

ENZIMI

Gli enzimi sono dei catalizzatori biologici

catalizzatore: una sostanza che senza subire variazioni produce come effetto macroscopicamente apprezzabile un incremento della velocità di reazione

La maggior parte (ma non la totalità) dei catalizzatori biologici sono proteine.

ENZIMI

- Spesso necessitano di altre sostanze dette **cofattori** (ioni o molecole) per la loro attività. Se il cofattore è una molecola organica, allora è detto **coenzima**; se è legato covalentemente all'enzima viene detto **gruppo prostetico**
- I reagenti delle reazioni enzimatiche sono detti **substrati**. Questi si legano ad una piccola regione dell'enzima detta **sito attivo**
- Gli enzimi sono in genere altamente **specifici**: riconoscono solo uno o pochi substrati

In passato si usavano i suffissi come *-ina* o *-asi* aggiunti a nomi che facevano riferimento a qualche proprietà dell'enzima o al substrato su cui agivano. A causa del crescente numero di enzimi identificati nel 1961 la IUB propose un sistema di classificazione basato sul tipo di reazione catalizzata e sul nome del substrato di ciascun enzima

CLASSIFICAZIONE DEGLI ENZIMI

Commissione per gli Enzimi (EC) dell'Unione Internazionale di Biochimica (IUB)

Tab. 14.1 - Classificazione degli enzimi

Classe	Tipo di reazione catalizzata
1. Ossidoreducasi	Trasferimento di elettroni
2. Transferasi	Trasferimento di gruppi
3. Idrolasi	Reazione idrolitica di legami
4. Ligasi	Aggiunta o rimozione di gruppi (CO_2, H_2O, NH_2)
5. Isomerasi	Isomerizzazione
6. Ligasi (chinasi)	Formazione di legami con consumo di ATP

Enzimi monomerici e oligomerici

ENZIMI MONOMERICI: costituiti da una sola catena peptidica (subunità). Ne sono noti pochi. Es.: pepsina, tripsina, elastasi, carbossipeptidasi, trombina (E proteolitici), ribonucleasi, lisozima

ENZIMI OLIGOMERICI: costituiti da 2 o più subunità, che possono essere uguali o diverse

L'azione catalizzatrice degli enzimi si differenzia da quella dei catalizzatori non enzimatici per tre caratteristiche:

1- la efficienza (Gli enzimi hanno spesso un'efficienza catalitica prossima alla perfezione: *ogni interazione una reazione*)

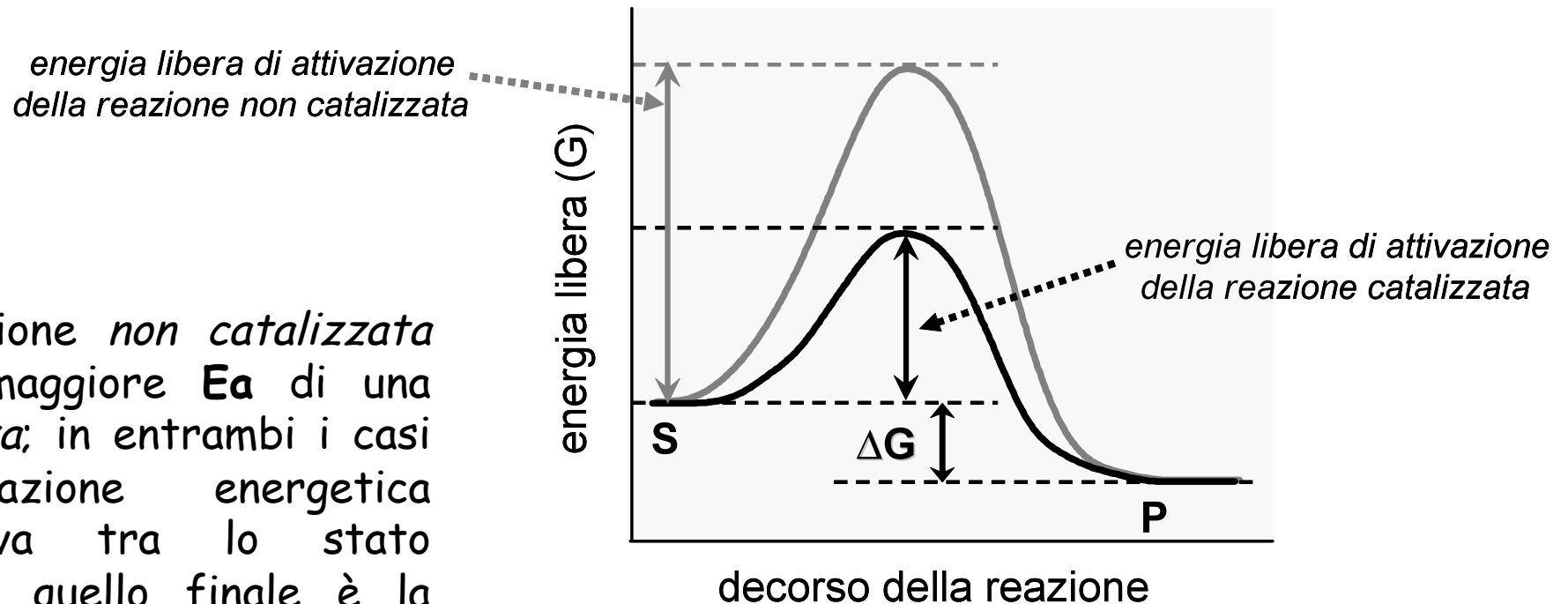
2- la specificità (ogni enzima catalizza, generalmente, una determinata reazione a carico di un substrato specifico)

3- la regolabilità (possibilità di variazione da uno stato di bassa o nulla attività dell'enzima ad uno di massima attività)

Meccanismo d' azione degli Enzimi

- Gli enzimi aumentano notevolmente la velocità delle reazioni biochimiche legando i reagenti (\rightarrow **substrati** dell'enzima) facendo avvenire la reazione mediante un *meccanismo diverso* che comporta una **minore energia di attivazione**
- NON viene modificato l'**equilibrio della reazione**
- Il meccanismo con il quale l'enzima abbassa l'energia di attivazione è legato alla formazione di un composto intermedio chiamato **complesso enzima-substrato**: $E + S \rightarrow [ES] \rightarrow [EP] \rightarrow E + P$

Una reazione *non catalizzata* ha una maggiore **Ea** di una *catalizzata*; in entrambi i casi la variazione energetica complessiva tra lo stato iniziale e quello finale è la stessa

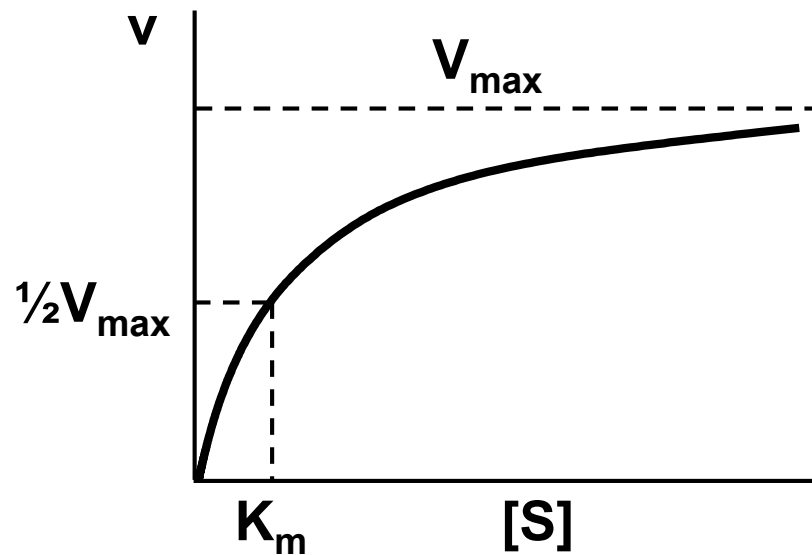


Specificità

- Gli enzimi riconoscono **selettivamente** i giusti substrati rispetto ad altre molecole
- producono prodotti con **altissime rese** - spesso più alte di 95%
- la specificità è controllata dalla **struttura** - l'adattamento unico del substrato con l'enzima controlla la selettività per il substrato e la resa del prodotto

Fattori che influenzano l'attività degli enzimi

- concentrazione del substrato



• Per una concentrazione costante di enzima, il grafico della *velocità iniziale* (v_0) rispetto alla *concentrazione iniziale* del substrato ha la forma di un'iperbole (cinetica di Michaelis-Menten)

• K_m (costante di Michaelis-Menten): concentrazione di substrato ($[S]$), in corrispondenza della quale v_0 è semimassimale

Inibizione enzimatica

α -Inibizione enzimatica irreversibile: formano legami covalenti stabili con residui di amminoacidi dell'enzima indispensabili per l'attività catalitica.

Dovuta a sostanze tossiche:

- composti organofosfati come diisopropilfluorofosfato e sarin (gas nervini) e parathion (insetticidi) inibiscono l'acetilcolinesterasi
- sali di arsenico e metalli pesanti (Pb, Hg)

b- Inibizione enzimatica reversibile: dovuta a sostanze che si legano in maniera reversibile, non covalente, all'enzima

inibitori competitivi: sono molecole strutturalmente simili al substrato che si legano reversibilmente al sito attivo, in competizione con il substrato (aumento della K_m)

inibitori non competitivi: si legano a siti diversi da quello catalitico e non interferiscono con il legame del substrato all'enzima, ma ne bloccano la trasformazione in prodotto (riduzione della V_{max})

Molti farmaci agiscono da inibitori reversibili:

- **antibiotici** (sulfamidici, penicilline, cefalosporine): inibiscono enzimi di sintesi della parete batterica o delle proteine
- **aspirina e altri farmaci antiinfiammatori non steroidei**: inibiscono la cicloossigenasi, nella prima reazione di sintesi delle prostaglandine

Enzimi e metabolismo

- Senza catalisi enzimatica le reazioni sarebbero così lente da non avvenire in maniera apprezzabile alla temperatura corporea
- la velocità è regolabile tramite il controllo dell'attività enzimatica

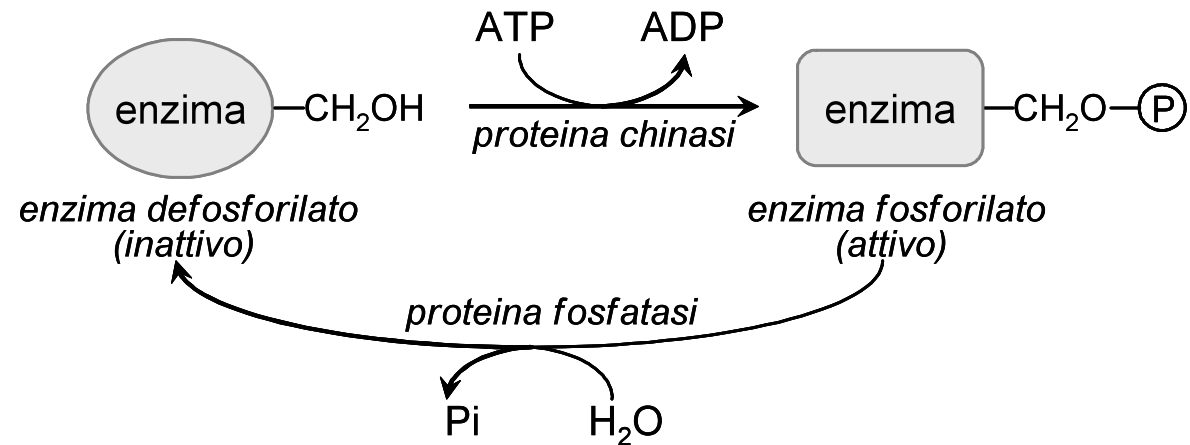
Regolazione dell'attività enzimatica

- modificazione covalente dell'enzima
- azione su sito secondario dell'enzima (allosterismo)
- induzione e repressione genica della biosintesi della proteina enzimatica

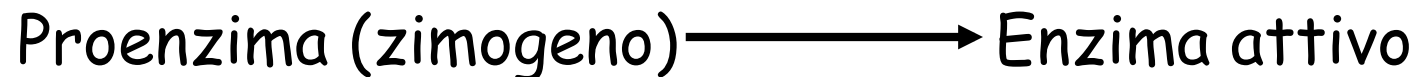
-**Modificazione covalente** si ha per attacco o distacco di un raggruppamento chimico da uno o più residui degli aminoacidi costituenti

Esempi:

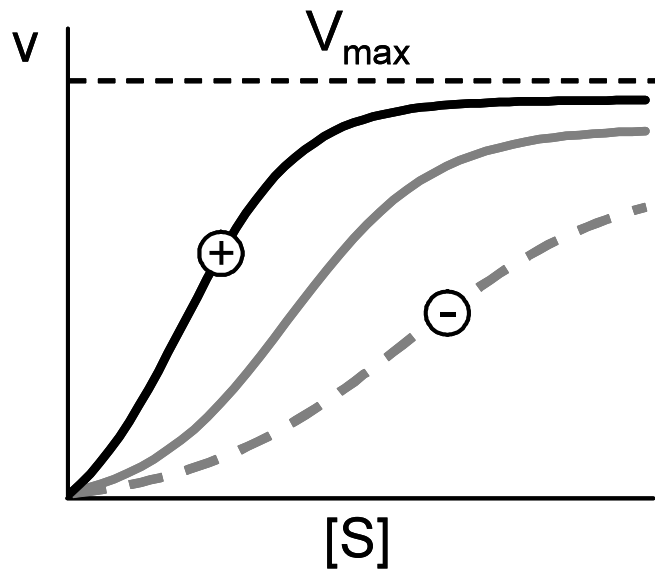
-**Fosforilazione:** il più importante. Comporta l'aggiunta di gruppi fosfato ad alcuni aminoacidi (Ser, Thr o Tyr) dell'enzima.



- **Scissione:** riguarda per es. gli enzimi digestivi, che sono secreti come "zimogeni" inattivi e sono attivati nel lume del tubo gastroenterico mediante proteolisi

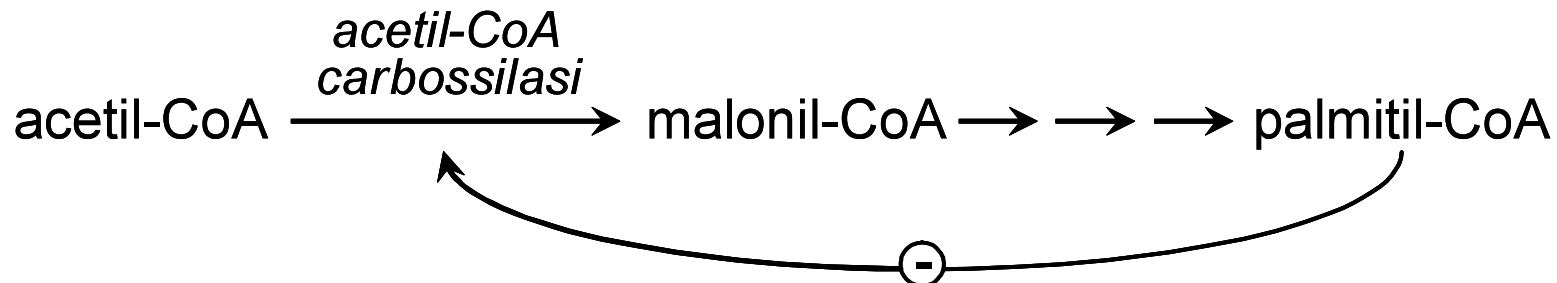


Gli enzimi allosterici (costituiti spesso da più subunità) possiedono uno o più siti allosterici, distinti dal sito catalitico, capaci di legare molecole regolatrici, detti effettori allosterici



Effetti esercitati da un modulatore positivo e da un modulatore negativo sull'attività di un enzima allosterico

Inibizione a feed back (retroinibizione): inibizione allosterica dell'attività dell'enzima che catalizza la prima della serie di reazioni di un processo metabolico, costituito da una serie di reazioni concatenate, da parte del prodotto finale



Modificazioni della quantità di enzima

La sintesi di una proteina enzimatica può essere **indotta** o **repressa** in risposta a particolari stimoli di natura ormonale o metabolica (**enzimi inducibili**)

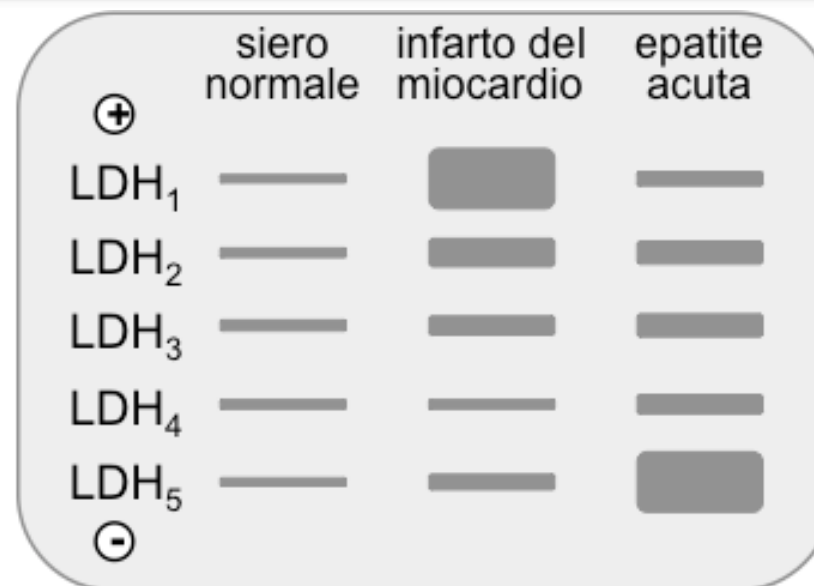
ISOENZIMI

- Sono enzimi esistenti in forme molecolari diverse che catalizzano la **stessa reazione** sullo **stesso substrato**, anche se spesso con modalità, affinità e velocità diverse.

Per es., la lattico deidrogenasi (LDH) è costituita da 4 subunità, che possono essere di 2 tipi, H (heart) e M (muscle). Ne derivano 5 isoenzimi

Tab. 15.2 - Isoenzimi della lattato deidrogenasi

Tipo	Composizione	Tessuto in cui la forma è prevalente
LDH ₁	HHHH	Cuore
LDH ₂	HHHM	Cervello, globulo rosso
LDH ₃	HHMM	Cervello
LDH ₄	HMMM	
LDH ₅	MMMM	Muscolo, fegato



Biochimica e Biologia per
le professioni sanitarie,
McGraw-Hill

- La **CREATINA CHINASI** è costituita da due subunità che possono essere di 2 tipi: B (brain) e M (muscle). Presenta quindi 3 isoenzimi:

CK1 BB

CK2 MB (cuore)

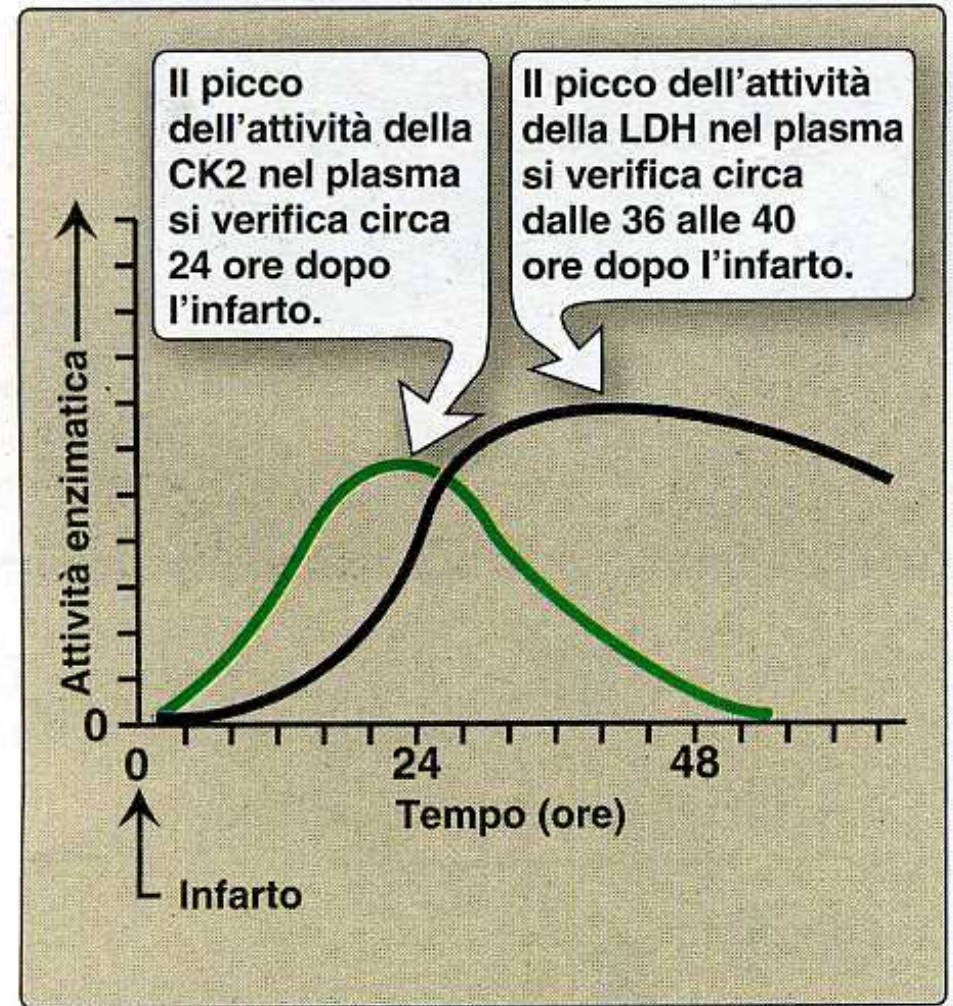
CK3 MM (cuore, muscolo)

Uso medico diagnostico degli isoenzimi

- Nell'infarto del miocardio si ha necrosi delle cellule muscolari, i cui enzimi allora si riversano in circolo, in particolare la:

CK2

LDH1



Enzimi come indicatori diagnostici

Enzimi plasmatici o funzionali o costitutivi: generalmente prodotti dal fegato e fisiologicamente riversati nel sangue

Enzimi plasmatici non funzionali o non costitutivi: non sono normalmente presenti nel sangue, ma vi vengono riversati in condizioni patologiche. La loro presenza nel sangue riflette infatti un danno tissutale per anossia (es. infarto del miocardio), per infezione (es. epatite virale), per processi proliferativi (es. osteosarcoma) o per processi ostruttivi (es. ostruzione biliare)

La determinazione dell'attività catalitica di numerosi enzimi (*dosaggi enzimatici*) è di uso comune nella diagnostica medica.

Esempi di enzimi che hanno un rilevante valore diagnostico:

- *glutammico-ossalacetico transaminasi (GOT)* (aumenta nel siero marcatamente e rapidamente dopo un infarto)

- *glutammico-piruvico transaminasi (GPT)* aumenta nel siero in seguito a lesioni epatiche

- *fosfatasi acida* (aumenta nel siero in seguito a carcinoma prostatico con metastasi)

- *fosfatasi alcalina* (aumenta nel siero in seguito a rachitismo, iperfunzionamento delle ghiandole paratiroidee ecc.)

Alcuni enzimi richiedono **cofattori** per la propria attività:

(1) **Ioni essenziali**

(2) **Coenzimi**



Cofattori Inorganici indispensabili perché certi enzimi assumano la corretta forma tridimensionale e/o possano legare i substrati

Cu^{2+}	Citocromo ossidasi
Fe^{2+} o Fe^{3+}	Citocromo ossidasi, Perossidasi, Catalasi
K^{+}	Piruvato Chinasi
Mg^{2+}	Esochinasi
Mn^{2+}	Arginasi,
Mo	Dinitrogenasi
Ni^{2+}	Ureasi
Se	Glutatione perossidasi
Zn^{2+}	Anidrasi carbonica

VITAMINE

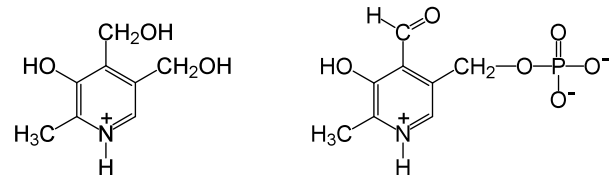
- Una vitamina è una sostanza organica necessaria giornalmente all'organismo in quantità dell'ordine dei milligrammi (o meno) che deve essere assunta dall'ambiente (alimenti, flora batterica intestinale) perché l'organismo non è in grado di sintetizzarla nella quantità necessaria
- Si dividono in LIPOSOLUBILI (vit. A, D, E, K) e IDROSOLUBILI (vit. C e quelle del gruppo B)
- Le vitamine *liposolubili* si accumulano nel fegato e se assunte in eccesso possono dare tossicità; le vitamine *idrosolubili*, se in eccesso, invece vengono eliminate attraverso i reni
- Da molte vitamine, soprattutto quelle idrosolubili del gruppo B, l'organismo produce dei COENZIMI

VITAMINE IDROSOLUBILI

<u>Vitamina</u>	<u>Malattia</u>
Niacina (B ₃)	Pellagra
Riboflavina (B ₂)	Ritardo di crescita
Pantotenato (B ₅)	Dermatite
Tiamina (B ₁)	Beriberi
Piridossale (B ₆)	Dermatite
Biotina	Dermatite
Acido Folico	Anemia
Cobalamina (B ₁₂)	Anemia
Acido ascorbico (C)	Scorbuto

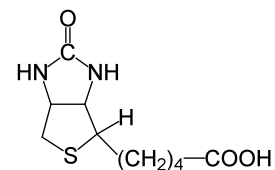
Molte **vitamine idrosolubili** partecipano a reazioni biochimiche dopo essere state trasformate nei **coenzimi** corrispondenti

Coenzima	Processo	Vitamine
Biocitina	Carbossilazioni	Biotina
Coenzima A	Trasporto acili	Ac. Pantotenico (B ₅)
Coenzima B ₁₂	Trasporto unità monocarboniose	Cobalamina (B ₁₂)
Flavin adenin dinucleotide (FAD)	Ossidoriduzioni	Riboflavina (B ₂)
Nicotinamide adenin dinucleotide	Ossidoriduzioni	Ac. Nicotinico (niacina)
Piridossal fosfato	Metabolismo amminoacidi	Piridossina (B ₆)
Tetraidrofolato (FH ₄)	Trasporto unità monocarboniose	Acidi folici
Tiamina Pirofosfato	Decarbossilazione chetoacidi	Tiamina (B ₁)

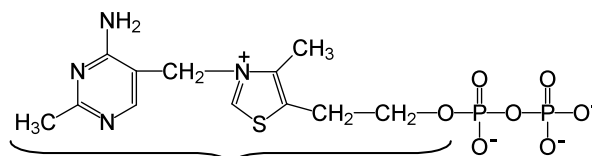


piridossolo (vit. B₆)

piridossal fosfato (PLP)

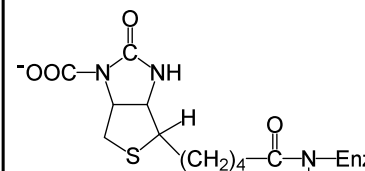


biotina



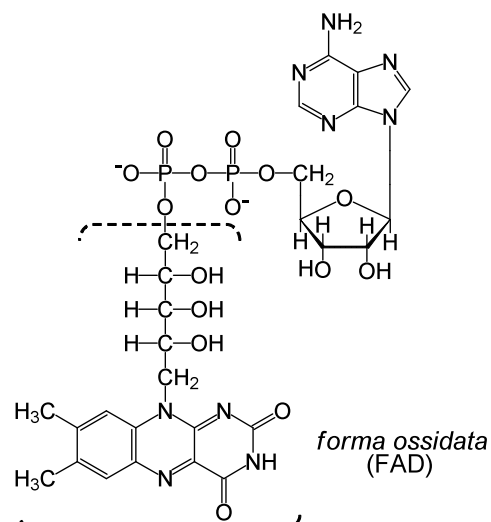
tiamina (vit. B₁)

tiamina pirofosfato



CO₂-biotina-enzima

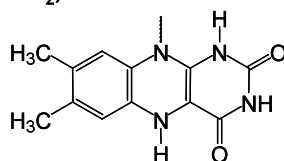
flavin-adenin-dinucleotide



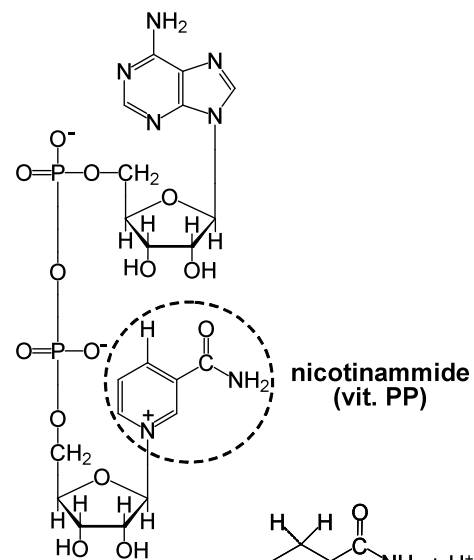
forma ossidata
(FAD)

riboflavina (vit. B₂)

forma ridotta
(FADH₂)

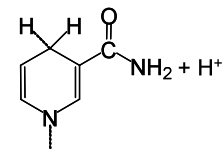


nicotinamide-adenin-dinucleotide

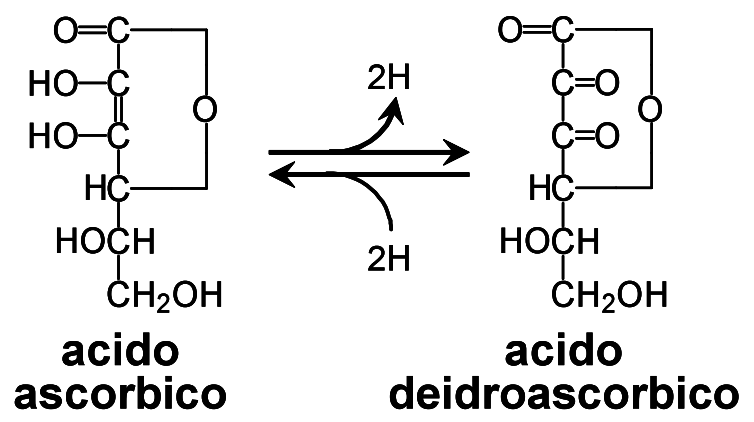
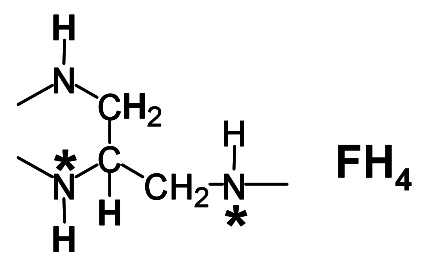
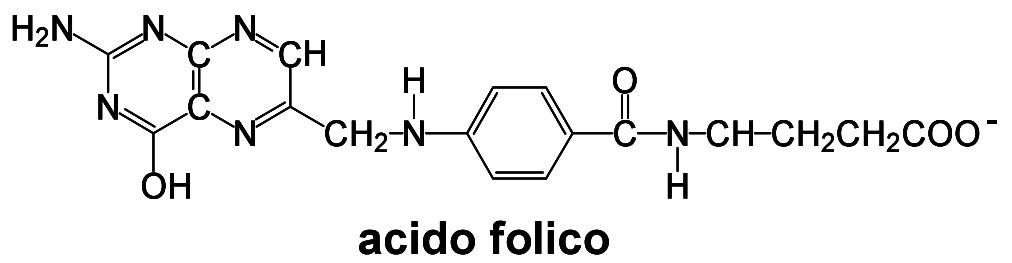
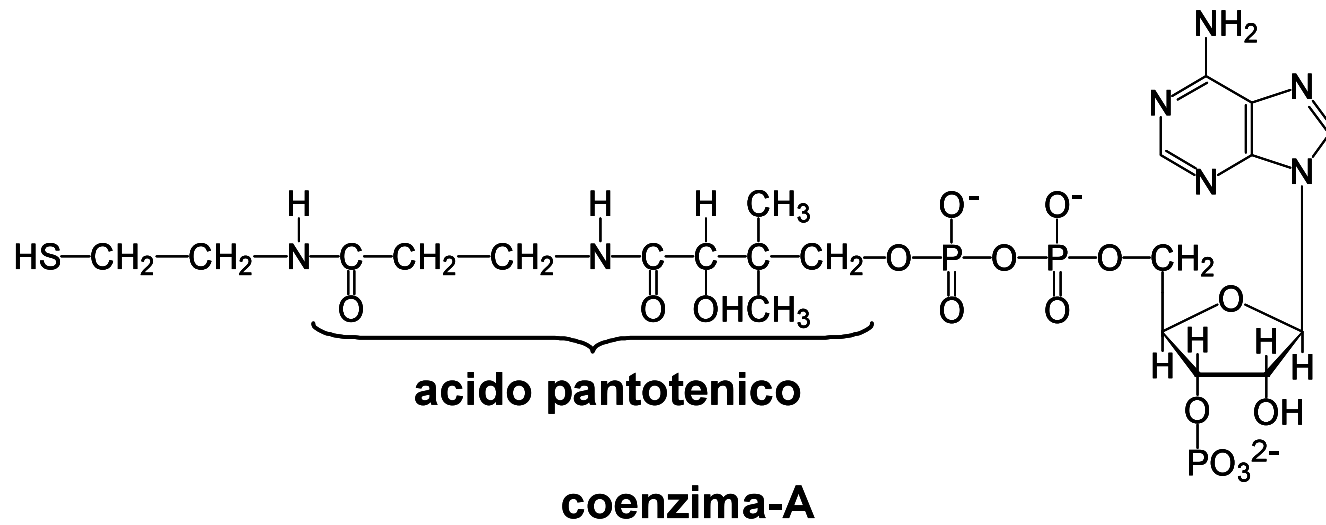


nicotinamide
(vit. PP)

forma ossidata
(NAD⁺)

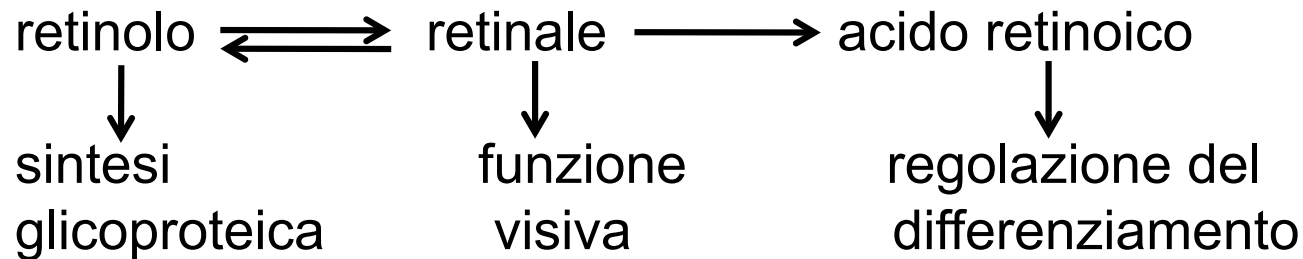


forma ridotta
(NADH+H⁺)



VITAMINE LIPOSOLUBILI

- **Vitamina A (o retinolo):** assunta con gli alimenti di origine animale (fegato, latte, uova) può anche formarsi nell'organismo dai caroteni presenti nei vegetali



Viene assorbita a livelli intestinale e, una volta entrata negli enterociti questi composti vengono in parte modificati e in parte assorbiti come tali (tramite chilomicroni)

Fabbisogno (quantità giornaliera): 1mg retinolo; 5 mg b-carotene (provitamina A), in alternativa al retinolo

Carenza: disfunzioni oculari, depressione del sistema immunitario e ritardato accrescimento nei bambini

Vitamina D

Fonti alimentari fegato di merluzzo, filetto di salmone, latte intero, burro formaggi e uova.

- **Vit D₃** (o **colecalfiferolo**), è la forma vitaminica che si forma nella pelle dei mammiferi per azione della luce ultravioletta sul 7-deidrocolesterolo.
- **La vit D3** viene idrossilata, nel fegato e nel rene, generando **1,25-diidrossicolecalciferolo**, la **forma pienamente attiva della vit D3 (calcitriolo)**. **La biosintesi di calcitriolo è sotto il controllo del paratormone**

Agisce:

- 1) **a livello intestinale**, promuovendo l'assorbimento del calcio (mediante induzione della sintesi di proteine specifiche per il trasporto del calcio)
- 2) **a livello del tubulo renale**, favorendo il riassorbimento del calcio e del fosfato
- 3) **a livello osseo**, aumenta l'attività degli osteoclasti, cellule dell'osso capaci di liberare idrossiapatite e quindi promuove il rilascio di calcio nel sangue

Vitamina D

- La sua carenza provoca malformazioni scheletriche:
rachitismo (bambini) e **osteomalacia** (adulti)

Diminuzione della componente minerale delle ossa (idrossiapatite) e aumento della matrice ossea (aumento rapporto osso non mineralizzato/osso mineralizzato)

- **Vitamina E: tocoferoli**, ad azione antiperossidante (protegge gli acidi grassi insaturi, la vit A ed i caroteni dalla perossidazione indotta da agenti ossidanti quali specie reattive dell'ossigeno)

- L'efficacia antiperossidativa deriva dalla capacità di inserirsi nelle membrane e di essere ridotta anche da riducenti idrosolubili (quali ascorbato e glutatione) una volta ossidata

- Carenza: rara data la sua diffusione negli alimenti

Nell'uomo non si conosce una precisa sintomatologia; in condizioni di malassorbimento intestinale dei lipidi, la conseguente deficienza di Vit E si manifesta con fragilità degli eritrociti che diventano più suscettibili allo stress ossidativo, miopatia e neuropatia

Fonti alimentari alimenti di origine vegetale (es. oli vegetali)

- **Vitamina K: esiste sotto forma di vari vitameri fillochinone (piante), menachinone (flora batterica), menadione (sintetico),** fattore necessario per il normale processo di coagulazione.

La vit k necessaria per la maturazione postsintetica di alcuni fattori della coagulazione, tra cui la protrombina, con un meccanismo che richiede la carbossilazione di particolari residui di ac. glutammico formando l'acido γ -carbossiglutammico. Questi fattori diventano capaci così di legare Ca^{2+} e di formare il complesso attivo *“proteina-calcio-fosfolipidi piastrinici”*

La carenza di tale vit. si può avere in caso di terapia antibiotica e nel neonato (hanno l'intestino sterile) e si manifesta con allungamento del tempo di coagulazione del sangue

Fonti alimentari fillochinone negli ortaggi a foglia verde e in concentrazione minore nei cereali, carne e latticini