-fosfofruttochinasi 2.7.1.11 | 8 fosfoglicerato mutasi 5.4.2.1 |
| 4 fruttosio-bisfosfato aldolasi 4.1.2.13 | 9 enolasi 4.2.1.11 |
| 5 trioso fosfato isomerasi 5.3.1.1 | 10 piruvato chinasi 2.7.1.40 |

B. Reazioni

C. Profilo energetico

Glicolisi

A. Bilancio energetico

La glicolisi è una via catabolica del citoplasma presente in quasi tutte le cellule e gli organismi indipendentemente dal fatto che siano aerobici o anaerobici. Il bilancio della glicolisi è semplice: una molecola di glucosio viene scissa in due molecole di piruvato e si formano due molecole di ATP e $NADH + H^+$ (glicolisi aerobica). In condizioni anaerobiche, il piruvato viene ulteriormente trasformato per rigenerare NAD^+ (vedi p. 134). In questo processo, si formano prodotti di fermentazione come il lattato o l'etanolo (glicolisi anaerobica). In condizioni anaerobiche, l'unica possibilità di sintesi di ATP da ADP e fosfato inorganico dipende dalla glicolisi.

B. Reazioni

Gli zuccheri vengono metabolizzati prevalentemente sotto forma di esteri fosforici. Anche il glucosio, che viene assunto dal sangue dalla maggior parte dei tessuti, viene prima fosforilato nella cellula da parte della *esochinasi* [1] che utilizza ATP e forma glucosio-6-fosfato. Dopo isomerizzazione, il fruttosio-6-fosfato [2] generatosi va incontro ad un'altra fosforilazione producendo fruttosio-1,6-bisfosfato. La *fosfofruttochinasi* [3] che catalizza questo passaggio è un importante enzima chiave della glicolisi (vedi p. 158). Fino a questo punto sono state consumate due molecole di ATP. Il fruttosio-1,6-bisfosfato viene poi scisso dall'*aldolasi* [4] in due frammenti C_3 fosforilati. I frammenti, la gliceraldeide-3-fosfato e il diidrossiacetone-3-fosfato, sono resi interconvertibili dalla *triosofosfato isomerasi* [5]. Nella tappa successiva la gliceraldeide-3-fosfato viene ossidata dalla *gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi* [6] con formazione di $NADH + H^+$. Contemporaneamente, una molecola di fosfato inorganico viene incorporata nel prodotto della reazione (fosforilazione a livello del substrato, vedi p. 116). L'1,3-bisfosfoglicerato, generato dalla gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi, contiene un legame anidridico, la cui scissione è fortemente esoergonica (vedi p. 8). Nella tappa successiva (catalizzata dalla *fosfoglicerato chinasi* [7]), l'idrolisi del legame anidridico è energeticamente accoppiata alla formazione di ATP. Un altro composto intermedio la cui idrolisi può essere accoppiata alla sintesi di ATP viene prodotto dal 2-fosfoglicerato che si forma dal 3-fosfoglicerato in una reazione catalizzata dalla *fosfoglicera-*

to mutasi [8], mediante l'eliminazione di una molecola di acqua, trasformazione promossa dall'*enolasi* [9]. Il prodotto è l'estere fosforico della forma enolica del piruvato, il fosfoenolpiruvato (PEP). Nell'ultima reazione della via metabolica catalizzata dalla *piruvato chinasi* [10], si forma piruvato e l'energia libera di idrolisi del PEP ($\Delta G^\circ = -55 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) è così elevata da consentire la formazione di ATP e da rendere la reazione praticamente irreversibile.

Nella glicolisi vengono consumate due molecole di ATP per l'attivazione del glucosio. Si formano in seguito due molecole di ATP per ogni frammento C_3 con un guadagno netto di due molecole di ATP per ogni molecola di glucosio.

C. Profilo energetico

Il bilancio energetico delle vie metaboliche non dipende solo dalla variazione di energia libera ΔG° , ma anche dalle concentrazioni dei metaboliti. Sono riportate nel grafico in Figura C le variazioni di energia libera ΔG reali (vedi p. 12) delle varie tappe della glicolisi negli eritrociti (vedi p. 254). È evidente che solo tre reazioni sono accompagnate da una grande variazione di energia libera (1, 3 e 10). In questi casi l'equilibrio della reazione è spostato dalla parte dei prodotti. Le altre tappe sono reversibili e vengono anche usate per la biosintesi del glucosio (*gluconeogenesi*). I passaggi 1, 3 e 10 non sono reversibili e quindi devono essere sostituiti da reazioni diverse (vedi p. 154).

Mitocondri: struttura e funzioni

A. La struttura

I mitocondri sono organelli della grandezza di batteri (circa $1 \cdot 2 \mu\text{m}$), presenti in gran numero in quasi tutte le cellule eucariotiche; sono circa 2000 per cellula. In totale possono raggiungere il 25% del volume cellulare. I mitocondri sono delimitati da due membrane, una membrana mitocondriale esterna liscia e una interna ripiegata, che ha una superficie enorme e racchiude lo spazio della matrice. Le pieghe della membrana interna si chiamano creste mitocondriali. Lo spazio tra la membrana interna e quella esterna viene di solito chiamato spazio intermembrana.

Il numero e la forma dei mitocondri e il numero delle loro creste possono variare molto da tipo a tipo cellulare. Tessuti con un metabolismo ossidativo intenso, come ad esempio il muscolo cardiaco, possiedono mitocondri con creste molto numerose. I mitocondri sono organuli mobili e plastici la cui morfologia varia a seconda dello stato funzionale del tessuto.

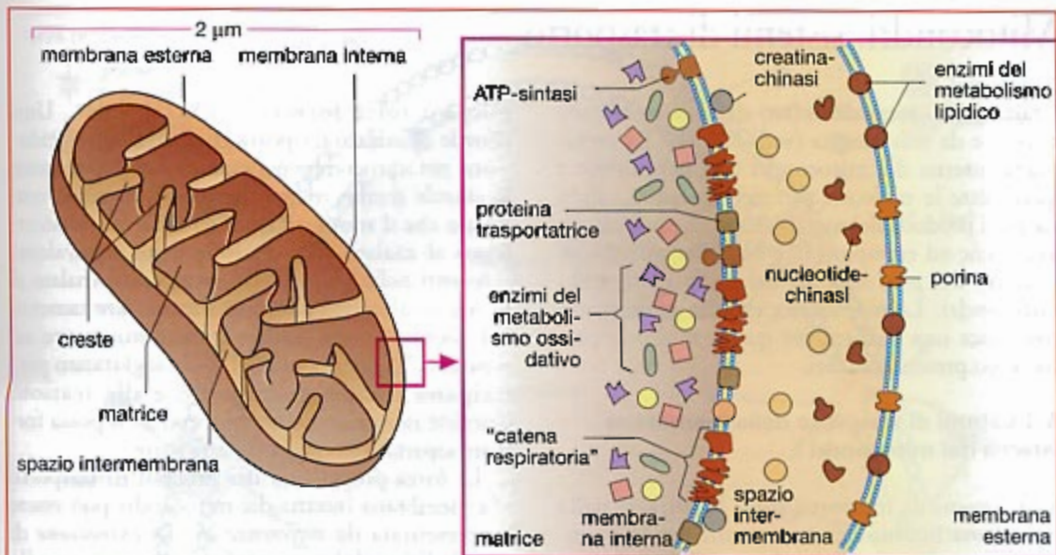
Le membrane dei mitocondri possiedono proteine integrali. Nella membrana mitocondriale esterna sono localizzate le molecole di porina, che formano dei fori che rendono la membrana permeabile per molecole inferiori ai 10 kDa. La membrana interna del mitocondrio è impermeabile a quasi tutte le molecole (fanno eccezione l'O₂, la CO₂ e l'H₂O), contiene un particolare fosfolipide chiamato cardiolipina (vedi p. 48) ed ha un contenuto di proteine insolitamente alto, pari a circa il 75% del totale. Fanno parte delle proteine della membrana interna del mitocondrio dei trasportatori specifici per il trasporto controllato di sostanze (vedi p. 196), enzimi, altri componenti della catena respiratoria e la ATP-sintasi. Anche la matrice è ricca di proteine, in particolare di enzimi del ciclo del citrato.

B. Il metabolismo

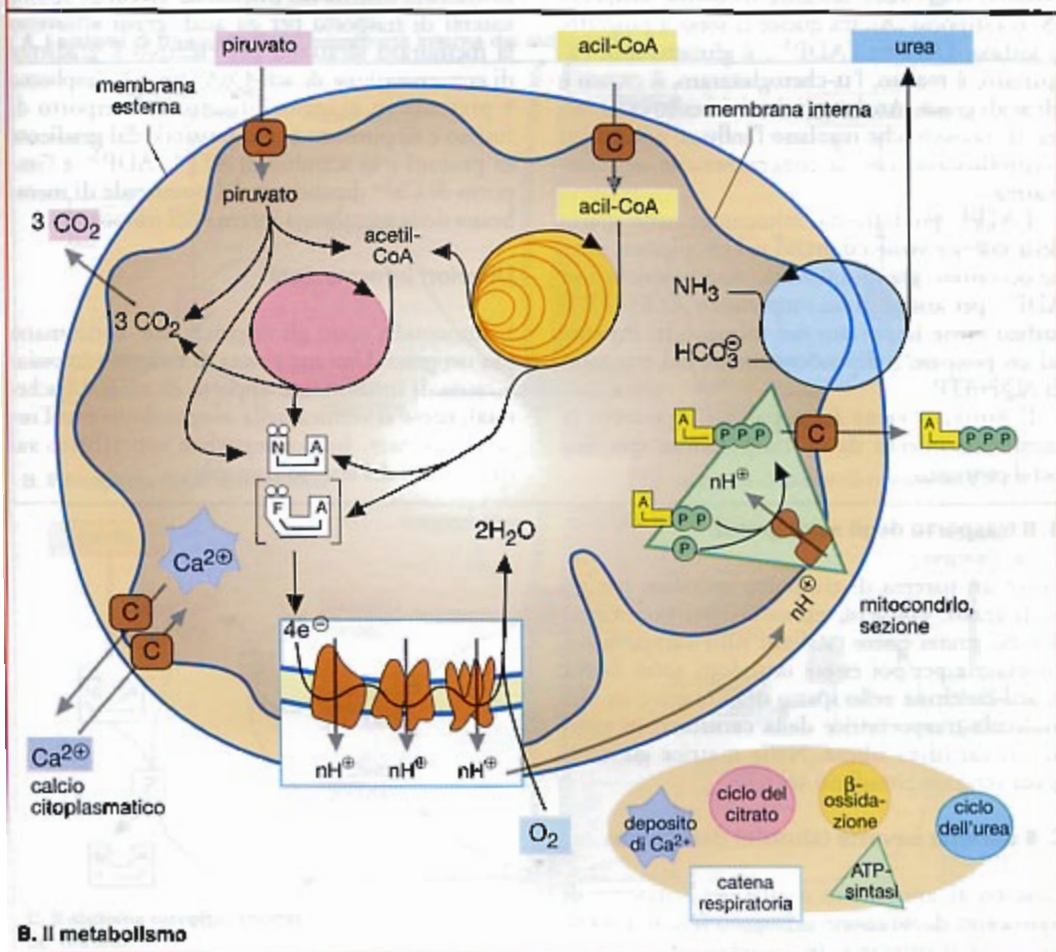
I mitocondri sono denominati *centrali energetiche biochimiche della cellula* perché producono, nell'ambito del catabolismo ossidativo delle sostanze alimentari, la maggior parte dell'ATP di cui la cellula ha bisogno. Nei mitocondri avvengono i seguenti processi: la trasformazione del piruvato in acetil-CoA, il ciclo del citrato, la catena respiratoria accoppiata alla sintesi di ATP (insieme definite *fosforilazione ossidativa*), il catabolismo degli acidi grassi mediante β -ossidazione e una

parte del ciclo dell'urea. I mitocondri mettono a disposizione della cellula i prodotti intermedi del loro metabolismo e sono un deposito di calcio che mantiene costantemente bassa la concentrazione citoplasmatica di tale ione (circa $1 \mu\text{M}$).

La funzione essenziale dei mitocondri consiste nell'assorbimento di substrati del metabolismo energetico dal citoplasma (acidi grassi, piruvato, gli scheletri carboniosi degli amminoacidi) e nel catabolismo ossidativo di queste sostanze a CO₂ e H₂O con produzione di ATP. Le reazioni del ciclo del citrato forniscono carbonio completamente ossidato (CO₂) ed equivalenti di riduzione legati transitoriamente a coenzimi. Questi processi avvengono per lo più nello spazio della matrice. La catena respiratoria, che riossida i coenzimi, è invece localizzata nella membrana interna del mitocondrio. Essa utilizza il NADH e il FADH₂ legato ad enzimi come fornitori di elettroni per la riduzione di ossigeno e la formazione di acqua. Questa reazione fortemente esoergonica è accoppiata al trasporto di protoni (H⁺) dalla matrice allo spazio intermembrana attraverso la membrana interna del mitocondrio (vedi p. 130). In questo processo, nella membrana interna, si forma un gradiente elettrochimico (vedi p. 116). I mitocondri utilizzano questo gradiente per formare, con l'aiuto della ATP-sintasi, ATP da ADP e P_i; inoltre vengono alimentati alcuni sistemi di trasporto (vedi p. 196).



A. La struttura



B. Il metabolismo

Ciclo del citrato: reazioni

Il ciclo del citrato, una via metabolica attiva nella matrice dei mitocondri, ossida i residui acetilici ($\text{CH}_3\text{—CO}$) ad anidride carbonica (CO_2) e gli equivalenti riducenti liberati vengono trasferiti al NAD^+ o all'ubichinone. Le ulteriori funzioni del ciclo nel metabolismo sono discusse a pagina 128.

A. Reazioni

L'acetil-CoA, il punto di partenza del ciclo in quanto è il donatore delle unità, deriva per lo più dalla β -ossidazione degli acidi grassi (vedi p. 140) e dalla reazione della piruvato deidrogenasi (vedi p. 124). Entrambi i processi avvengono nella matrice del mitocondrio.

L'ossidazione dell'unità acetilica avviene attraverso una serie di reazioni intermedie: all'inizio il residuo acetilico viene trasferito sull'ossalacetato, processo catalizzato dalla citrato sintasi [1]. Il prodotto di questa reazione, il citrato, dà il nome al ciclo. Nella reazione successiva [2], il citrato viene isomerizzato a isocitrato, mediante lo spostamento del gruppo ossidrilico da un atomo di carbonio all'altro della molecola. L'enzima che catalizza questa reazione [2] viene detto *aconitasi* o *aconito idratasi* in quanto l'aconitato insaturo (non riportato) è il prodotto intermedio della reazione che rimane sempre legato al sito attivo dell'enzima.

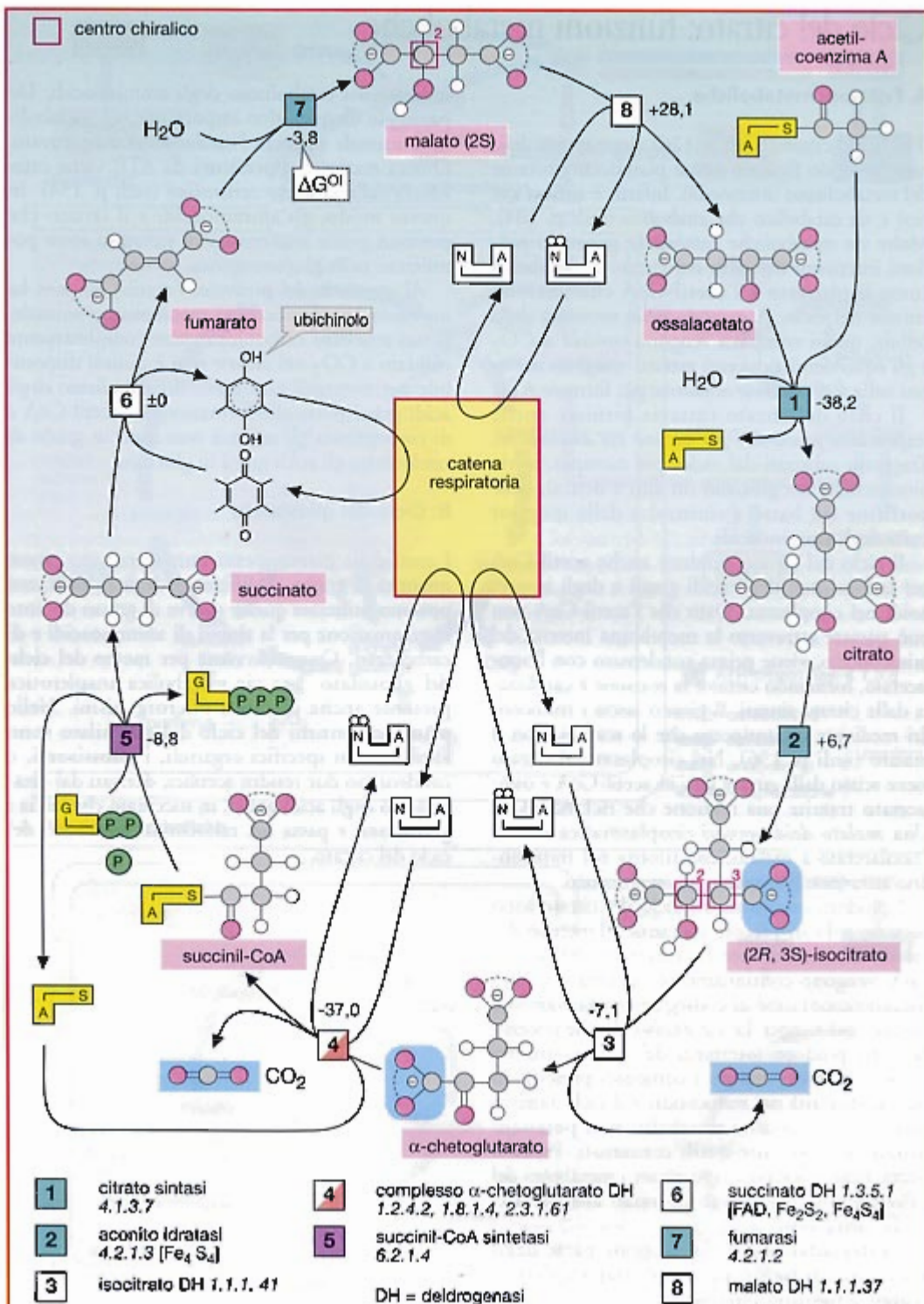
Per le caratteristiche dell'aconitasi, l'isomerizzazione del citrato avviene in modo assolutamente stereospecifico: il citrato non è una molecola chirale, mentre l'isocitrato contiene due centri chirali (vedi p. 56) e potrebbe di conseguenza apparire in quattro forme isomeriche distinte. Nel ciclo del citrato si forma però un solo stereoisomero, il cosiddetto (2*S*, 3*R*)-isocitrato.

A questo punto interviene la prima reazione ossidativa: la *isocitrato deidrogenasi* [3] ossida il gruppo ossidrilico dell'isocitrato a gruppo β -chetonico. Contemporaneamente, uno dei gruppi carbossilici viene staccato sotto forma di CO_2 , formando α -chetoglutarato. Anche la reazione successiva che produce succinil-CoA [4] determina un'ossidazione ed una decarbossilazione catalizzata dal complesso multienzimatico dell' α -chetoglutarato deidrogenasi (i complessi delle α -chetoacido deidrogenasi sono trattati più dettagliatamente a p. 124). La trasformazione del succinil-CoA in succinato e coenzima A mediante la *succinil-CoA sintetasi* [5] è molto esoergonica e viene utilizzata per la formazione di un legame

fosfo-anidridico. In questo caso però non viene prodotto ATP come nelle altre fosforilazioni a livello del substrato, ma guanosina-trifosfato (GTP) che può essere facilmente trasformata in ATP, mediante scambio di un gruppo fosforico.

Attraverso le reazioni fin qui descritte, l'unità bicarboniosa acetile viene completamente ossidata a CO_2 e contemporaneamente l'ossalacetato viene ridotto a succinato. Sono necessarie altre tre reazioni per rigenerare l'ossalacetato a partire dal succinato. Il succinato viene ora ossidato a fumarato ad opera della *succinato deidrogenasi* [6]. Al contrario degli altri enzimi del ciclo, questo enzima è una proteina integrale localizzata nella membrana interna del mitocondrio ed entra a far parte degli enzimi della catena respiratoria (vedi p. 130). La succinato deidrogenasi ha come gruppo prostetico il FAD, ma il vero accettore finale di elettroni della reazione è l'ubichinone. Nella seconda tappa viene aggiunta acqua al doppio legame del fumarato da parte della *fumarasi* [7]; così si forma il malato, un composto chirale. Nell'ultima reazione del ciclo, il malato viene ossidato a ossalacetato dalla *malato deidrogenasi* [8], un processo in cui si forma un'altra molecola di $\text{NADH} + \text{H}^+$. Il ciclo è quindi completato ed è pronto per un nuovo giro.

Per ogni gruppo acetile che entra, si generano 2 molecole di CO_2 , 3 molecole di $\text{NADH} + \text{H}^+$ e una molecola di ubichinone ridotto per cui, durante la riossidazione di questi coenzimi ridotti e la fosforilazione ossidativa (vedi p. 116), la cellula acquista 11 molecole di ATP. Il bilancio netto per ogni acetile consumato è quindi di 12 molecole di ATP prodotte, tenendo conto anche del GTP formatosi per fosforilazione a livello del substrato.



A. Ciclo del citrato: reazioni

ATP

Il coenzima **adenosina trifosfato (ATP)** costituisce la più importante *forma di conversione dell'energia chimica* nella cellula. La sua *idrolisi è fortemente esoergonica*. L'energia ΔG liberata dalla scissione viene utilizzata per rendere possibili processi endoergonici, come le biosintesi, il movimento e il trasporto ionico (vedi p. 10). Gli altri nucleotidi trifosfato (GTP, CTP e UTP) hanno caratteristiche simili a quelle dell'ATP, ma vengono utilizzati nel metabolismo per altri compiti.

A. Struttura dell'ATP

Nell'ATP, il gruppo 5'OH dell'adenosina è legato ad una catena di tre residui di fosfato (vedi p. 78). I residui fosforici vengono identificati con le lettere greche α , β e γ . Il ribosio è unito ai gruppi fosforici tramite un legame diestereo. I legami che tengono uniti i tre residui fosforici sono **anidridici** e quindi molto più labili. A pH fisiologico, l'ATP ha quattro cariche negative.

B. Legami anidridici

La rappresentazione in Figura A dei gruppi fosforici dell'ATP, con i loro legami semplici e doppi, non riporta la distribuzione delle cariche in modo corretto: gli atomi di ossigeno di tutti i tre gruppi fosforici sono pressoché ugualmente negativi, mentre gli atomi di fosforo possiedono centri di carica positiva. Uno dei motivi della relativa instabilità del legame anidridico consiste nella *repulsione fra gli atomi di ossigeno con uguale carica negativa*; repulsione che viene parzialmente eliminata con il distacco di un gruppo fosforico. Reazioni in cui sono implicati questi legami sono **fortemente esoergoniche (C)**. Nell'idrolisi dell'ATP, si crea inoltre un anione fosfato libero che è meglio idratato e più efficientemente stabilizzato da risonanza di quello che si trova nell'ATP. Anche queste differenze contribuiscono al carattere fortemente esoergonico dell'idrolisi dell'ATP.

C. Energia di idrolisi

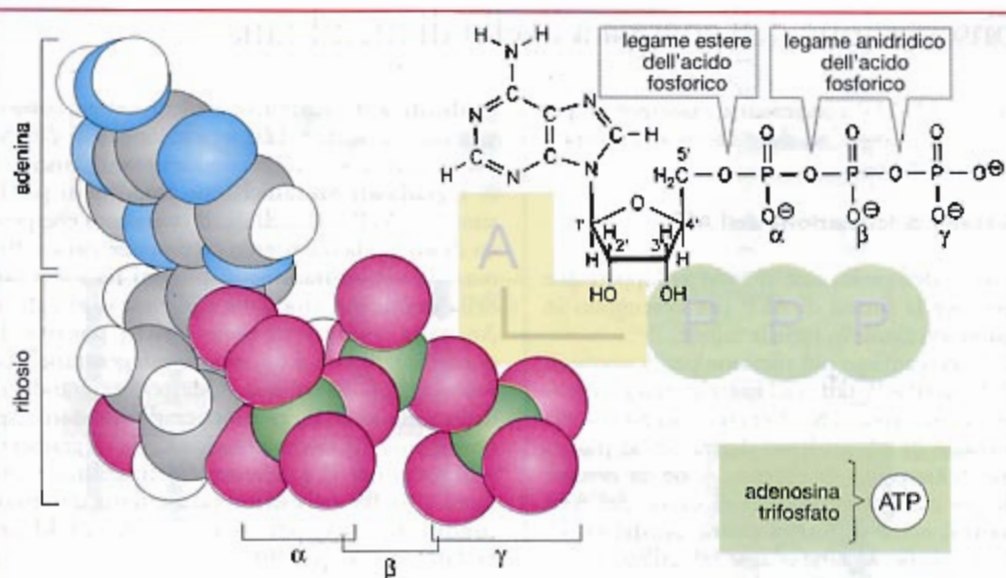
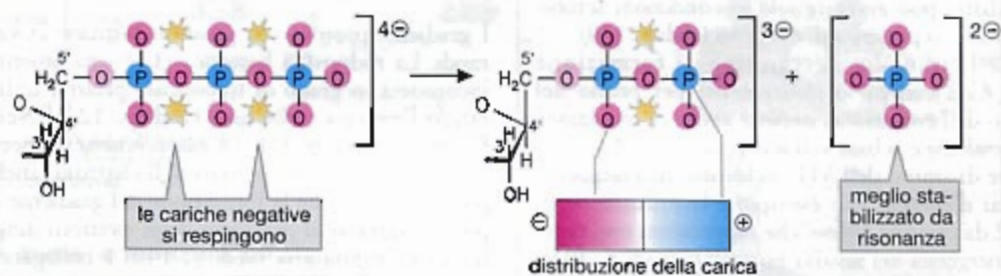
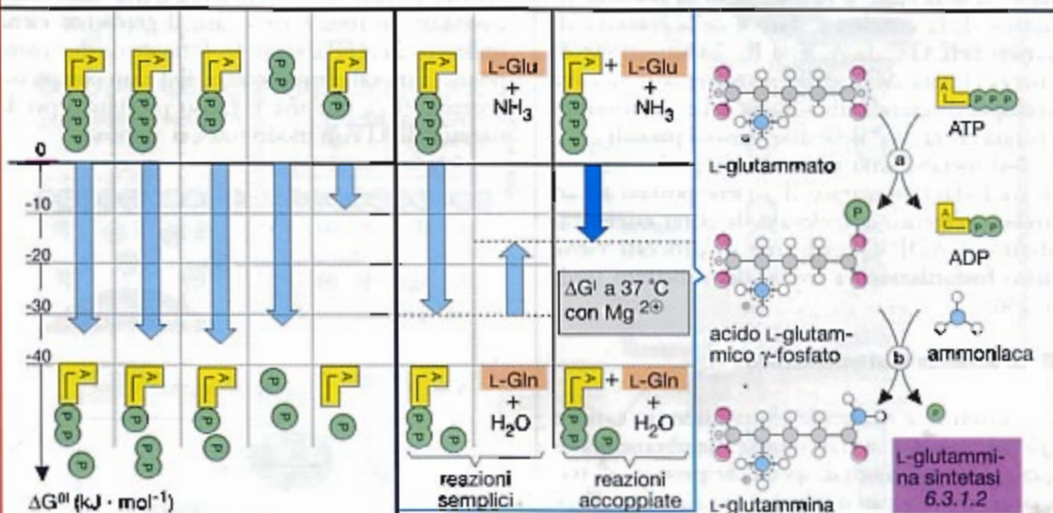
La variazione di energia libera ΔG° (vedi p. 12) che si ha durante l'idrolisi del legame anidridico dell'acido fosforico varia, in condizioni standard, da -30 a $-35 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. I legami anidridici presenti nell'ATP hanno valori di ΔG° molto simili. Anche l'idrolisi che porta alla formazione di pirofosfato rende più di $-30 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. La rittu-

ra del legame estere tra il ribosio e il gruppo fosforico produce invece solo $-9 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$.

Nella cellula la variazione di energia libera $\Delta G'$ di idrolisi dell'ATP è molto più elevata in quanto le concentrazioni di ATP, ADP e P_i sono di molto inferiori a quelle delle condizioni standard e l'ATP è presente in eccesso rispetto all'ADP (vedi p. 12). Anche il valore del pH e la concentrazione degli ioni Mg^{2+} influiscono sui valori di $\Delta G'$. Il **rendimento energetico fisiologico** dell'idrolisi dell'ATP può arrivare anche a valori di circa $-50 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$.

D. Accoppiamento energetico

Per utilizzare l'energia chimica presente nell'ATP, non è sufficiente che l'idrolisi avvenga vicino ad un processo endoergonico, in modo che questo possa usufruire dell'energia liberata. In questo modo, l'energia contenuta nei legami dell'ATP verrebbe ceduta all'ambiente (soluzione) sotto forma di calore. Per l'accoppiamento energetico, i due processi devono essere intimamente collegati da un *intermedio comune*. Un esempio è la **reazione della glutammina sintetasi** (Figura D). In un primo momento il gruppo γ -fosforico viene trasferito dall'ATP al *glutammato*. Si forma così un'*anidride mista* ricca di energia (a). Nella seconda fase (b) il gruppo fosforico di questa sostanza viene sostituito da NH_3 e si formano *glutammina* e *fosfato inorganico libero*. Il ΔG° della reazione complessiva ($-16 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) corrisponde alla somma delle variazioni di energia libera delle due reazioni parziali.


A. Struttura dell'ATP

B. Legami anidridici

C. Energia di idrolisi
D. Accoppiamento energetico