

## PRESENTAZIONE

1. In “*Il fenomeno umano*”,<sup>1</sup> soprattutto nelle prime due parti dedicate alla *Previta* e alla *Vita*, vi sono dei concetti che descrivono con grande perizia una realtà globale forse non ancora psicologicamente acquisita, malgrado le evidenze scientifiche, nella sua essenziale semplicità:

«... *l'Evoluzione della Materia si riconduce all'edificazione graduale, attraverso una complicazione crescente, dei diversi elementi individuati dalla Fisica-chimica..... Un brulichio di corpuscoli elementari, positivi e negativi (protoni, neutroni, fotoni..) la cui lista si allunga continuamente. Poi la serie armonica dei corpi semplici, scaglionata dall'Idrogeno all'Uranio, secondo le note della gamma atomica. E successivamente l'immensa varietà dei corpi composti, in cui le masse molecolari si elevano via via fino ad un certo valore critico al di sopra del qual si accede alla Vita. Nessun termine di questa catena che non debba essere considerato come composto di nuclei e di elettroni... La Materia obbedisce, sin dalle sue origini, alla grande legge biologica di “complessificazione”*».<sup>2</sup>

Teilhard descrive poi a grandi linee la vita interna della cellula, che gli sembra scaturire da una matrice misteriosa:

«Sono stati già scritti volumi e volumi sulla cellula. Intere biblioteche che non bastano più a contenere le osservazioni minuziosamente accumulate sulla sua struttura, sulle relative funzioni del suo “citoplasma” e del suo nucleo, sul meccanismo della sua divisione, sui suoi rapporti con l'ereditarietà. Eppure, considerata in se stessa, rimane ai nostri occhi altrettanto enigmatica, altrettanto chiusa di quanto lo fosse prima d'ora. Sembra che, raggiunta una certa profondità di spiegazione, si debba girare, senza progredire, attorno a un qualche impenetrabile recesso».

2. A distanza di oltre 70 anni da tali considerazioni, non sembra che le successive e assai più ragguagliate scoperte scientifiche abbiano “circoscritto” a tal punto la vita della cellula da sottrarla allo stupore e al senso del mistero... Il lavoro pubblicato nelle pagine seguenti ne è una qualificatissima testimonianza, dato che l'autore, il **PROF. CARLO REMIGIO ROSSI**, ha speso l'intera sua vita nella ricerca biologica e nell'insegnamento universitario.<sup>3</sup>

Il lettore non si lasci scoraggiare dalla sigle abbreviate (NAD, ATP, ecc.): sono i “*nomi e cognomi*” di sostanze organiche che, quasi come “*esseri viventi*”, hanno ricevuto il compito di collaborare con gli enzimi alla trasmissione della vita.

L'IO emerge ed è retto da un complicatissimo edificio di circa 75.000 miliardi di cellule interrelate, ma spesso *insuperbisce* sino a negare Dio: *non si china* sulla meravigliosa creazione della vita e quindi *non coglie la propria origine divina*. Lo scritto del Prof. Rossi è un pressante invito a percepirla nella prodigiosa vita delle cellule.

f.m.

---

<sup>1</sup> P. Teilhard de Chardin, *Il fenomeno umano*, Queriniana, Brescia 1995, 2010<sup>5</sup>.

<sup>2</sup> Il significato completo di questo termine emerge da una serie di “ridefinizioni” specificate da Teilhard in scritti e tempi diversi (cfr. “*Un neologismo per capire l'opera di Teilhard*”, in <http://www.biosferanoosfera.it/it/studi>).

<sup>3</sup> Dopo la laurea in medicina e chirurgia ottenuta nel 1946, Carlo Remigio Rossi ritenne di non proseguire la via della pratica medica ma quella della ricerca e dell'insegnamento. Con la qualifica di assistente volontario fu assunto all'Istituto di Biochimica, Università di Padova, Facoltà di Medicina e Chirurgia, e qui percorse la via universitaria fino alla nomina a Prof. Ordinario di Biochimica per l'insegnamento di Biochimica funzionale. Per raggiunti limiti di età, nel 1991 è stato sollevato dall'insegnamento agli studenti del corso di medicina, ma il Rossi ha voluto continuare la sua attività di ricerca e di *insegnante...ora ai laureati, nei corsi di specializzazione*. Nel 1996, dopo 50 anni di appassionato lavoro, è stato collocato definitivamente a riposo. Nel corso della sua vita universitaria ha ricevuto per le sue ricerche notevoli riconoscimenti internazionali ma - come egli ha precisato: “*Ricerca e insegnare ciò che Dio ha creato: questo era il senso della mia vita*”.

**Nota della redazione:** molto lontana è l'origine della "Vita delle cellule." Nel gennaio 2004 morì il Prof. Piero Scapini, famoso docente di italiano e latino al liceo classico di Verona. Negli ultimi tempi della sua vita egli rilesse con passione le principali opere di Teilhard de Chardin e trasmise il suo entusiasmo a diversi amici, fra cui il Prof. Carlo Remigio Rossi.

Nove anni dopo, per far comprendere a tutti l'estrema complessità che - in senso teilhardiano - è inscisa nella cellula, Il Prof. Rossi ha voluto presentare, nel modo più semplice per i non specializzati, la stupefacente "vita delle cellule". Di ciò, molto vivamente Lo ringraziamo.

## LA VITA DELLE CELLULE

**Prof. Carlo Remigio Rossi**

*Al compianto, fraterno amico Prof. Piero Scapini*

*Caro Piero,*

*spesso mi hai invitato a scrivere in modo semplice, comprensibile a tutti, di atomi, molecole, cellule per poter comprendere bene la meravigliosa opera di Pierre Teilhard de Chardin, dall'atomo al pensiero a Cristo.*

*Ora, con profonda commozione, ti dedico questo racconto sulla vita delle cellule, è un riassunto di ciò che ho imparato a poco a poco, durante cinquant'anni di studi: la voce scientifica di Dio, dalla luce del sole al pensiero.*

**LA VITA:** è manifestazione di energia. Le piante sono immobili ma crescono. Gli animali si muovono: vita fisica. Il gatto mi guarda e miagola per farmi capire che ha fame: vita psichica. L'Uomo pensa.

Forse non pensiamo mai alle nostre cellule: sono esseri microscopici, ad una analisi superficiale sembrano tutti uguali, in realtà diversificano da organo a organo, da tessuto a tessuto, perché hanno compiti diversi, ma vivono e lavorano in perfetta armonia per farci correre, gioire, piangere, amare, odiare, pensare. Il loro è un lavoro chimico e di questo voglio parlare in modo semplice, per essere compreso da tutti, da chi ha dimenticato la chimica o non l'ha mai capita. Per questo cercherò di evitare il linguaggio degli "addetti ai lavori" e limiterò le formule chimiche al minimo indispensabile.

Per tanti anni mi sono dedicato allo studio della loro vita e voglio darvi almeno un'idea di come si svolge la ricerca biochimica, delle emozioni suscitate dalla scoperta di qualche loro segreto, anche piccolo ma importante per comporre il quadro armonico del loro vivere.

Ciò che oggi conosciamo della vita delle cellule lo dobbiamo alle ricerche biochimiche di tanti appassionati sparsi in tutto il mondo: è la centenaria storia della Biochimica, ed è seguendo questa storia che cercherò di trasmettervi il meraviglioso mondo delle cellule.

La biochimica è lo studio del lavoro chimico cellulare che viene indicato con il termine di "Metabolismo" diviso nelle due parti di Anabolismo, che studia i processi di sintesi, e di Catabolismo, che studia i processi di scissione. Le sostanze organiche che compongono le cellule sono costituite da elementi (principalmente carbonio (C), ossigeno (O), fosforo (P) e azoto (N)) uniti con "legami chimici energetici". I legami chimici sono di varia natura e di vario valore energetico facilmente misurabile dalla quantità di calore sviluppato dalla loro scissione. Punto centrale del catabolismo è il processo di ossidazione che scinde i legami chimici, liberandone l'energia, e così distrugge le sostanze organiche fino ad acqua ( $H_2O$ ) e anidride carbonica ( $CO_2$ ) e altre semplici sostanze azotate e fosforilate. È il lavoro di ossido-riduzione che riporto in forma schematica nella fig. N°1.  $SubH_2$  indica una molecola organica, substrato, che la cellula ha deciso di sottoporre al processo di ossidazione. La reazione è catalizzata da una proteina enzimatica che funziona in associazione con il NAD, una molecola non proteica in grado di passare dallo stato ossidato a quello ridotto e viceversa.

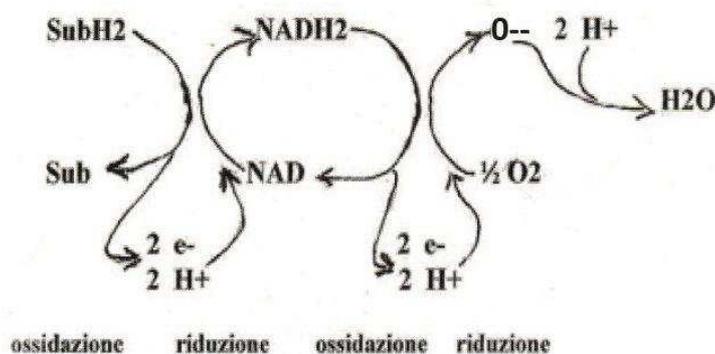


Fig. N° 1

Nella prima parte della reazione il  $SubH_2$  si ossida, cioè cede Idrogenioni ( $H^+$ ) ed elettroni ( $e^-$ ). Ossidazione significa perdita di elettroni.

Nella seconda parte della reazione  $H^+$  ed elettroni ( $e^-$ ) sono acquistati dal NAD che si riduce a  $NADH_2$ . Riduzione significa acquisto di elettroni. Quindi la reazione complessiva è il risultato di due processi accoppiati: ossidazione del  $SubH_2$  e riduzione del NAD. La reazione complessiva è un processo unico di “ossido-riduzione” indicato con il termine RED/OX.

La Figura indica un secondo processo RED/OX : il  $NADH_2$  che si ossida a NAD e l’ossigeno molecolare che si riduce a  $O^{2-}$  che, reagendo con gli idrogenioni  $2 H^+$ , forma acqua ( $H_2O$ ).

I processi catabolici ossido-riduttivi liberano l’energia dei legami chimici che uniscono gli elementi delle sostanze organiche che compongono il nostro organismo ( glucidi, lipidi, proteine). L’energia chimica che si libera deve essere trasferita alle “energie vitali” come ad esempio il movimento. Tra queste due energie la cellula ha posto un intermedio: l’ATP (adenosintrifosfato).

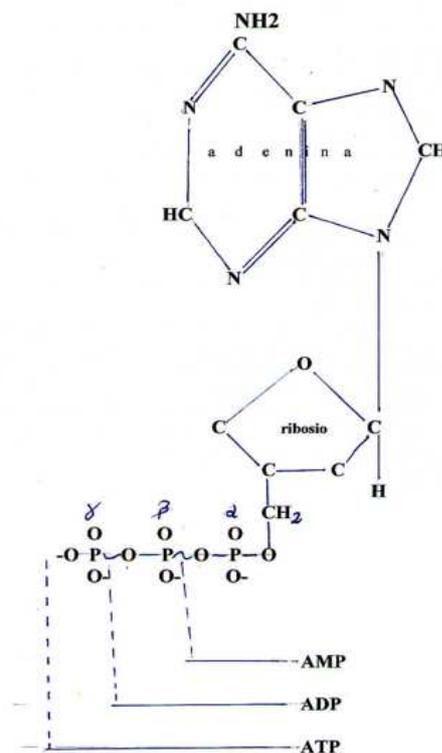
**L’ATP raccoglie l’energia liberata dai processi RED/OX e la trasferisce alle “energie vitali”.**

È giunto il momento di farvi vedere la molecola di questo ATP (Fig. N°2) che è al centro della Vita: mi stupisce sempre che una funzione così importante sia legata ad una struttura tanto semplice

In alto vedete che un composto ciclico detto Adenina è legato ad un altro composto ciclico: il ribosio ( uno zucchero). I due insieme formano l’Adenosina

FIG. 2

ATP



All’Adenosina sono legati 3 fosfati (P) indicati con le lettere  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ .

L’Adenosina con il solo fosfato  $\alpha$  forma: l’Adenosinmonofosfato (AMP).

L’Adenosina con i due fosfati  $\alpha$  e  $\beta$  forma: l’Adenosindifosfato (ADP).

L’Adenosina con i tre fosfati  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  forma: l’Adosintrifosfato (ATP).

Il P  $\alpha$  è legato al  $\beta$ , e il  $\beta$  al  $\gamma$  con legami “energetici” ( cioè con valori energetici molto elevati ) in laboratorio la rottura di questi legami libera calore pari a 7 Kcal/ mola (*mola = peso molecolare espresso in grammi*).

Nelle cellule un enzima chiamato “ ATP-SINTETASI “ catalizza la reazione:



Queste 7 Kcal/mola sono fornite all’enzima dai processi RED/OX con meccanismo che è stato scoperto solo negli ultimi anni del secolo scorso.

La Fig. N° 3 è una bella rappresentazione dell’ATP. Gli atomi sono piccole sfere: nere quelle di carbonio, azzurre quelle di azoto, rosse quelle di ossigeno e verdi quelle di fosforo.

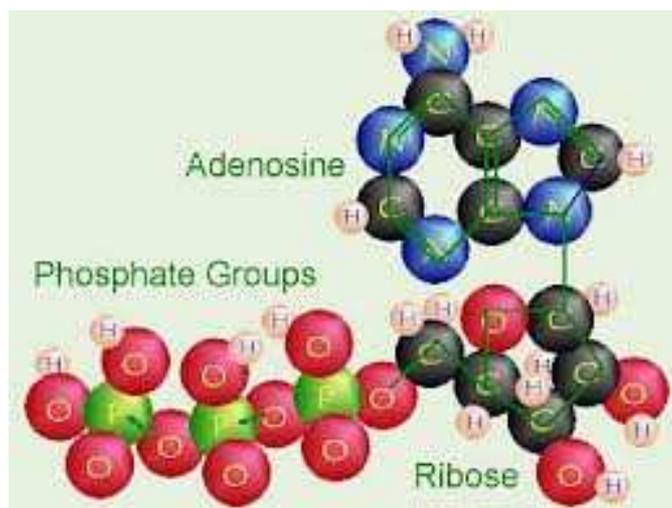


Fig.N°3

### **La Biochimica nasce nel 1860 con L. Pasteur.**

Anno 8000 a.C. Un uomo del Caucaso schiaccia dei grani d’uva, stupisce nel vedere che esce un succo, dopo poco tempo quel liquido acquista uno strano sapore e dona un piacevole senso di allegria.

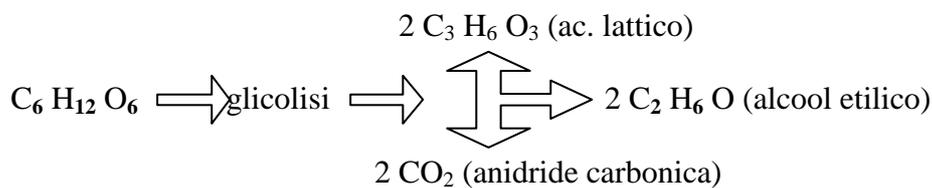
1860. L. Pasteur osserva il succo d’uva al microscopio: vede piccolissimi esseri unicellulari, i saccaromiceti, ne deduce che questi esseri “vivi” sono i responsabili della trasformazione del glucosio del succo d’uva in alcol etilico: la fermentazione, la glicolisi. Io credo di capire il suo stato d’animo quando, stupito nel vedere la “Vita” che trasforma lo zucchero in alcool, scrive “ho la fede di un contadino bretone!”. Certamente Pasteur non sapeva che il suo *Saccharomyces Cervisiae* era nato 3 o forse 4 miliardi di anni fa dalla enorme quantità di proteine, di glucidi e di grassi che si erano accumulate sulla Terra. Accadde che furono scelte le sostanze adatte per costruire un guscio esterno, la membrana; che queste vescicole presero vita da dieci proteine enzimatiche che si accordarono per costruire la via glicolitica. Durante la lettura di questo racconto potrete osservare che questi esseri unicellulari si sono uniti e hanno inventato numerose e complesse variazioni per rispondere in modo armonioso alle diverse esigenze di una vita in comune.

1897. H. e E. Buchner rompono le cellule del lievito, osservano che questi estratti privi di microrganismi, producono acido lattico, concludono che la glicolisi non è legata a microrganismi, cioè alla Vita, ma è opera di proteine enzimatiche.

1905. Hard e Young provano a riscaldare gli estratti di lievito e osservano che contengono due frazioni, entrambe necessarie per lo svolgersi del processo glicolitico, una termolabile (proteica) e una termostabile (non proteica) contenente ADP, ATP, NAD. Così si scopre che molti enzimi possono esplicare la loro azione quando alla parte proteica, detta "Apo-enzima", si lega una parte non proteica, detta "Co-enzima".

Nel primo cinquantennio del 1900 molti ricercatori si dedicano allo studio della glicolisi in estratti di saccaromiceti e di tessuti animali e concludono che la stessa via glicolitica porta a due diversi prodotti: l'alcool o l'acido lattico.

1940: la "Via metabolica glicolitica" è completamente caratterizzata e prende il nome dei tre principali ricercatori: "Via di Embdem- Meyerhof-Parnas".



La via glicolitica rappresenta la collaborazione di 10 proteine enzimatiche che coordinano la loro azione per rompere il Glucosio, formato da 6 atomi di carbonio, in due frammenti: acido lattico nella fermentazione lattica e alcool etilico e CO<sub>2</sub> nella fermentazione alcolica

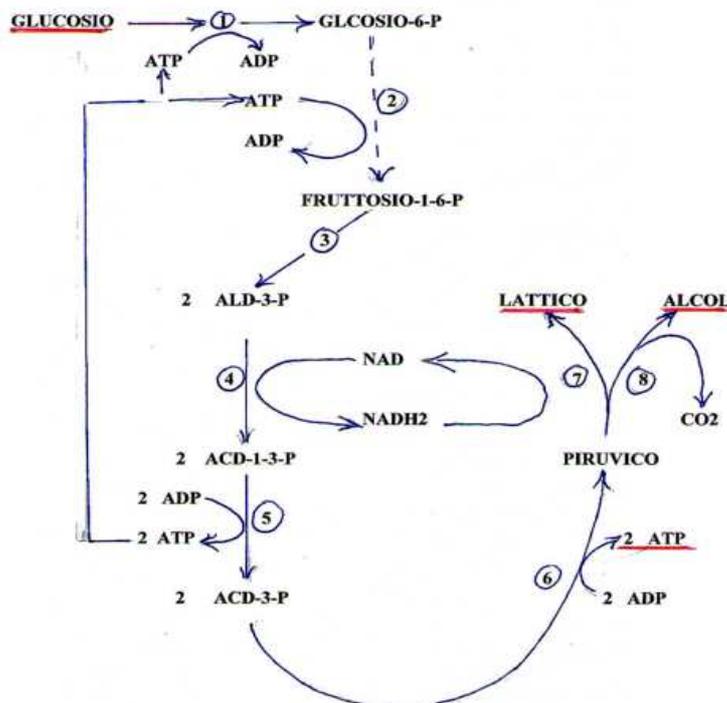


FIG. N° 4

In Fig. N° 4 la via glicolitica è rappresentata in forma schematica ma sufficiente, spero, per essere compresa. La linea tratteggiata indica che tra un composto e l'altro sono inserite altre

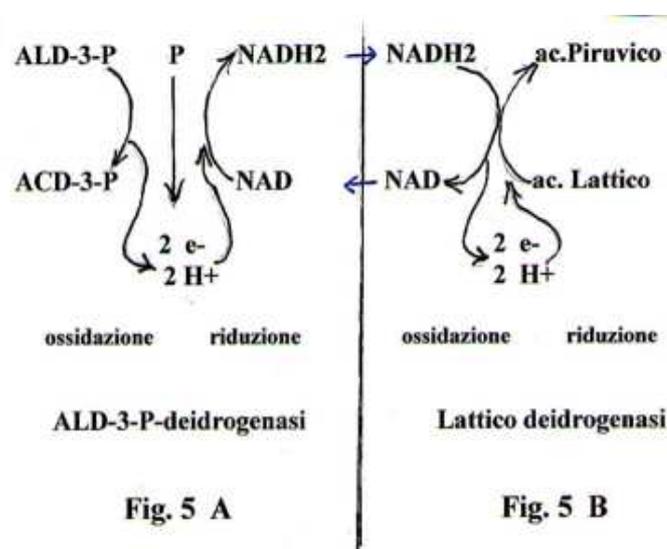
reazioni biochimiche. In rosso è sottolineata la partenza: il GLUCOSIO formato da 6 atomi di carbonio, e gli arrivi: l'ALCOL nella via glicolitica dell'uva, l'ACIDO LATTICO nella via glicolitica di altri esseri unicellulari e nelle cellule animali.

In Fig. N° 4 il glucosio dall'ambiente esterno è entrato nella cellula e subito trova la proteina enzimatica, detta esochinasi, che rapidamente introduce nella molecola un atomo di fosforo: si forma il GLUCOSIO-6-P. Il saccaromicete si è accorto che il glucosio entrava ed usciva in un circolo che lo sottraeva alla via glicolitica e, resosi conto che l'uscita era chiusa ai composti fosforilati, ha provveduto a fosforilare il glucosio e a mantenere fosforilati tutti gli intermedi della via glicolitica, tranne i prodotti finali: alcool etilico, acido piruvico, acido lattico che sono liberi di uscire per altri scopi.

Nel sistema delle reazioni (2) si osserva un processo analogo di fosforilazione. La formazione del FRUTTOSIO-1-6-P. Quindi nella via glicolitica osserviamo due reazioni di fosforilazione: il Glucosio che si trasforma in Glucosio-6-P (1) e questo in Fruttosio-1-6-P (2). I legami chimici che si formano sono "ad elevato contenuto energetico" e gli enzimi che catalizzano queste reazioni possono funzionare solo se riescono a fornire l'energia necessaria; per questo hanno pensato di ricorrere all'energia dell'ATP, di scinderlo in ADP e P: ecco trovati i due elementi indispensabili: energia e P. Ora la reazione può procedere veloce.

Nella reazione (3) la molecola del Fruttosio-1-6-P (che ha conservato i 6 atomi di carbonio del glucosio) viene demolita in due pezzi, ciascuno con 3 atomi di carbonio: 2 molecole di aldeide-3-P-glicerica (ALD-3-P).

Nella reazione (4) l'ALD-3-P è trasformata in acido 1-3-difosfoglicerico (ACD-1-3-P): in questo caso è introdotta un'altra molecola di fosfato senza l'intervento dell'ATP. L'enzima che catalizza questa reazione, la ALD-3-P-deidrogenasi, per introdurre il P nella molecola dell'ALD-3-P utilizza l'energia liberata da un processo RED/OX. Il meccanismo è visualizzato nella Fig.N°5 A



L'enzima ha una "grande affinità" per l'ALD-3-P: questo significa che già a concentrazioni molto basse di ALD-3-P la proteina è in grado di lavorare alla massima velocità. Io direi che la proteina ha fame di ALD-3-P. È grande anche l'affinità, la fame, per il NAD e per il P. Quindi anche a basse concentrazioni di questi substrati l'enzima è pronto ad eseguire il suo lavoro con la massima velocità. Nella prima semireazione l'ALD-3-P è trasformata in ACD-3-P. È un processo di ossidazione: cioè due idrogeni rompono il loro legame chimico con la molecola, si staccano

2 elettroni (-) e 2 idrogenioni (H<sup>+</sup>). Nella seconda semireazione gli elettroni e gli idrogenioni sono attratti e acquistati dal NAD<sup>+</sup> che diventa NADH<sub>2</sub>: è un processo di riduzione. Le due semireazioni accoppiate costituiscono il sistema RED/OX e liberano l'energia necessaria per inserire il fosfato (P) nella molecola dell' ALD-3P. A lavoro finito, quando la ALD-3-P è stata trasformata in ACD-1-3-P, l'enzima abbandona il NADH<sub>2</sub> e lo passa alla reazione della Fig. 5 B di cui parleremo tra poco.

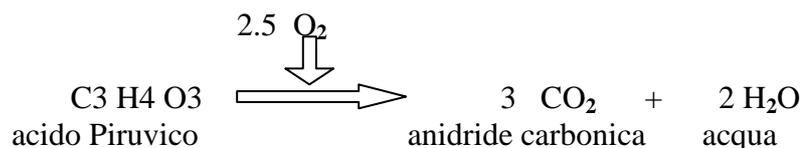
L'intimo meccanismo esposto nella Fig.N°5A è complesso ma stupefacente! Pensate che sono 4 le proteine chiamate a collaborare, ognuna di queste ha una grande affinità per il NAD<sup>+</sup>, per l'ALD-3-P, per il P e le colloca in un suo "sito attivo" dove in un gioco coordinato di trasferimento di elettroni, di formazione e distruzione di legami interatomici, riescono terminare il lavoro in pochi secondi.

L'enzima che catalizza la successiva reazione (5) interviene sulle due molecole ACD-1-3-P, stacca il P che si trova legato in posizione 1 "con legame ad elevato contenuto energetico" e con l'energia così liberata lo lega all'ADP: in questo modo si sintetizzano 2 molecole di ATP che sono subito chiamate per le necessità energetiche delle reazioni (1) e (2) . In maniera analoga interviene l'enzima che catalizza la reazione (6): dalle due molecole di ACD-3-P stacca il P e lo unisce all'ADP che diventa ATP. Così le 2 molecole di ACD-3-P si trasformano in acido piruvico e il ciclo guadagna 2 ATP per ogni molecola di glucosio che entra nel ciclo.

Ritorniamo all'enzima della reazione (4) che ha abbandonato il coenzima NADH<sub>2</sub>. Ora il NADH<sub>2</sub> può trovare due enzimi che lo prendono con fame (affinità) e o utilizzano per un processo RED/OX: la lattico deidrogenasi (7) o la alcool deidrogenasi (8). Il saccaromices cervisiae di Pasteur trova l'enzima (8) che riduce l'acido piruvico in alcool etilico. Altri saccaromiceti e le cellule animali trovano l'enzima (7) e riducono l'acido piruvico in acido lattico. In entrambi i casi il NADH<sub>2</sub> è ossidato a NAD in modo che la reazione (4) possa proseguire. Voglio sottolineare che L'ALD-3-P-deidrogenasi (4) può lavorare in associazione con la lattico-deidrogenasi (7) o con l'alcool-deidrogenasi (8) in quanto ha grande fame di NAD e scarta NADH<sub>2</sub> mentre, al contrario, la lattico-deidrogenasi (7) e la alcool-deidrogenasi (8) hanno grande fame di NADH<sub>2</sub> e scartano NAD

In conclusione: **il bilancio energetico della glicolisi è positivo di 2 molecole di ATP per ogni molecola di glucosio metabolizzata.**

Recentemente è stata scoperta una stupefacente invenzione della cellula: l'esochinasi (1) è inibita dal suo prodotto di reazione, il glucosio-6-P. Questa inibizione fa sì che quando il livello di glucosio-6-P ha raggiunto nella cellula un valore limite la fosforilazione del glucosio, e secondariamente il suo ingresso nella cellula, viene arrestata favorendone la utilizzazione da parte di altre cellule o tessuti che in quel momento ne abbiano maggior bisogno. Inoltre con questo sistema il glucosio-6-P non si accumula nella cellula ma ne rimane solo la quantità ottimale per il funzionamento della via glicolitica. A me sembra che nelle cellule vi sia una "legge del risparmio energetico". La vedremo applicata molto spesso. Alcune cellule limitano la loro vita al processo glicolitico, hanno ricavato un po' di energia dal glucosio trasformandolo in alcool etilico o acido lattico, e si accontentano. Altre sono chiamate a compiti più elevati che richiedono grandi quantità di energia: la ottengono ossidando l'acido piruvico fino a disintegrarlo completamente, a ridurlo in acqua e anidride carbonica. Questa è la reazione globale:



Queste erano le conoscenze del biochimico fino al 1937

Nel 1937 un medico tedesco, Sir Hans Hadolf Krebs, emigrato in Inghilterra per ragioni razziali, si pone il problema della ossidazione dell'acido piruvico e propone alcune reazioni chiave che, collegate fra loro in successione, avrebbero potuto spiegare la via metabolica che porta alla ossidazione completa, fino ad acqua e CO<sub>2</sub>, di questo prodotto della glicolisi.

Krebs si mette all'opera per verificare l'attendibilità della sua ipotesi e, con la collaborazione di molti ricercatori, dimostra la realtà di quello che oggi viene chiamato Ciclo di Krebs.

Nel ciclo di Krebs vediamo comparire una nuova molecola, il CoenzimaA-SH, indicato con la sigla CoA-SH. Deriva da una vitamina (l'acido pantotenico), contiene un gruppo -SH (gruppo sulfidrilico) che ha la proprietà di legare il carbonio con legame altamente energetico, quindi con legame che può formarsi solo per l'intervento di un donatore di energia.

Il CoA-SH è una molecola fondamentale nel metabolismo. Molte molecole si trovano in uno stato di inerzia, assolutamente incapaci di essere assunte da un qualsiasi enzima per essere introdotte nei processi metabolici. Il CoA-SH le carica di energia, le "attiva", cioè le "rende metabolicamente reattive".

Nel 1953 Krebs riceve il premio Nobel per la medicina.

Il ciclo di Krebs è rappresentato in forma schematica nella Fig.N°6: nella parte superiore è indicato il Glucosio che, per via glicolitica, origina 2 molecole di acido piruvico (o piruvato).

Una molecola di piruvico (reazione (2) a destra) reagisce con il CoA-SH, perde un carbonio sotto forma di CO<sub>2</sub> e così si trasforma in una molecola a 2 atomi di carbonio: l'Acetil-SCoA (CH<sub>3</sub>-CO-S-CoA); è un processo RED/OX che libera l'energia necessaria per legare il CoA-SH.

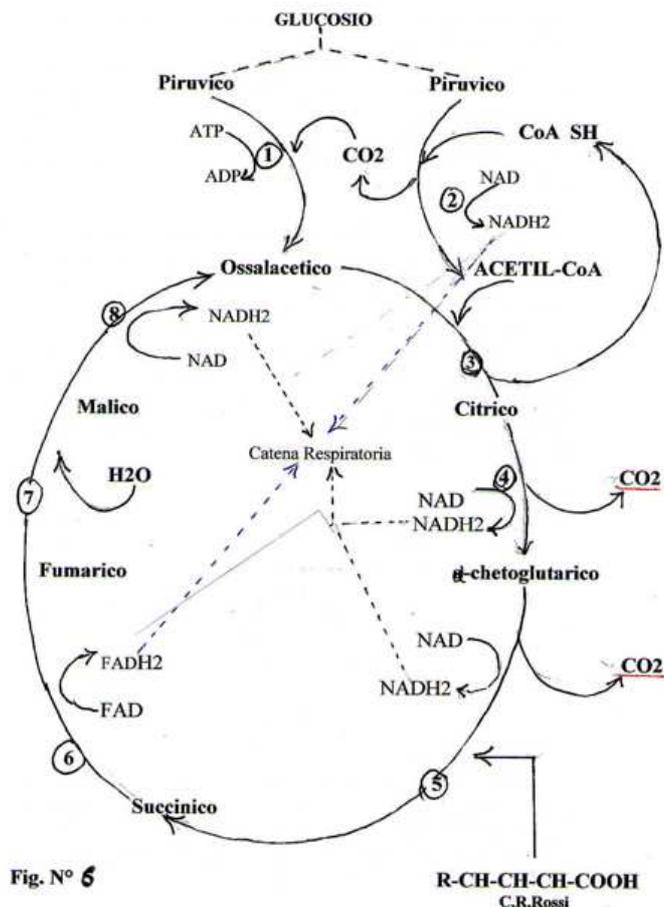


Fig. N° 6

R-CH-CH-CH-COOH  
C.R.Rossi

L'altra molecola di piruvico (reazione (1) a sinistra) incorpora la molecola di CO<sub>2</sub> abbandonata dal piruvico della reazione (2), così diventa una molecola con 4 atomi di carbonio: l'acido ossalacetico. La reazione è endoergonica, cioè richiede l'intervento dell'energia fornita dall'ATP.

Ora il ciclo di Krebs può iniziare: io immagino questa serie di enzimi disposti in cerchio, ognuno con il suo compito, intento a giocare in armonia con tutto il gruppo.

L'enzima della reazione (3) afferra le due molecole derivate dal piruvico (l'ossalacetico, con 4 carboni, e l'Acetil-SCoA, con 2 carboni) e le unisce in una sola molecola a 6 atomi di carbonio: l'acido citrico. In questa reazione si libera CoA-SH che ritorna alla reazione (2).

Ora gioca il (4) che prende l'acido citrico, stacca un carbonio sotto forma di CO<sub>2</sub>, e il citrico viene trasformato in α-chetoglutarico con 5 atomi di carbonio.

Ora gioca il (5) che con un processo RED/OX stacca un altro carbonio sotto forma di CO<sub>2</sub>, e l'α-chetoglutarico viene trasformato in succinico con 4 atomi di carbonio.

L'enzima (6) ossida il succinico a fumarico. Nel processo RED/OX l'enzima assume, al posto del NAD, un diverso coenzima denominato FAD.

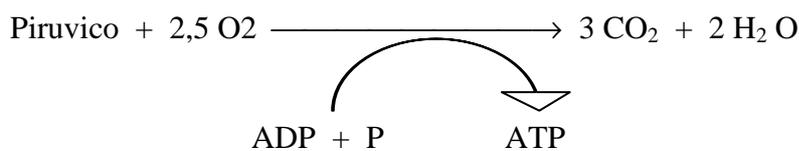
L'enzima (7) con un processo di idratazione trasforma l'acido fumarico in acido malico.

L'enzima (8), l'ultimo giocatore, ossida il malico ad ossalacetico. E il gioco ricomincia.

Il ciclo di Krebs, mentre lo immagino nella microscopica cellula, lo vedo veramente come un gioco di enzimi che si prendono la palla, la modificano, la lanciano al compagno più vicino...quanto devono divertirsi!

Ciascuna delle reazioni (2) (4) (5) hanno liberato carbonio sotto forma di CO<sub>2</sub>, quindi il piruvico è stato distrutto e la sua energia, liberata nei processi RED/OX, la ritroviamo nei coenzimi NADH<sub>2</sub> e FADH<sub>2</sub>. Come indicato nella Fig.N°6, cinque sono le reazioni RED/OX da cui originano [gli equivalenti riducenti \(NADH<sub>2</sub> e FADH<sub>2</sub>\) che saranno inviate alla catena respiratoria](#) (vedi oltre). Il destino metabolico di questi equivalenti riducenti impegna la ricerca biochimica per circa un decennio.

Nel 1937-1939 Lipmann dimostra che nel Bacterium Delbuckii l'ossidazione del piruvato è accoppiato alla fosforilazione dell'ADP secondo la reazione :



Nel 1939-1940 due gruppi di ricercatori guidati da S.Ochoa osservano che più di una molecola di ADP viene fosforilata per ogni atomo di ossigeno consumato da preparati che respirano. Per ragioni tecnico sperimentali non si riuscì a quantificarne il numero.

Nel 1949 A. Lehninger dimostra che nei mitocondri (vedi oltre) la sintesi di ATP, in assenza di altri substrati, è connessa all'ossidazione del NADH<sub>2</sub> e che 3 moli di ATP sono sintetizzate per atomo di ossigeno consumato. [Questo è il processo di fosforilazione ossidativa: il rapporto ATP/O è di 3.](#)

Riferiamo subito un dato molto importante: gli acidi grassi non devono mai rimanere allo stato libero perché hanno un forte potere lesivo delle membrane cellulari, ed entrano nei processi metabolici solo dopo essere stati “attivati” dal CoA-SH.

Guardiamo la Fig.N°7A.

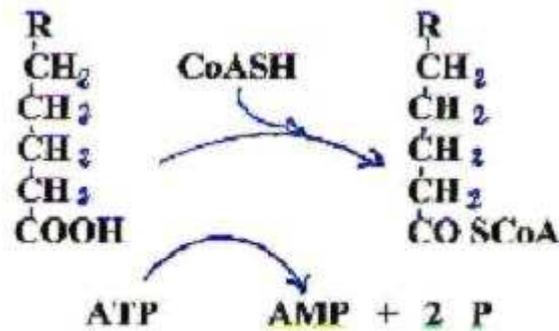


Fig. 7 A

L'acido grasso è una lunga fila di atomi di carbonio (R indica la fila dei carboni che può essere molto lunga, per esempio nell'acido oleico è di 18 atomi di carbonio) ed è inerte, cioè inutilizzabile. Per entrare nei processi metabolici deve ricevere energia, e questa gli è fornita da un enzima che lo unisce al CoA-SH mediante un legame altamente energetico. All'enzima responsabile della reazione è stato dato il nome d'arte di “Enzima Attivante” e il nome scientifico di “Aciltiochinasi ATP-dipendente”. L'energia di legame tra acido grasso e CoA-SH è fornita dall'ATP. In questo caso è utilizzata l'energia del secondo legame fosforico dell'ATP, il  $\beta$ , e quindi il prodotto della reazione è l'AMP. Ricordiamo che negli altri casi fino ad ora considerati era utilizzato il terzo legame fosforico dell'ATP (il  $\gamma$ ) e il prodotto della reazione era l'ADP. L'acido grasso così attivato (cioè legato al CoA-SH) è pronto per l'ossidazione.

L'elevata energia contenuta nella lunga catena carboniosa degli acidi grassi (il 40% dell'energia richiesta dall'organismo umano) si libera in un processo di demolizione ossidativa molto complesso in cui sono implicati 4 enzimi e di questi 2 sono RED/OX. Ora guardiamo la Fig. 7 B.

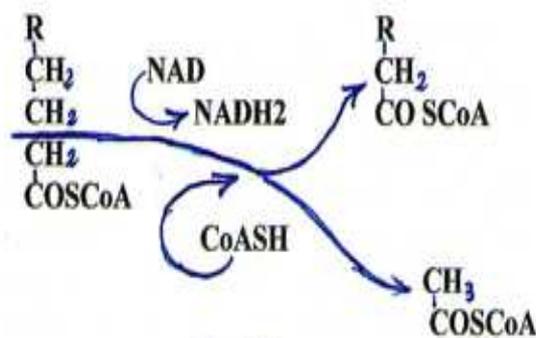


Fig. 7 B

Nello schema esposto in Figura è indicato un solo processo RED/OX legato al NAD. Complessivamente i processi RED/OX inducono lo stacco dall'acido grasso di un frammento a due atomi di carbonio, cioè dalla molecola dell'acido grasso si staccano i due ultimi atomi di carbonio legati al CoA-SH ( l'Acetil-S-CoA ). Contemporaneamente un'altra molecola di CoA-SH viene legata alla restante molecola di acido grasso che, in tal modo, risulta decurtata di due carboni: su questa si ripete un ulteriore processo RED/OX con stacco di un altro frammento a due atomi di carboni e così via fino a quando tutta la molecola di acido grasso è stata demolita in pezzi di Acetil-S-CoA. Questi, mano a mano che si formano, sono immessi nel ciclo di Krebs. Sono gli stessi Acetil-S-CoA che derivano dall'acido piruvico della glicolisi. I due metabolismi, glucidico e lipidico, confluiscono nel ciclo di Krebs.

Queste sono le conoscenze della Biochimica alla fine del 1950.

Nel 1947 ero entrato nell'Istituto di Biochimica dell'Università di Padova con la qualifica di assistente volontario. Era opinione diffusa che in tutti gli organi e tessuti animali fosse prevalente il metabolismo glucidico. Poiché mi sembrava che fosse un'opinione accettata senza valide prove sperimentali, le mie prime ricerche furono indirizzate all'analisi dell'indirizzo metabolico nei vari organi giungendo alla conclusione che, almeno in alcuni, il metabolismo lipidico saliva agli onori alla pari di quello glucidico.

A. Lehninger nel 1945 aveva riferito di aver estratto da vari organi un preparato che ossida gli acidi grassi. A questi estratti diede il nome di "sistema ossidasico degli acidi grassi". Era inevitabile che io fossi attratto da queste ricerche.

Nel 1954 seguì le indicazioni di Lehninger e con grande gioia vidi che in determinate condizioni il sistema estratto dal fegato di cavia "respira", cioè consuma ossigeno.

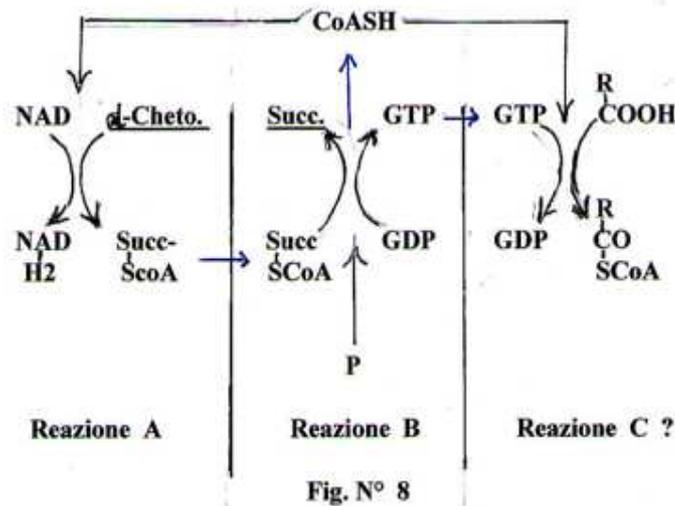
È l'inizio di una lunga serie di esperimenti condotti con questi preparati che contengono cellule rotte e mitocondri, ADP e AMP, non ATP. A quel tempo si sapeva che nel citoplasma delle cellule vi erano dei sacculi (i mitocondri) ma non era disponibile una tecnica per la loro separazione e quindi non vi era alcuna possibilità di studiarne la funzione (vedi oltre). Comunque era evidente che nei "sistemi ossidativi degli acidi grassi" sono funzionanti il ciclo di Krebs e il processo di fosforilazione ossidativa. Per la comprensione di quanto sto per esporre è opportuno consultare la Fig.N°6 che riporta le reazioni enzimatiche del ciclo di Krebs.

Dalle mie analisi risulta che il sistema ossidasico di Lehninger ossida gli acidi grassi solo in determinate condizioni:

- Al sistema deve essere aggiunto ATP, e questa è una condizione ovvia in quanto l'ossidazione deve essere preceduta dalla attivazione.
- L'azione dell'ATP può essere sostituita dall'aggiunta degli intermedi del ciclo di Krebs. Poiché questi rendono funzionanti tutto il ciclo e il processo di fosforilazione ossidativa, ne consegue che le tappe RED/OX forniscono l'energia per la fosforilazione dell'ADP endogeno in ATP, l'attivatore degli acidi grassi.
- Si trovano le condizioni sperimentali per far funzionare non tutto il ciclo ma singolarmente solo una delle 4 reazioni RED/OX.
- Tre di queste reazioni ( numeri (4), (6), (8), vedi ciclo di Krebs) danno lo stesso risultato: con il processo di fosforilazione ossidativa forniscono al sistema l'ATP necessario per l'ossidazione dell'acido grasso.
- Con la reazione (5) (vedi Fig.N°6) i dati sperimentali indicano che qualche cosa è cambiato: rimane l'osservazione che l'ossidazione dell'acido grasso richiede l'ossidazione contemporanea di un intermedio RED/OX del ciclo di Krebs, in questo caso l'ossidazione dell' $\alpha$ -chetoglutarico a succinico, ma sembra che tale ossidazione non sia legata al processo di fosforilazione dell'ADP

in ATP: non si trova alcuna traccia di ATP sperimentalmente rilevabile. Ora inizia la ricerca per trovare chi fornisce l'energia per l'attivazione dell'acido grasso.

In quegli anni D. Gibson e la sua scuola riferiscono che l' $\alpha$ -chetoglutaricodeidrogenasi, l'enzima responsabile della reazione (5), agisce in due tappe come indicato in Fig.N°8.



● **Reazione A:** nella prima tappa l' $\alpha$ -chetoglutarico è ossidato a succinil-CoA: l'energia liberata dal processo RED/OX è impiegata per il legame energetico tra CoA-SH e succinico: il succinil-S-CoA.

● **Reazione B:** nella seconda tappa l'energia del succinil-S-CoA è impiegata per la fosforilazione del GDP a GTP. Il GTP è molto simile all'ATP, solo una piccola modifica all'anello della Adenina.

I miei dati sperimentali potrebbero indicare l'esistenza di una terza tappa.

● **Reazione C:** in una terza tappa l'energia del GTP potrebbe essere impiegata per l'attivazione dell'acido grasso. GTP al posto di ATP ?

Sarebbe il gioco tra tre enzimi. A questo gioco parteciperebbe il CoA-SH:

Il primo enzima (A), lo impiega per le necessità della reazione.

Il secondo enzima (B) lo utilizza per la sintesi del GTP e lo libera.

Il terzo lo riprenderebbe e lo legerebbe all'acido grasso.

Con questo sistema l'attivazione dell'acido grasso, e di conseguenza la sua ossidazione, potrebbe avvenire senza l'intervento dell'ATP.

Un nuovo enzima che lavora in collaborazione con l' $\alpha$ -chetoglutaricodeidrogenasi ? Un nuovo enzima attivante "GTP-dipendente" ? Questi interrogativi richiedevano nuovi esperimenti programmati per verificare se il solo GTP, analogamente al solo ATP, induce l'ossidazione degli acidi grassi. Questo era il programma che ha corso il rischio di essere annullato perché il prezzo richiesto dalla ditta fornitrice del GTP era elevato e le disponibilità economiche dell'istituto erano limitate. Finalmente, dopo molto pensare, la soluzione è stata trovata: il GTP è arrivato e ha funzionato.

Ricordo una sera nel mio studio: osservavo i dati di tanti esperimenti iniziati nel 1954 e arrivati ora, nel 1959, alle prime conclusioni. Non potevano esserci dubbi: esiste un enzima che "attiva" l'ossidazione dell'acido grasso anche in assenza di ATP. La cellula, nata 3 o 4 miliardi di anni fa, aveva conservato questo segreto, e fino a questo momento solo io lo avevo scoperto. Ho provato la sensazione di un giorno lontano della mia giovinezza: ero in montagna, in val di Fassa,

ero partito di notte, il cielo senza luna era pieno di stelle, avevo camminato nel bosco illuminando il sentiero con una torcia, quando il cielo iniziava a schiarire ero arrivato ai piedi della Torre Winkler, una delle tre torri del Vajolet: Delago, Stabler e Winkler, le tre sorelle. Quel giorno era dedicato alla Winkler. Seduto ai piedi della sua parete ho visto le cime dolomitiche illuminarsi di fuoco e poi impallidire, e le ombre della valle lasciare il bosco. Quando ormai il sole era alto nel cielo mi trovavo “appiccicato” alla parete, in piedi su un piccolo terrazzino. In un chiodo infilato in una fessura della roccia avevo infilato il moschettone con la corda di sicurezza, sapevo che più in alto anche il mio compagno aveva assicurato la corda che mi avrebbe sostenuto, forse, nel caso di un mio volo nel vuoto. I corvi con il loro gracchiare erano spariti. Era silenzio, ero solo. Le cime dolomitiche si alzavano nel cielo che non era più azzurro, era profondità. Dalla valle è salito un suono di campane e ho pianto...per il senso di Dio.

Anche ora, nel silenzio del mio studio, la scoperta di questo enzima che partecipa alla vita della cellula mi commuove... per il senso di Dio.

Ora era indispensabile isolare e purificare questo enzima, provvisoriamente indicato con il nome di “enzima attivante GTP-dipendente”, e studiarne le caratteristiche, le modalità di funzionamento.

In Italia era impossibile attuare un progetto di ricerca dal costo così elevato. Per fortuna mi è arrivata la comunicazione che il “National Institute of health, education and welfare” degli Stati Uniti aveva emesso 4 borse di studio per giovani ricercatori europei. Fra i documenti richiesti, oltre al programma di ricerca, doveva essere indicato anche il dipartimento disposto ad ospitarmi. Chiedo a Lehninger: è spiacente di avere tutti i laboratori impegnati in altri argomenti e mi comunica di aver inviato la mia richiesta a D. Gibson che è ben lieto di ospitarmi. E così ho vinto la borsa di studio e nell’autunno del 1960 sono volato a Indianapolis.

Al mio arrivo ho avuto l’impressione che al “Medical Center” dell’Indiana University, “Department of Biochemistry”, fossero incuriositi e divertiti da questo italiano che non parla inglese, lo balbetta. Per fortuna in Gibson trovai non solo un collaboratore ma un amico. Con l’organizzazione e la disposizione finanziaria a mia disposizione il lavoro proseguì velocemente e a Pasqua del 1961 Gibson mi costrinse a parlare al congresso “dell’American Chemical Soc.” ad Atlantic City. In autunno, alla scadenza della mia borsa di studio, ricevetti la richiesta di fermarmi negli Stati Uniti. Non sapevano che rifiutavo perchè in Italia sarei stato sempre vicino alle mie montagne e mi sarei sempre sentito il “ragazzo della torre Winkler”.

Il lavoro continuò in parte nel mio laboratorio, in parte in quello di Gibson e finalmente nel 1963 nella più prestigiosa rivista di biochimica vide la luce la pubblicazione: “A new thiokinase for GTP”. E ora accadde che Lehninger venisse a Padova per la laurea “Honoris causa”, che ricercatori di paesi stranieri arrivassero a Padova, che D. Gibson venisse a Padova per l’anno sabbatico 1964-1965, che dal “National Institute of health, education and Welfare” ricevessi un cospicuo “Grant ad personam” per le ricerche sugli acidi grassi. Mi trovai a dirigere un programma molto vasto di ricerche per cui inviai miei collaboratori a lavorare da Gibson e da Lehninger. Io rimasi nel mio laboratorio a vivere con gioia e commozione le invenzioni della cellula.

Nel 1970 l’enzima (dopo 10 anni dalla sua identificazione) che era stato indicato con il nome d’arte “Enzima attivante GTP dipendente” ricevette il suo nome scientifico “GTP specific Acyl-CoA synthetase” distinto dal “ATP specific Acyl-CoA synthetase”. Con l’aiuto di tanti miei collaboratori il nuovo enzima fu isolato allo stato puro, ne venne determinato il peso molecolare, le caratteristiche cinetiche, si scoprì che nella molecola proteica era inserito un “cofattore” che agisce come attivatore: la 4’-fosfopantoteina, un derivato del CoA-SH.

Fantastico!

Nel frattempo i laboratori sparsi nel mondo scoprono la Vita dei mitocondri. Questi sono organelli in forma di sacculi formati da due membrane, esterna e interna.

Guardateli nella Fig.N°9:

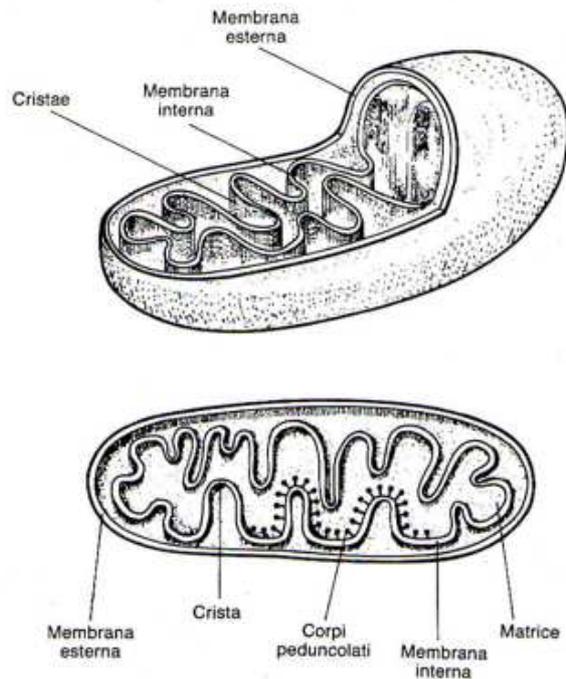


Fig.N°9

La membrana esterna ed interna delimitano tra loro lo “spazio intermembrana”. La membrana interna, ricca di materiale lipidico, delimita lo spazio “matrice” nel quale si invagina in numerose ripiegature dette “Criste”. Le criste proiettano nello spazio matrice i “corpi peduncolati” che terminano con “palline sferiche”. Nei corpi peduncolati è localizzato l’enzima responsabile della sintesi dell’ATP: l’ATP-sintetasi.

**I mitocondri sono esseri viventi all’interno della cellula vivente:** si muovono, non sono dotati di contrattilità, ma ricevono dal citoplasma i metaboliti di cui si nutrono e, forse, sono alcune reazioni chimiche che sono capaci di determinare movimenti. Ogni tipo di cellula ha un numero di mitocondri stabilito in base al tipo di lavoro che è chiamata a svolgere e quindi alla quantità di energia di cui la cellula potrà aver bisogno: nelle cellule di alcuni organi può essere di 30.000, in altri di 1000.

Negli anni 50 si andava dimostrando che il  $\text{NADH}_2$  non trasferisce i suoi equivalenti riducenti direttamente sull’ossigeno molecolare ( $\text{O}_2$ ) ma attraverso un sistema di trasportatori chiamato “catena respiratoria” e sistemato in un letto di fosfolipidi (sono acidi grassi legati in complessi fosforilati) della membrana interna.

La catena respiratoria ha una struttura molto complessa e nella Fig. N° 10 sono rappresentati solo i suoi punti essenziali, indispensabili per comprenderne la funzionalità.

Si scopre che il ciclo di Krebs è localizzato nello spazio matrice, quindi in una sede mitocondriale diversa da quella occupata dalla catena respiratoria. **Nonostante la diversa localizzazione, ciclo di Krebs e catena respiratoria possono lavorare in sintonia perchè la catena respiratoria inizia con il  $\text{NADH}_2$  e “esponde” il suo NAD verso lo spazio matrice in modo che i  $\text{NADH}_2$  delle reazioni RED/OX del ciclo di Krebs ( e con meccanismo particolare anche il  $\text{FADH}_2$  della reazione N° 6 del ciclo ) possono abbandonare il loro enzima, correre a trasferire i loro equivalenti riducenti sul NAD della catena respiratoria ( che si riduce a  $\text{NADH}_2$  ), e ritornare al loro enzima nello stato ossidato di NAD.**

Il NADH<sub>2</sub> trasferisce i suoi equivalenti riducenti, sia elettroni (e<sup>-</sup>) che protoni (H<sup>+</sup>), ad un composto detto Coenzima Q (CoQ). È un processo RED/OX: Il NADH<sub>2</sub> si ossida a NAD e il CoQ si riduce a CoQH<sub>2</sub>. A questo punto accade un fatto nuovo: entrano in gioco delle sostanze denominate Citocromi, che contengono ferro (Fe) e trasportano solo elettroni (e<sup>-</sup>) lasciando liberi i protoni (H<sup>+</sup>).

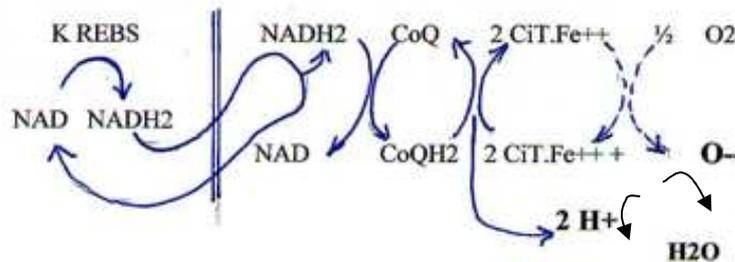
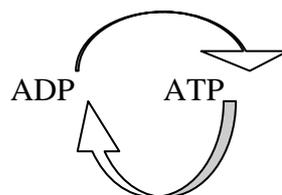
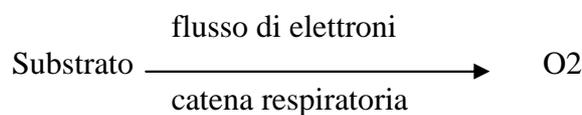


Fig. N° 10

I citocromi si avvalgono delle proprietà del ferro di esistere sia allo stato ossidato (Fe<sup>+++</sup>) che allo stato ridotto (Fe<sup>++</sup>). Per questa proprietà il CiT.Fe<sup>+++</sup> (ossidato) riceve dal CoQH<sub>2</sub> solo gli elettroni e diventa CiT.Fe<sup>++</sup> (ridotto); mentre i protoni (H<sup>+</sup>) momentaneamente sono rilasciati liberi. La catena respiratoria continua con il CiT.Fe<sup>++</sup> (ridotto) che cede gli elettroni all'ossigeno molecolare (1/2 O<sub>2</sub>) che si riduce a O<sup>-</sup>. In questo momento i 2 H<sup>+</sup> momentaneamente liberati dal CoQH<sub>2</sub> reagiscono con O<sup>-</sup> per originare H<sub>2</sub>O. Nella Fig.N°10 il passaggio degli elettroni dal citocromo all'ossigeno è segnato con linea tratteggiata per indicare che prima di essere trasferiti all'O<sub>2</sub> gli elettroni attraversano 4 citocromi (catena transelettronica). L'energia gradualmente liberata durante questi passaggi RED/OX degli elettroni da un citocromo all'altro viene convertita in energia di legame fosforico: fosforilazione dell'ADP in ATP.

La fosforilazione dell'ADP è strettamente accoppiata alla respirazione (intesa come consumo di ossigeno), per cui quando tutto l'ADP è stato fosforilato la respirazione si arresta e riprenderà non appena l'utilizzazione energetica dell'ATP avrà prodotto ADP + P. Si tratta di un meccanismo di controllo che applica la "legge del risparmio energetico" e riduce al minimo necessario il consumo di O<sub>2</sub> e di substrati ossidabili quando non vi sia più bisogno di sintetizzare ATP.

Il Controllo respiratorio può essere così raffigurato



Processi dipendenti da ATP

É l'ADP che controlla la velocità di flusso degli elettroni lungo la catena respiratoria.

Il rapporto tra la velocità del consumo di O<sub>2</sub> in presenza e in assenza di ADP è indicato con il termine R.C. (respiratory control).

$$RC. = \frac{\text{Velocità respiratoria} + \text{ADP}}{\text{Velocità respiratoria} - \text{ADP}}$$

Ora vorrei coinvolgervi nel mondo affascinante della ricerca. Nei mitocondri isolati la respirazione, intesa come consumo di ossigeno, è misurabile mediante un apparecchio dotato di un elettrodo sensibile alle variazioni della concentrazione di ossigeno.

Come si può rilevare dalla Fig.N°11A (linea continua), quando i mitocondri sono incubati in presenza di un substrato ossidabile e di P il consumo di ossigeno, rilevabile dalla lieve pendenza della curva, è scarso, è incrementato dall'aggiunta di ADP e si riduce nuovamente quando tutto l'ADP è stato fosforilato in ATP. La traccia ossigrafica permette di calcolare quanti atomi di ossigeno sono stati consumati per la fosforilazione dell'ADP aggiunto ( rapporto P/O), e quanti atomi di ossigeno vengono consumati (in un determinato tempo) prima e dopo l'aggiunta di ADP, cioè il controllo respiratorio ( R.C).

Nell'esperimento riportato in figura è stato calcolato:  $P/O = 3$  e  $R.C = 4$ .

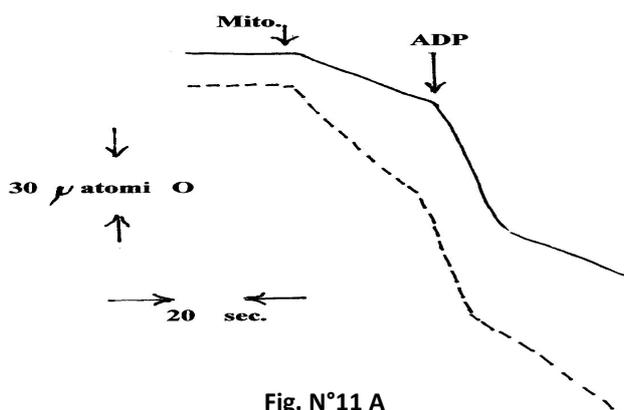


Fig. N°11 A

Lo stesso esperimento viene ripetuto dopo qualche ora con gli stessi mitocondri mantenuti alla temperatura di 0° C. I risultati ottenuti sono riportati nella traccia tratteggiata: è evidente che in assenza di ADP la velocità del consumo di ossigeno è aumentata, mentre rimane invariata in presenza di ADP. Quindi R.C. diminuisce: dal valore di 4 si porta al valore di 1,6. Rimane invariata la quantità di ossigeno consumata per la fosforilazione dell'ADP, quindi il rapporto P/O rimane al valore di 3.

Nell'esperimento tratteggiato (mitocondri invecchiati) riportato in figura è stato calcolato:  $P/O = 3$  e  $R.C = 1,6$ .

Questi esperimenti dimostrano che la catena respiratoria funziona, sia pur a velocità molto ridotta, anche in assenza del processo di fosforilazione dell'ADP, e che questa velocità subisce una netta accelerazione nei mitocondri "invecchiati" per poche ore a 0 gradi C. É logico pensare che durante questo tempo i mitocondri abbiano prodotto una qualche sostanza che "disconnette", "rilascia", i due processi respirazione e fosforilazione.

Erano gli anni in cui si andava affermando la convinzione che il processo di fosforilazione ossidativa fosse legato alla integrità della membrana interna. Io stesso avevo portato qualche contributo a sostegno di questa ipotesi, e stavo analizzando la composizione dei fosfolipidi (sono acidi grassi legati in complessi fosforilati) mitocondriali. L'analisi consiste nell'estrazione dai mitocondri del materiale lipidico mediante solventi organici, e nella successiva separazione dei composti estratti mediante cromatografia su piastre di gel di silice.

La curiosità di andare a vedere se durante l'invecchiamento fosse cambiato l'assetto lipidico mi indusse ad analizzare campioni di mitocondri freschi e di mitocondri invecchiati. Nella Fig. N° 12 sono riportate le fotografie delle piastre cromatografiche ottenute da mitocondri freschi (piastra A) e da mitocondri invecchiati (piastra B). Si rileva subito che l'invecchiamento ha modificato molto profondamente tutto l'assetto lipidico.

Guardate la Fig, N° 12 e le annotazioni scritte a margine.

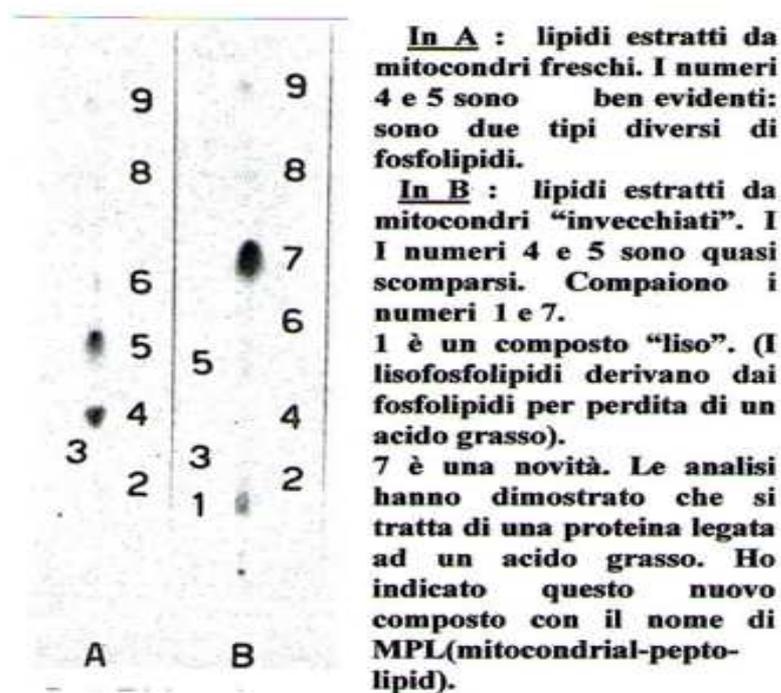


Fig. N° 12

Nella Fig.N°13 rappresento ciò che potrebbe essere avvenuto. In alto ho disegnato la struttura dei fosfolipidi (numeri 4 e 5 nella separazione cromatografica): sono 3 atomi di carbonio uniti tra loro. Ai primi due atomi sono legati acidi grassi, al terzo è legato il fosforo (P) a sua volta legato con una molecola che indico con le lettere CEI (può essere colina, etanolamina o inositolo). Dall'analisi cromatografica si nota che i numeri 4 e 5 (i fosfolipidi) sono quasi scomparsi e si è formato l'1 (i lisofosfolipidi), quindi si deve concludere che nei mitocondri deve essere presente l'enzima "fosfolipasi A<sub>2</sub>" responsabile della scissione dell'acido grasso dai fosfolipidi. L'acido grasso liberato lo si trova legato ad una proteina nel composto MPL.

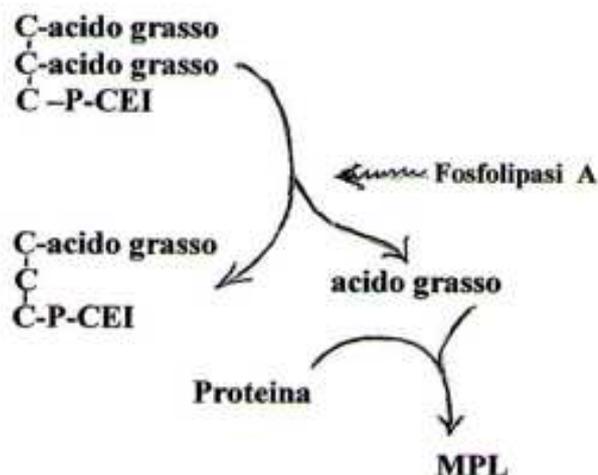


FIG. N° 13

L'MPL potrebbe essere l'agente che rilascia la respirazione dalla sua dipendenza dalla fosforilazione. Ora osservate i dati sperimentali riportati nella Fig.N°11 B eseguiti con la tecnica riportata nella Fig.11 A (consumo di ossigeno rilevato mediante elettrodo ad ossigeno). Analogamente a quanto riportato nella Fig.11 A nei mitocondri freschi (traccia continua) la velocità del consumo di ossigeno è molto scarsa, accelera in presenza di ADP, ritorna ai valori iniziali quando tutto l'ADP aggiunto è stato fosforilato. Lo stesso esperimento ripetuto in presenza di MPL, e riportato nella traccia tratteggiata, dimostra che:

a) in presenza di MPL l'ADP aggiunto determina una netta accelerazione della respirazione, l'ADP viene regolarmente fosforilato in ATP, quindi il rapporto P/O non varia..

b) solamente quando tutto l'ADP è stato fosforilato in ATP l'MPL accelera la velocità respiratoria, cioè rilascia la respirazione dalla sua dipendenza dalla fosforilazione, quindi il controllo respiratorio R.C.diminuisce.

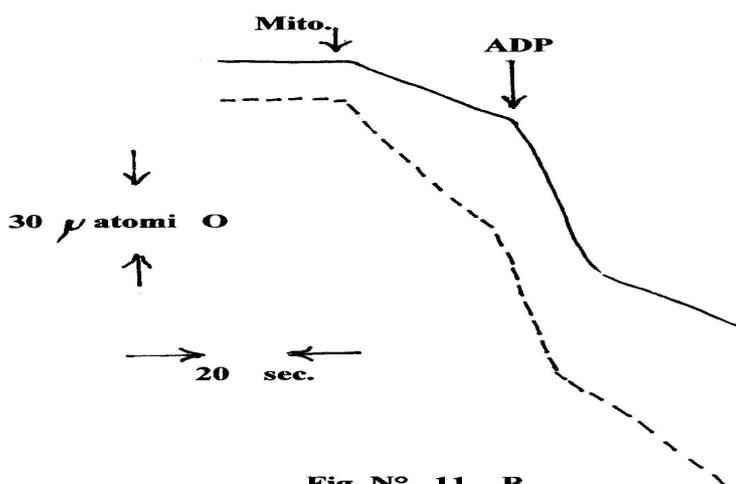


Fig. N° 11 B

Nel frattempo Lehninger riferisce che dai mitocondri freschi esposti all'azione degli ultrasuoni ha isolato un composto che indica con il nome di "R-factor" ( Rf: respiration releasing factor): fattore che rilascia la respirazione dalla sua dipendenza dall'ADP, quindi esercita la stessa azione dell'MPL. In accordo con Lehninger analizzo anche l'Rf e concludo che MPL ed Rf hanno la stessa composizione chimica.

Con le informazioni che oggi la scienza ci fornisce è possibile trarre le seguenti conclusioni: nella respirazione controllata dall'ADP il 42 % dell'energia liberata è utilizzata per la sintesi dell'ATP, il restante 58% è trasformata in calore. Nella respirazione "rilasciata" dal MPL/Rf tutta l'energia liberata è trasformata in calore. Le cellule del fegato e quelle muscolari possiedono il sistema naturale di rilasciamento indotto dal MPL/Rf e sono pronte a rispondere alle domande di un surplus calorico per il mantenimento della temperatura corporea a 37°-38°C.

La comprensione del meccanismo d'azione del MPL/Rf ha dovuto attendere circa 50 anni, quando è stato chiarito il meccanismo della fosforilazione ossidativa; quindi lo descriverò verso la fine di questo racconto.

Fino al 1970 le ricerche sulla fosforilazione ossidativa si basavano sul presupposto della esistenza di "intermedi chimici" che con complicati meccanismi fungessero da tramite tra l'energia liberata dai processi ossidativi e la fosforilazione dell'ADP.

Agli inizi degli anni 70 Peter Mitchell osservò che tanti laboratori nel mondo si dedicavano alla ricerca degli intermedi ma poiché nessuno li trovava era logico pensare che non esistessero e propose una nuova teoria: l'energia dei processi ossidativi crea un "potenziale transmembrana": questo dovrebbe essere il responsabile della fosforilazione dell'ADP. Mitchell ne descrisse l'ipotetico meccanismo e con la collaborazione di tanti laboratori sparsi nel mondo ne verificò la realtà: a lui, nel 1978 , fu assegnato il premio Nobel per la medicina.

Ora osservate la Fig.N°14. Nello spazio matrice è localizzato il ciclo di Krebs dove nei processi RED/OX il NAD viene ridotto a NADH<sub>2</sub>.

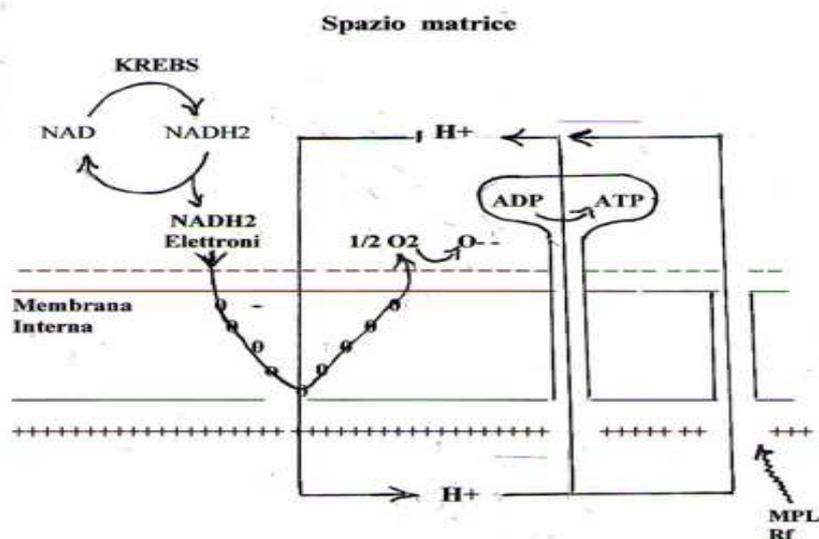


Fig. N° 14

Il NADH<sub>2</sub> del ciclo di Krebs trasferisce i suoi equivalenti riducenti sul NAD con cui inizia la catena respiratoria localizzata nella membrana interna. Ad un certo punto ( come già indicato nella precedente Fig.N°10) lungo la catena respiratoria ( nel tratto transelettronico) vengono tra-

sferiti solo gli elettroni ( $e^-$ ) mentre i protoni  $H^+$  sono momentaneamente liberati e al termine della catena reagiranno con l'ossigeno per formare  $H_2O$ .

L'energia liberata dal fluire degli elettroni induce la estrusione dallo spazio matrice di 12 ioni  $H^+$  per ogni molecola di  $NADH_2$  ossidata. Le cariche negative rimangono nello spazio matrice e quindi si stabilisce una differenza di "potenziale elettrochimico transmembrana" con un gradiente di pH (alcalino all'interno) ed elettrico (negativo all'interno).

Quindi la catena respiratoria scatena una "forza protonmotrice".

I 12 protoni  $H^+$  estrusi ritornano nello spazio matrice infilandosi nei corpi peduncolati, cioè in quelle estroflessioni della membrana interna indicate nella Fig.N°9 e che terminano con una pallina. Si è scoperto che nei corpi peduncolati è localizzato un enzima detto "ATP-sintetasi". Il flusso dei 14  $H^+$  attraverso questo enzima scarica il potenziale transmembrana ed è accoppiato alla fosforilazione dell'ADP. Il meccanismo è regolato in modo che quando ADP e P non sono più disponibili si arresta anche il flusso degli equivalenti riducenti ( $H^+$  e  $e^-$ ) lungo la catena respiratoria. L'ATP che viene prodotto nel processo di fosforilazione ossidativa all'interno dei mitocondri per la maggior parte è esportato nel citoplasma dove viene utilizzato per la trasmissione della sua energia chimica alle energie vitali (per esempio la contrazione muscolare).

Il trasporto dell'ATP fuori dei mitocondri avviene con il concomitante ingresso dell'ADP tramite una proteina enzimatica detta "traslocasi".

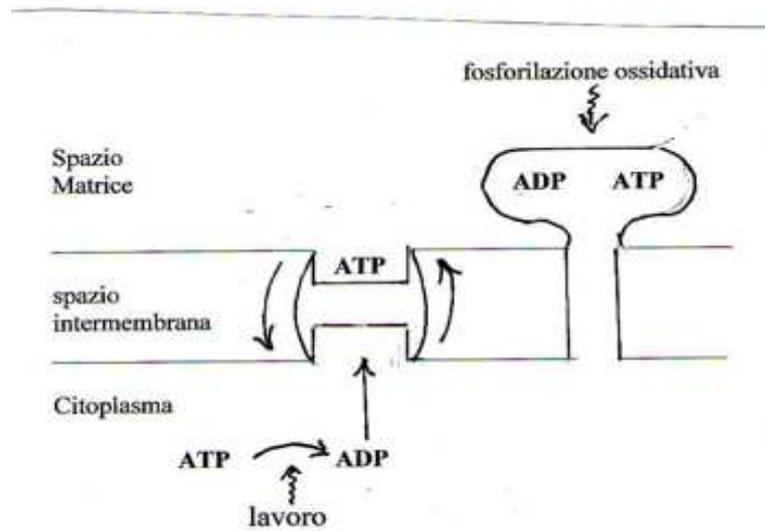


Fig. N° 15

Come mostra la Fig.N°15 la traslocasi può essere visualizzata come una puleggia disposta nello spessore della membrana interna che compie un semigiro solo dopo che negli appositi siti, disposti diametralmente, si è legata una molecola di ATP (all'interno) ed una di ADP (all'esterno). Pertanto per ogni molecola di ADP che entra ne esce una di ATP: rigorosamente nel rapporto di 1 a 1. Conseguentemente in mancanza di ADP esterno, l'ATP prodotto nel mitocondrio rimane nel compartimento interno. Questo sistema di trasporto costituisce un meccanismo di controllo che applica la "legge del risparmio energetico" e uniforma la sintesi mitocondriale di ATP al reale fabbisogno energetico della cellula.

Nello spessore della membrana interna è inserita una proteina a cui è stato dato il nome di termogenina o UCP (uncouplingprotein, cioè proteina disaccoppiante). Questa proteina agisce da "canale protonico" dove i protoni  $H^+$  espulsi durante l'attività della catena respiratoria possono infilarsi e seguire una via alternativa a quella dei corpi peduncolati. Entrambe le vie scaricano il potenziale transmembrana e stimolano la catena respiratoria, ma la via dei corpi peduncolati por-

ta alla sintesi di ATP, quella dei canali protonici porta alla produzione di calore. Anche questa via è regolata dalla “legge del risparmio energetico”. Recentemente mi è stato riferita la scoperta che l’UCP possiede due siti di legame, uno per l’ADP e uno per l’ATP i quali, legandovisi, formano rispettivamente “UCP-ADP” e “UCP-ATP” e inibiscono la conduttanza protonica dell’UCP. Queste nuove scoperte potrebbero ben spiegare il meccanismo dell’azione disaccoppiante del MPL/Rf riferita 50 anni fa e riportata negli esperimenti di Fig. N° 11 B a pagina 19. In questi esperimenti si era misurata la respirazione di mitocondri in assenza e in presenza del disaccoppiante MPL/Rf e si era concluso che:

a ) in presenza di MPL/Rf l’ADP aggiunto al sistema ossidante viene regolarmente fosforilato in ATP, quindi il canale UCP dovrebbe essere chiuso nella sua forma di “UCP/ADP” e l’MPL/Rf non disaccoppia perché non ha la facoltà di allontanare l’ADP dal UCP e quindi di aprire il canale protonico.

b) solamente quando tutto l’ADP è stato fosforilato in ATP, e il canale dovrebbe essere chiuso nella forma “UCP-ATP”, l’MPL/Rf ha la proprietà di allontanare l’ATP e quindi di aprire il canale UCP alla conduttanza protonica e disaccoppiare.

Recentemente è stato riferito che nello spessore della membrana interna è presente anche l’enzima Acil-transferasi e questa scoperta ci permette di identificare il destino del MPL/Rf giunto al termine della sua azione. Ora il “ciclo termico” rappresentato nella Fig.N°24 è completo.

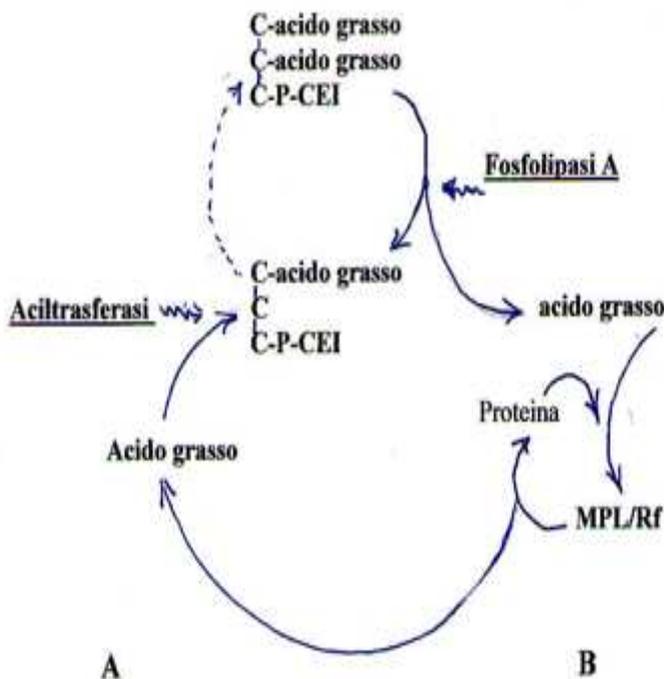


Fig. N° 24

Il ciclo inizia sempre con l’azione della fosfolipasi A che scinde l’acido grasso dai fosfolipidi e lo lega ad una proteina per formare l’MPL-Rf e i composti liso. Ad azione compiuta l’MPL-Rf viene scisso nei suoi componenti e l’acido grasso (previa sua attivazione), viene preso dalla aciltrasferasi che lo trasferisce ai composti liso e ricostituisce i fosfolipidi di partenza.

Osserviamo i due enzimi “fosfolipasi A2” e “acil-trasferasi” esplicano azioni contrapposte, la prima di scissione, la seconda di ricostituzione. Devono essere regolate in modo che quando agi-

sce la scissione sia inibita la ricostituzione, e viceversa. Il meccanismo di regolazione deve esistere, si tratta di scoprirlo.

Si può concludere che nelle cellule animali il Potenziale elettrochimico transmembrana mitocondriale rappresenta il meccanismo con cui l'energia chimica dei composti organici, liberata dai processi RED/OX e trasferita nella riduzione del NAD a NADH<sub>2</sub>, viene utilizzata per fornire l'energia di legame dell'ATP o per il processo di termogenesi.

Ora esaminiamo la situazione energetica della cellula in riposo e in lavoro, come rappresentato nelle Fig.N°14 e 15.

#### In riposo:

Sia all'interno dei mitocondri che nel citoplasma la reazione  $ADP \longleftrightarrow ATP$  è spostata completamente verso l'ATP. La traslocasi è ferma per mancanza di ADP, quindi anche la catena respiratoria è ferma e alla sua partenza il NAD è nella forma ridotta di NADH<sub>2</sub>. In questa situazione il ciclo di Krebs si trova bloccato in quanto non può trasferire sulla catena respiratoria gli equivalenti riducenti delle sue tappe RED/OX.

#### Inizia il lavoro:

L'ATP citoplasmatico cede la sua energia e si scinde in ADP e P. Immediatamente l'ADP si lega alla "traslocasi" che compie un semigiro e porta dentro l'ADP e fuori l'ATP. L'ADP stimola la catena respiratoria: il suo NADH<sub>2</sub> è ossidato in NAD e l'ADP è fosforilato in ATP. Ora gli equivalenti riducenti provenienti dal ciclo di Krebs possono scaricarsi sul NAD della catena respiratoria...il giro è iniziato.

É un'armonia, una sincronia perfetta, un meccanismo perfetto come quello di un orologio. Non viene il sospetto che vi sia l'intervento di un qualche orologiaio?

Un sistema molto complesso di regolazione armonizza la scelta dei substrati da ossidare, l'indirizzo del flusso elettronico della catena respiratoria verso la fosforilazione dell'ADP in ATP o verso la produzione di calore. **Compito del sistema regolativo è di commisurare oculatamente queste scelte alla effettiva richiesta da parte della cellula, evitando ogni spreco di energia (legge del risparmio energetico).**

Ora tenterò di visualizzare il meccanismo dei sistemi di regolazione immaginando il comportamento di una cellula che abbia ricevuto lo stimolo a produrre lavoro sotto forma di ATP o sotto forma di calore e che sia stata posta nelle condizioni di dover ricorrere alla ossidazione degli acidi grassi. Questo comportamento, immaginato ma basato sulla applicazione delle attuali conoscenze biologiche, ci serve per chiarire i sistemi di regolazione.

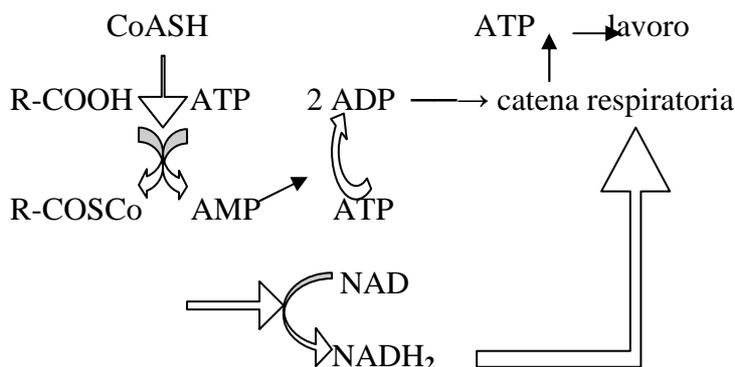
Ricordiamo che prima di poter essere ossidato l'acido grasso deve essere "attivato" e può scegliere tra l'azione dei due enzimi attivanti (ATP o GTP dipendenti) riportati in A e in B.

Punti centrali della regolazione sono il rapporto NADH<sub>2</sub>/NAD della catena respiratoria e il rapporto ADP/ATP del sistema fosforilante.

Consideriamo che nella cellula in riposo il rapporto NAD/NADH<sub>2</sub> è spostato verso l'NADH<sub>2</sub> e il rapporto ADP/ATP verso l'ATP.

Per la richiesta di lavoro la cellula manda ai mitocondri due segnali: I°) il rapporto NAD/NADH<sub>2</sub> si è spostato verso il NAD (segno che la catena respiratoria ha iniziato a funzionare), quindi sono richiesti equivalenti riducenti (NADH<sub>2</sub>) da immettere nella catena respiratoria. II°): Il rapporto ADP/ATP si è spostato verso l'ADP (segno che la catena respiratoria fosforila), quindi è richiesto l'invio di ADP. I mitocondri dovrebbero aver risposto scegliendo il sistema legato all'attivazione dell'acido grasso ATP-dipendente che produce subito l'ATP richiesto per il lavoro.

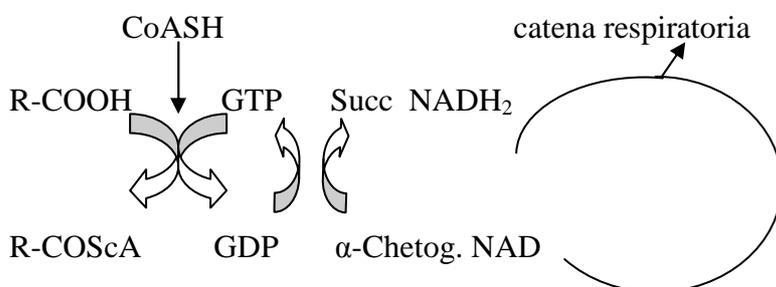
A) l'Acil-tiochinasi ATP-dipendente



Per la richiesta di calore la cellula manda ai mitocondri due segnali: I°) il rapporto  $NAD/NADH_2$  è spostato verso l' $NAD$  (segno che la catena respiratoria ha iniziato a funzionare) quindi sono richiesti equivalenti riducenti ( $NADH_2$ ) da immettere nella catena respiratoria. II°) il rapporto  $ADP/ATP$  è invariato perchè la catena respiratoria funziona in condizioni di disaccoppiamento quindi, non serve l'invio di ATP.

I mitocondri dovrebbero aver risposto scegliendo il sistema legato alla attivazione dell'acido grasso GTP-dipendente. La risposta con il sistema ATP-dipendente sarebbe stato uno spreco di energia.

B) l'Acil-tiochinasi GTP-dipendente



Alle cellule dei vari organi e tessuti animali è assegnato un compito: quelle muscolari devono contrarsi, quelle ghiandolari devono secernere, quelle del cuore devono distribuire ossigeno, quelle del fegato devono rispondere alle richieste energetiche provenienti dai vari organi e tessuti. Questo comporta una loro associazione: devono inviarsi informazioni sulle loro necessità e lavorare insieme e in armonia. Quindi devono trovare un sistema di comunicazione e lo trovano nella loro membrana cellulare che è costruita in maniera del tutto particolare: ha una "permeabilità selettiva" per cui non lascia uscire alcuni anioni organici (hanno carica negativa), lascia uscire il Cloro ( $Cl^-$ ) ma molto lentamente, permette al  $Na^+$  e al  $K^+$  di muoversi secondo gradiente (dalla concentrazione maggiore a quella minore) ma il  $K^+$  ha il permesso di uscire ad una velocità 10-20 volte maggiore della velocità con cui il  $Na^+$  ha il permesso di entrare. Con questa situazione si comprende come a riposo si stabilisca un "Potenziale elettrochimico transmembrana cellulare", negativo all'interno e positivo all'esterno: lo misuriamo nel valore di 70 mV, negativo all'interno.

Il sistema di comunicazione è trovato, vediamo come funziona.

Come avviene in tutte le associazioni anche le cellule dei vari organi e tessuti hanno nominato un direttore: il Cervello. Il cervello è una centrale ricetrasmittente e per conoscere come funziona è indispensabile vedere come è stata costruita. Le sue componenti principali sono le cellule nervose o neuroni e le cellule gliali o glia.

La Fig.N°16 mostra il neurone costituito da un corpo cellulare o soma da cui partono delle diramazioni, come rami di un albero, dette dendriti, e una estensione filiforme, detta assone, di lunghezza variabile fra l'ordine dei  $\mu\text{m}$  e dei  $\text{dm}$ . Nei contatti con altri neuroni soma e dendriti costituiscono l'area ricevente di coordinazione delle informazioni. La comunicazione fra i vari neuroni è di natura chimica, avviene attraverso mediatori chimici o neurotrasmettitori.

Da questo complesso sistema di connessioni neuroniche dipendono le funzioni vitali (respirazione, battiti cardiaci, secrezioni ghiandolari, movimenti ecc.) ma anche quelle più elevate, quali la memoria, il pensiero, l'intelligenza.

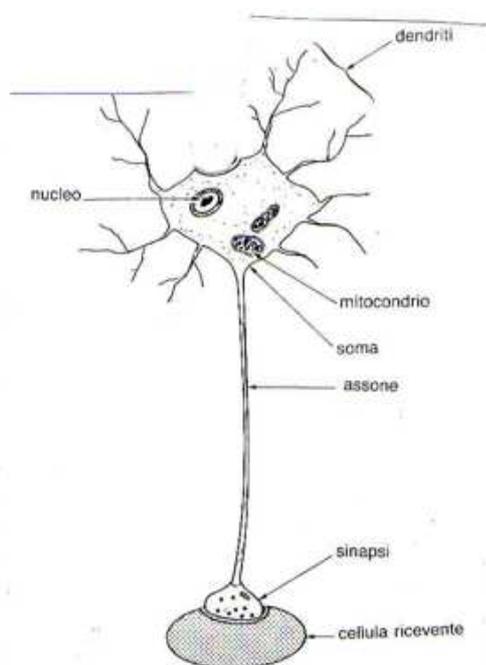


Fig. N° 16

Dal soma del neurone si diparte l'assone: è una estensione filiforme di lunghezza variabile, costituito da una serie di microtubuli, regolarmente giustapposti, che raggiungono la periferia. I lavori assegnati ai neuroni sono due: il mantenimento del potenziale transmembrana cellulare (lavoro comune a tutte le cellule) e quello necessario per la sintesi dei neurotrasmettitori.

Le cellule gliali circondano i neuroni nel rapporto di 5 a 1 e il loro compito è di supporto e di assistenza metabolica. Il metabolismo cerebrale è un campo di ricerca affrontato da poco tempo e voglio indicare ciò che è sicuramente accertato e ciò che sembra molto probabile. Il consumo di ossigeno è molto elevato: il cervello pesa solo il 3% della massa corporea ma utilizza il 20% dell'ossigeno consumato dall'intero organismo in condizioni di riposo. Il consumo di ossigeno è costante, non si modifica con il sonno, rimane indipendente dalla "attività mentale". Certamente i neuroni, a differenza delle cellule degli altri organi e tessuti, hanno "semplificato" il loro metabolismo adottando solo quello glucidico; io penso che abbiano evitato interferenze con il meta-

bolismo lipidico e proteico che, come avviene nelle cellule di altri organi, possono essere fonti di disfunzioni dannose.

Si ritiene che nella glia si svolga il processo glicolitico e che l'acido lattico prodotto venga inviato ai neuroni: l'acido piruvico sarebbe il solo alimento della catena respiratoria neuronale.

[Il meccanismo di ricezione/trasmmissione delle informazioni utilizza il “potenzia elettrochimico transmembrana cellulare”](#). Il neurone riceve l'informazione in un punto del soma identificato in corrispondenza dell'origine dell'assone e ciò che avviene è riportato nella Fig, N° 17. In questo punto lo stimolo portato dall'informazione “perturba” la membrana in modo che il potenziale si modifica da  $-70$  mV a  $+50$  mV per tornare a  $-80$  mV e quindi aggiustarsi al valore di riposo. Queste variazioni sono dovute ad una proteina che ha ricevuto il nome di “porta” o “canale” per indicare che può essere in condizione di apertura o di chiusura. Lo stato di apertura o chiusura dipende dal voltaggio per cui sono state chiamate “porte/canali voltaggio dipendenti”. In condizione di riposo la porta-canale è chiusa. Il segnale portato dallo stimolo induce l'apertura: il  $\text{Na}^+$  entra e il  $\text{K}^+$  esce. La permeabilità al  $\text{Na}^+$  aumenta più rapidamente e intensamente di quella relativa al  $\text{K}^+$ , sicchè entrano più  $\text{Na}^+$  di quanti  $\text{K}^+$  escano. Di qui l'inversione temporanea della polarizzazione.

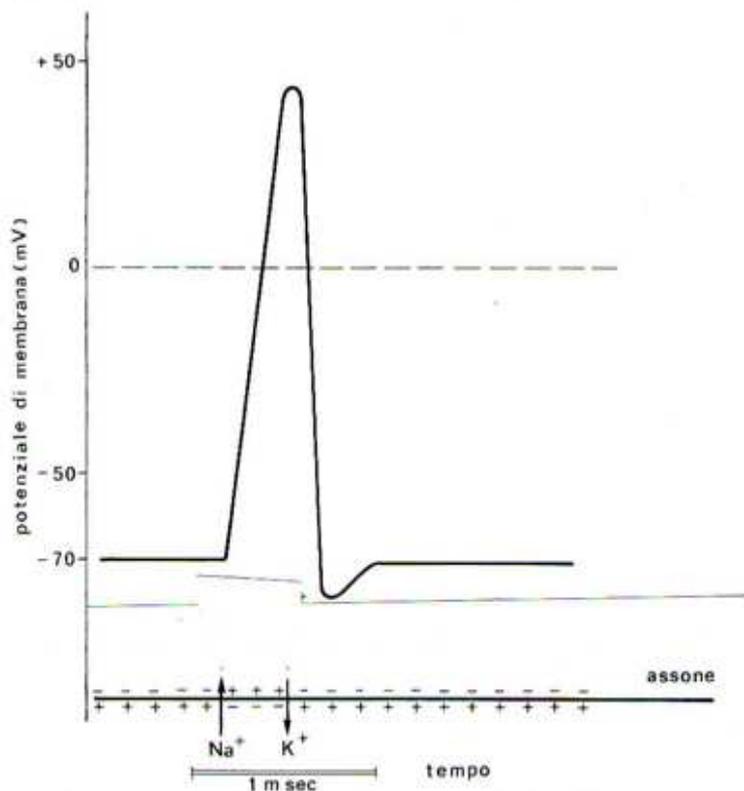


Fig. N° 17

Quando il potenziale raggiunge il valore di  $+55$  mV la porta/canale si chiude. Il ripristino del gradiente ionico allo stato di riposo è assicurato da un'altra proteina che funge da “pompa sodio-potassio” e, lavorando contro gradiente a spese dell'energia fornita dall'ATP, fa uscire 3  $\text{Na}^+$  ed entrare 2  $\text{K}^+$  per ogni molecola di ATP idrolizzato in ADP e P. Il processo di fosforilazione ossidativa ripristina l'ATP consumato.

Quindi il [“Potenziale elettrochimico transmembrana mitocondriale”](#) è chiamato a fornire ATP per il ripristino del [“Potenziale elettrochimico transmembrana cellulare.”](#)

Le cellule neuronali ricevono informazioni da tutto il corpo animale e devono rispondere. Per far fronte a questo enorme lavoro si sono organizzate e si sono divisi i compiti: gruppi di neuroni si sono associati in varie aree, ad ogni area è stata assegnata una zona circoscritta del corpo animale.

La depolarizzazione si propaga per tutto l'assone e come un'onda giunge agli organi periferici. Come esempio descrivo quanto avviene quando l'informazione giunge alle cellule muscolari, le fibrocellule.

La Fig.N°18 rappresenta in forma schematica la giunzione tra fibra nervosa e fibrocellula. Nella sua parte terminale l'assone si ramifica per raggiungere le singole fibrocellule e termina a ridosso di queste con una cellula detta "presinapsi": è una cellula di forma ovoidale, ci appare come una appendice dell'assone

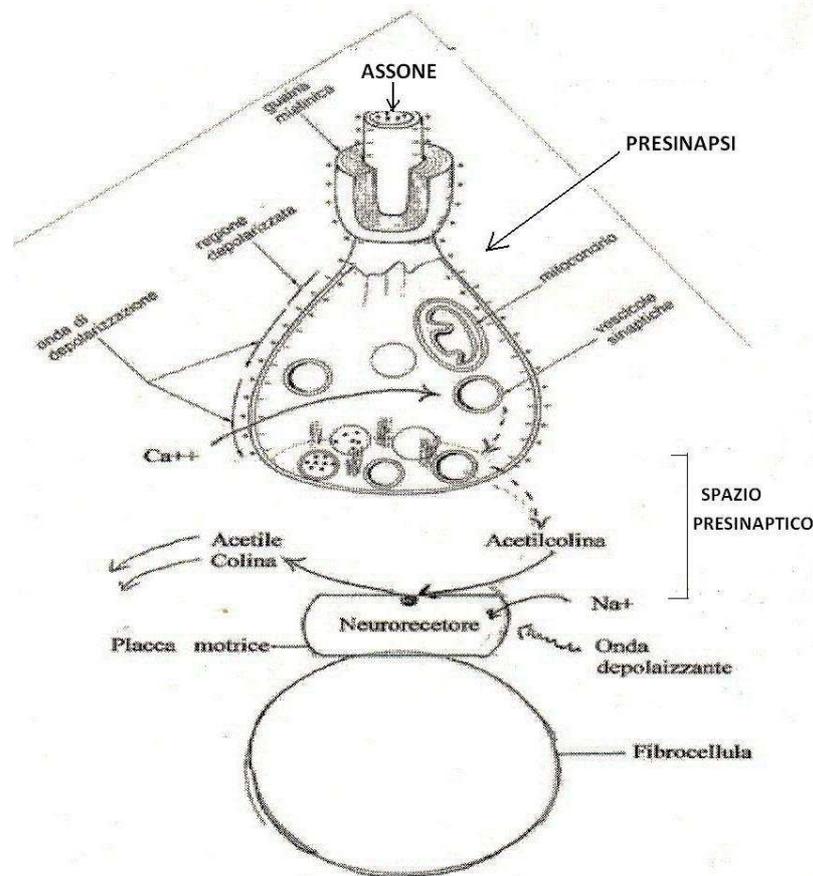


Fig. N° 18

La presinapsi è divisa dalla fibrocellula da una fessura, lo spazio presinaptico, dell'ampiezza di circa 20 nanometri, per cui è costretta ad inviare l'informazione tramite un messaggero chimico e il neurotrasmettitore scelto è l'Acetilcolina, un composto formato dall'unione di due molecole, Acetile e Colina, contenuto in numerose vescicole. Il percorso è un po' complesso, la Fig.N°18 ci aiuterà a seguirlo.

L'acetilcolina è stata sintetizzata nel soma, è scesa lungo i tubuli dell'assone e stata depositata nelle vescicole della presinapsi in attesa di essere utilizzata.

La fibrocellula si è preparata a ricevere l'informazione mediante una struttura detta "postsinapsi" che nel caso della fibrocellula è indicata con il nome di "placca motrice": al microscopio è come un piccolo rilievo circoscritto sulla superficie della fibrocellula, al microscopio elettronico si notano delle invaginazioni .

Ora osserviamo gli eventi scatenati dall'onda depolarizzante portata dall'assone e che si concluderanno con la contrazione della fibrocellula. L'onda di depolarizzazione dell'assone si trasmette alla membrana della cellula presinaptica che risponde con un aumento provvisorio della permeabilità agli ioni calcio ( $\text{Ca}^{++}$ ).

Il calcio stimola le vescicole a migrare a ridosso della membrana cellulare e, per un processo di esocitosi, a versare il loro contenuto di acetilcolina nella fessura presinaptica.

L'acetilcolina raggiunge la placca motrice della fibrocellula e si lega provvisoriamente ad una proteina specifica indicata con il nome di "neurorecettore".

Nel neurorecettore l'acetilcolina si scinde nei suoi due componenti, acetile e colina, il neurorecettore cambia di conformazione e induce un aumento della permeabilità della membrana della placca agli ioni  $\text{Na}^+$ .

Gli ioni  $\text{Na}^+$  entrano nella placca e quindi generano la depolarizzazione che si propaga alla membrana della fibrocellula: questa, come vedremo, risponderà con la contrazione. Acetile e colina sono allontanati dal circolo sanguigno e ritornano al neurone per essere ricombinati in acetilcolina.

Tutti questi eventi (entrata del  $\text{Ca}^{++}$  nella cellula presinaptica, movimento delle vescicole, rilascio della acetilcolina nella fessura presinaptica, stimolo al neurorecettore della placca, rimozione dell'acetile e della colina) scatenati dall'arrivo dell'onda depolarizzatrice portata dall'assone devono avvenire in tempi molto brevi in modo che tutto sia riposizionato allo stato iniziale di partenza prima dell'arrivo della successiva onda di depolarizzazione previsto con una frequenza di  $10^3 - 10^5$  per secondo.

Le cellule muscolari sono dette fibrocellule. Quando si riferisce alle fibrocellule la scienza ha cambiato alcune terminologie introducendo il termine greco "sarkos" = carne.

La membrana cellulare è detta sarcolemma, il citoplasma diventa sarcoplasma e il reticolo endoplasmatico diventa reticolo sarcoplasmatico.

Il reticolo endoplasmatico, situato all'interno del citoplasma, è un sistema di tubuli con rigonfiamenti detti "Cisterne". Nelle fibrocellule il reticolo sarcoplasmatico è molto sviluppato e specializzato in quanto le cisterne contengono  $\text{Ca}^{++}$  implicato nel processo di trasmissione dell'impulso nervoso.

Le fibrocellule hanno una forma cilindrica, affusolata, di lunghezza variabile calcolata sulla grandezza del muscolo che andranno a costituire, si uniscono in "fasci di unità funzionale" avvolti da tessuto connettivo.

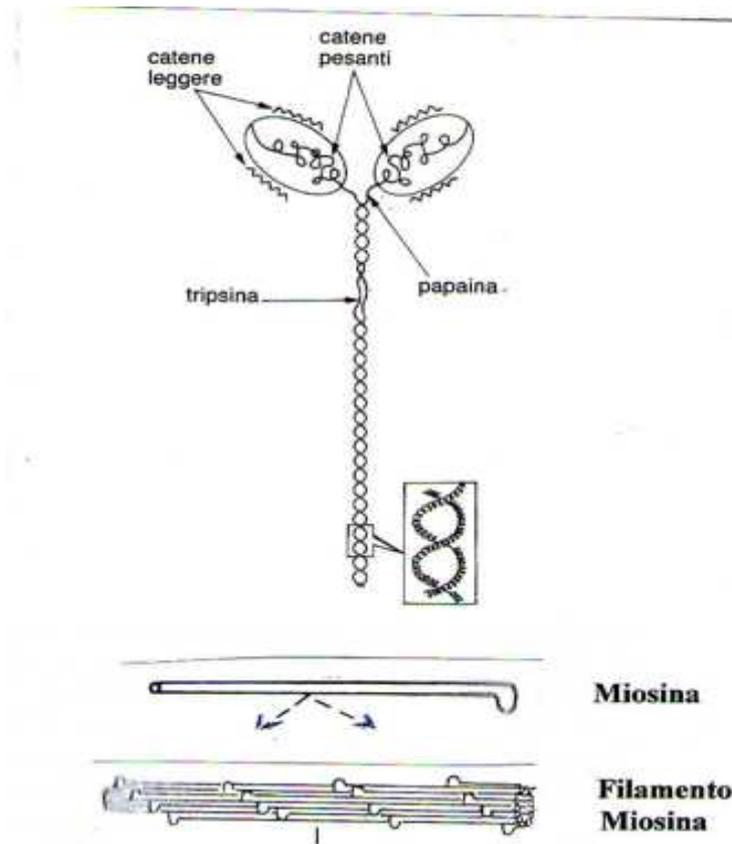
Terminazioni nervose e capillari sanguigni si ramificano per raggiungere le singole cellule, con un andamento ondulatorio per sopportare le continue modifiche in lunghezza a cui le fibrocellule vanno incontro durante il loro funzionamento.

Nel sarcoplasma sono immerse le "unità contrattili" detti "sarcomeri": sono due lunghi filamenti proteici, Actina e Miosina, che decorrono paralleli, l'uno fianco all'altro.

La MIOSINA (vedi Fig.N°19) è costituita da un lungo bastoncino formato da due catene proteiche identiche, dette catene pesanti, attorcigliate fra loro ad elica. All'estremità superiore le due catene pesanti si dividono a formare due zone globulari, dette "TESTE".

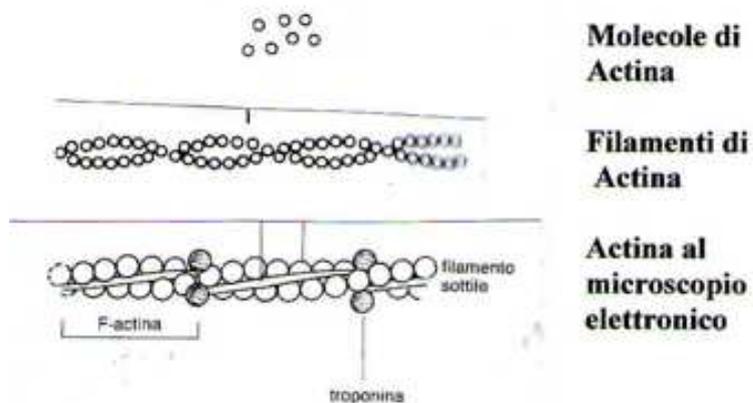
Il bastoncino è interrotto da una proteina (sensibile all'azione proteolitica della tripsina) che consente uno snodo, cioè una ripiegatura con accorciamento della molecola. Un secondo snodo (proteina sensibile all'azione proteolitica della papaina) è localizzato nel punto in cui il bastoncino si divide nelle due teste.

Circa 400 molecole di miosina si uniscono in filamenti (Fig.N°19) in modo che le teste protudano ad intervalli regolari.



**Fig. N° 19**

L'ACTINA (Fig.N°20): è costituita da molecole proteiche globulari che si uniscono in 2 filamenti attorcigliati ad elica. Al microscopio elettronico l'actina si presenta come la ripetizione in serie di subunità denominate F-Actina. In ogni subunità, fra le due catene avvolte a spirale, è alloggiato un bastoncino, costituito da due proteine parallele; immaginate due bastoncini che da un lato sono incernierati e dall'altro lato sono liberi in modo che possano aprirsi a forbice. L'estremità libera di uno dei due bastoncini termina con un globo formato da 3 proteine e chiamato Troponina.



**Fig. N° 20**

## Lo stimolo neuromotorio

Nel reticolo sarcoplasmatico sono inserite due proteine:

- proteine che funzionano come “canali ionici del  $\text{Ca}^{++}$ ”: versano ioni  $\text{Ca}^{++}$  dalle cisterne al sarcoplasma.
- proteine che funzionano come “Pompe ATP-asiche del  $\text{Ca}^{++}$ ”, cioè utilizzano l’energia dell’ATP per pompare ioni  $\text{Ca}^{++}$  dal sarcoplasma alle cisterne.

La Fig.N°21 mostra che i canali ionici del  $\text{Ca}^{++}$  funzionano come un cancello con 3 conformazioni: chiuso, aperto attivo, aperto inattivato. All’arrivo dell’impulso nervoso la depolarizzazione della membrana innesca, in successione, i seguenti eventi:

- I cancelli che si trovano nella conformazione “chiusa”, di riposo, cambiano nella conformazione “Aperto attivo”: in questa conformazione le cisterne versano gli ioni  $\text{Ca}^{++}$  nel sarcoplasma (vanno a stimolare la contrazione)
- Quando gli ioni  $\text{Ca}^{++}$  sono stati versati i cancelli cambiano nella conformazione “Aperto inattivo”, cioè diventano refrattari ai segnali di depolarizzazione che eventualmente giungano dall’assone. Per ritornare allo stato di riposo “chiuso” è necessario che il potenziale di membrana torni allo stato di ripolarizzazione.
- A contrazione terminata le “Pompe ATP-asiche” riportano gli ioni  $\text{Ca}^{++}$  all’interno delle cisterne.



Fig. N° 21

L’aumento della concentrazione sarcoplasmatica del  $\text{Ca}^{++}$ , indotta dall’apertura dei canali ionici, innesca nell’actina e nella miosina una serie di modificazioni conformazionali che si traduce nei movimenti numerati indicati in Fig.N°22.



Fig. N° 22

- 1: il sistema è in riposo, actina e miosina sono staccati.
- 2: all'arrivo del  $\text{Ca}^{++}$  il bastoncino dell'Actina si divide nelle due parti: quella che porta il globo della Troponina si alza e si attacca alle due teste della miosina.
- 3: la troponina flette e induce la miosina a flettere in corrispondenza dei due snodi.
- 4: la miosina si accorcia.
- 5: actina e miosina si staccano e riprendono la posizione di riposo.

Questi movimenti si ripetono in maniera ciclica per l'alternarsi della associazione e dissociazione della miosina e dell'actina e ricordano quelli dei remi che spingono una barca.

L'ATP fornisce l'energia di movimento come indicato nella Fig. N°23.

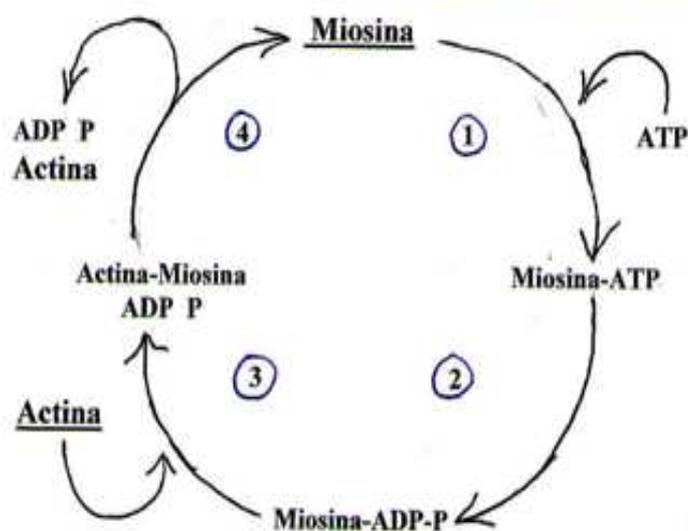


Fig. N° 23

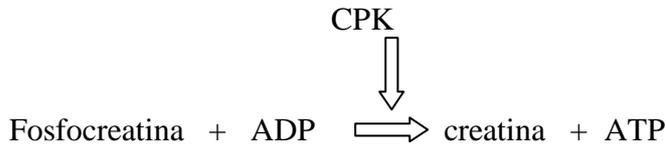
- Nella reazione (1) l'ATP si lega alla miosina e forma il complesso "Miosina-ATP".
- Nella reazione (2) l'ATP cede alla miosina l'energia del III° legame fosforico e forma il complesso energizzato "Miosina-ADP-P".
- Nella reazione (3) il complesso energizzato lega l'actina. Il complesso "Actina-miosina-ADP-P" compie i movimenti che abbiamo descritto e che si traducono nella contrazione della fibrocellula.
- Nella reazione (4) quando la contrazione è finita il complesso si divide nei suoi elementi e la miosina ritorna allo stato iniziale, pronta per un nuovo ciclo.

Dal momento in cui il neurone è stato stimolato al momento in cui la fibrocellula inizia a contrarsi non passano più di 4-5 millisecondi. L'ATP consumato viene ripristinato attraverso il processo di fosforilazione ossidativa alimentato dal metabolismo dei glucidi e dei lipidi.

Premetto che sono state identificate due tipi di fibre: quelle lente di tipo I°, e quelle rapide di tipo II°.

Alla contrazione intensa ma di breve durata (salto in alto, tiro del giavellotto ecc...) provvedono le fibre di tipo II°. In queste fibrocellule la quantità di ATP presente nelle condizioni di riposo è sufficiente per sostenere la contrazione per poco più di un secondo.

Per prolungare la contrazione per altri 4-5 secondi è stata creata la fosfocreatina, molecola formata da due parti: la creatina e il P legato alla creatina con legame altamente energetico. La fosfocreatina è un deposito di energia. Nelle situazioni di emergenza la fibrocellula attiva l'enzima CPK ("creatinfosfatochinasi") che stacca il P dalla creatina e in tal modo libera l'energia di legame e la utilizza per la fosforilazione dell'ADP in ATP.



Durante questi 4-5 secondi di contrazione la cellula attiva un altro enzima la "adenilato chinasi". Questo enzima catalizza la reazione fra due molecole di ADP, una dona all'altra il fosfato, una diventa AMP e l'altra ATP:



Da questa reazione la cellula ricava una quantità di ATP che serve solo per circa 4 secondi di contrazione e utilizza ben 2 ADP e forma AMP che per diventare ATP dovrà consumare l'energia di 2 processi di fosforilazione. Sembra uno spreco di energia contrario alla regola del risparmio energetico. In realtà è un espediente finalizzato a stimolare un'altra fonte in grado di produrre notevoli quantità di ATP: L'AMP stimola la glicolisi al livello delle reazioni (2) (vedi Fig. N° 4) in maniera veramente drammatica: in pochi secondi la velocità del flusso glicolitico passa da 1 a 1000: da 0,05 moli di glucosio/min./g, sale a 60 moli/min/g. Questo imponente aumento non è compatibile con la sola stimolazione esercitata dall'AMP. Evidentemente entrano in gioco altri meccanismi non ancora identificati. Per il momento le cellule hanno conservato un loro segreto.

Per alimentare la glicolisi le fibrocellule hanno in deposito numerose "gocce" sparse nel sarcoplasma; contengono glicogeno che è una grande molecola formata dall'unione di numerosissime molecole di glucosio. Dal glicogeno le fibrocellule prelevano il glucosio e lo immettono subito nella via glicolitica. Queste "gocce" scompaiono rapidamente nei primi secondi di contrazione. La glicolisi stimolata dall'AMP produce tanto acido lattico che viene subito inviato ai mitocondri per ricavare tanto ATP attraverso il processo di fosforilazione ossidativa. Accade però che i mitocondri non sono numerosi, sono insufficienti a smaltire tutto l'acido lattico inviato dalla glicolisi. Sembrerebbe un comportamento strano: produrre acido lattico in gran parte inutilizzabile! **Che spreco di energia!** Si scopre però che le fibrocellule non hanno dimenticato che avevano avvertito il cuore della loro improvvisa e intensa contrazione e che il cuore aveva risposto aumentando la sua spesa energetica per accelerare i suoi battiti in modo da inviare una maggior quantità di sangue. Ora le fibrocellule inviano al cuore l'acido lattico inutilizzato e il cuore ringrazia: riceve una delle sue fonti energetiche preferite.

Nell'esercizio fisico meno intenso ma prolungato (tipo corsa nella maratona) intervengono le fibre di tipo I°; le vediamo provviste di tanti mitocondri, voluminosi, localizzati lungo le unità

contrattili. Nel sarcoplasma le gocce di glicogeno sono numerose e inoltre sono visibili tanti vacuoli ripieni di grassi sotto forma di trigliceridi.

*( Nota. I trigliceridi sono acidi grassi legati ad un'altra molecola, il glicerolo. I trigliceridi sono metabolicamente inerti. Per essere utilizzati gli acidi grassi sono liberati dal glicerolo per azione di un enzima detto " Lipasi" ).*

Durante i primi momenti di contrazione la circolazione sanguigna non ha ancora subito alcuna accelerazione, quindi la quantità di ossigeno che le fibrocellule ricevono non aumenta, e la scarsità di ossigeno impedisce ai mitocondri di aumentare le loro prestazioni. In queste condizioni gli eventi metabolici sono uguali a quelli riscontrati nelle fibre II° e che portano ad un accumulo di acido lattico. Ma ben presto il cuore invia tanto ossigeno e i numerosi mitocondri entrano in piena funzione: l'acido lattico entra nella via della fosforilazione ossidativa e tanto ATP viene fornito.

Se il lavoro è intenso e continuato la fonte energetica fornita dalle "gocce" di glicogeno si esaurisce. È giunto il momento di ricorrere al glucosio che il sangue porta in abbondanza. E così avviene che la concentrazione del glucosio nel sangue, la "Glicemia", diminuisce. È un segnale di allarme: cosa può accadere nel cervello se viene a mancare il glucosio, l'unica sua fonte di energia? L'allarme è recepito immediatamente dalla zona endocrina del pancreas, nelle "isole Pancreatiche di Langherans". Le isole pancreatiche contengono due diversi tipi di cellule: le "α" che sintetizzano e accumulano l'ormone detto Glucagone, e le "β" che sintetizzano e accumulano l'ormone detto Insulina.

L'allarme ipoglicemico è ricevuto dalle cellule "α" che rispondono versando in circolo il loro contenuto di Glucagone. Il glucagone può portare l'informazione solo alle cellule che hanno provveduto ad inserire nelle loro membrane dei "recettori", molecole proteiche abilitate a ricevere questo segnale: sono le cellule del fegato, gli epatociti, e quelle del tessuto adiposo (gli adipociti).

Negli epatociti il contenuto di glicogeno è abbondante, e il glucagone stimola l'enzima che libera le sue molecole di glucosio nella forma di glucosio-6-P.

Qui sorge un ostacolo: sotto forma di Glucosio-6-P, lo abbiamo detto nel capitolo riguardante la glicolisi, il glucosio non può uscire dalla cellula. Gli epatociti, [uniche cellule in tutto l'organismo, si erano preparati a superare l'ostacolo](#) e avevano provveduto a codificare la sintesi di un enzima la "glucosio-6-P- fosfatasi" che ora entra in funzione: scinde il P e lascia il glucosio libero di uscire nel circolo sanguigno in soccorso del muscolo in necessità di energia.

Per il momento le fibrocellule hanno risolto i loro problemi energetici, ma tutto il glucosio del fegato basta solo per circa 20 minuti di marcia. Per fortuna durante questo tempo il glucagone si è legato al recettore degli adipociti dove è depositata una quantità ingente di materiale energetico sotto forma di grassi, i trigliceridi.

Gli adipociti rispondono al segnale glucagonico e, con lo stesso affascinante meccanismo utilizzato negli epatociti, stimola la "lipasi adipolitica" che libera gli acidi grassi dal loro legame con il glicerolo e li versa nel circolo sanguigno legati alla albumina, una proteina del sangue. Le fibrocellule sono pronte a ricevere questo abbondante materiale energetico che permette al maratoneta di continuare la sua corsa. Ma giunge il momento in cui il maratoneta è costretto a fermarsi dal "senso di fatica" oppure, sfinito, cade a terra.

A questo punto il maratoneta si trova con la glicemia a valori piuttosto bassi, con il fegato quasi privo di glicogeno. Deve mangiare. Ingerisce anche, o prevalentemente, glucosio che, assorbito attraverso la parete intestinale, entra nel circolo sanguigno e determina un aumento del tasso glicemico. Può accadere che la glicemia salga a livelli troppo elevati e in questo caso sono le cellule "β" che ricevono il segnale e versano in circolo il loro contenuto: l'insulina.

L'insulina pensa ai neuroni che bruciano solo glucosio, ma qui non trova recettori, vede che il glucosio entra liberamente, che l'esochinasi lo fosforila a glucosio-6-P, osserva che l'esochinasi è diversa da quella delle cellule degli altri organi: il P toglie l'effetto inibitore del glucosio-6-P e permette alla glicolisi di fluire in modo costante, senza variazioni, rispettando le condizioni metaboliche delle strutture cerebrali (ricordiamo che il consumo di O<sub>2</sub> cerebrale non è soggetto ad alcuna variazione).

L'insulina arriva all'epatocita, trova che il glucosio entra rapidamente senza il suo intervento, getta un'occhiata all'interno e trova che l'esochinasi è impegnata a fosforilare il glucosio per impedirgli di uscire e costringerlo a inserirsi nella riserva glucidica del glicogeno. Osserva che l'azione della esochinasi è ostacolata dal glucosio-6-P e risolve questa difficile situazione inducendo il sistema genetico alla sintesi di un nuovo enzima, la "glucochinasi": questo enzima svolge un'azione uguale a quella della esochinasi ma non è inibito dal glucosio-6-P.

Indubbiamente la presenza dei due enzimi è connessa con la capacità degli epatociti di accumulare glicogeno in quantità molto più elevata degli altri tessuti.

Negli adipociti l'insulina trova i suoi recettori, vede che le cellule non sono interessate al glucosio, lancia un'occhiata all'interno e vede che la lipasi adipolitica sta lavorando freneticamente, la inibisce e così si arresta l'invio ai muscoli di acidi grassi.

Anche nelle fibre muscolari l'insulina trova i suoi recettori, vede che il lavoro è terminato e facilita l'entrata del glucosio per permettere la ricostituzione delle riserve di glicogeno.

Lentamente tutto ritorna allo stato di riposo.

Le cellule animali hanno ricevuto le sostanze organiche ricche di energia dalle cellule vegetali che hanno trovato il modo di sintetizzarle utilizzando l'energia della luce del sole.

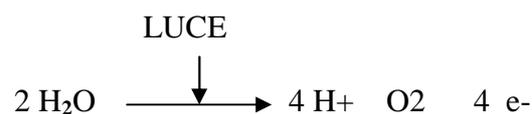
Nelle cellule vegetali il processo di sintesi dei composti organici è localizzato nei Cloroplasti che hanno una struttura molto simile a quella dei mitocondri: entrambi sono dei "sacculi" formati da una membrana esterna e da una interna che delimita lo spazio matrice. In entrambi la membrana interna proietta nella matrice delle estroflessioni che nei cloroplasti sono dette "tilacoidi" e nei mitocondri sono dette "corpi pedunculati".

Nella membrana dei tilacoidi troviamo:

- Molecole pigmentate;
- Clorofilla P-680;
- Clorofilla P-700.

(la lettera P indica "pigmento" e il numero associato alla clorofilla indica il picco (P) del suo spettro di assorbimento).

Le molecole pigmentate sono delle antenne che captano la luce del sole e la trasmettono alla clorofilla P-680; questa la utilizza per la fotolisi dell'acqua secondo la reazione:



Gli elettroni sono immessi in una catena transelettronica localizzata nella membrana interna e scaricati sulla clorofilla P-700.

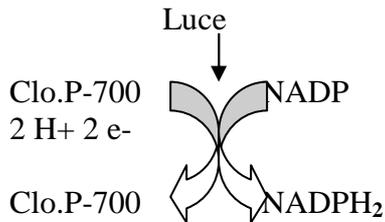
Per descrivere ciò che accade nei tilacoidi posso ripetere le stesse parole usate per i mitocondri: il transito degli elettroni lungo gli elementi della catena respiratoria crea la "forza protonmotrice" che spinge i protoni (H<sup>+</sup>) fuori dallo spazio matrice.

Nello spazio matrice rimangono gli ioni negativi e la membrana diventa polarizzata con negatività all'interno. Nei tilacoidi e nei mitocondri con lo stesso meccanismo si è formato il [potenziale elettrochimico transmembrana](#).

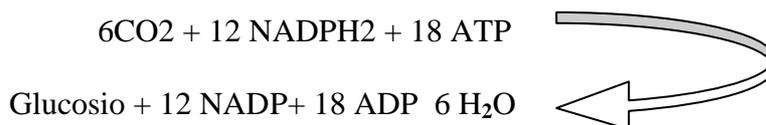
I protoni H<sup>+</sup> rientrano nello spazio matrice secondo gradiente: nei tilacoidi il rientro avviene attraverso le "ATP-sintetasi" inserite nella membrana, nei mitocondri attraverso le "ATP-sintetasi" dei corpi peduncolati.

Nelle ATP-sintetasi i potenziali si scaricano e l'ADP è fosforilato in ATP.

Nei tilacoidi gli elettroni della clorofilla P-700 sono spinti dall'energia luminosa alla riduzione del NADP nel processo RED/OX:



Ora ATP e NADPH<sub>2</sub> sono nello spazio matrice dove trovano il ciclo di Calvin che usa l'energia dell'ATP e la forza riduttiva dell'NADPH<sub>2</sub> per la sintesi del glucosio:



- Le cellule vegetali: captano l'energia della luce del sole e la immettono nel "*potenziale elettrochimico transmembrana vegetale*" per ricavarne energia di ATP da utilizzare per la sintesi del glucosio.

- Il glucosio passa nelle cellule animali che lo immettono nel loro "*potenziale elettrochimico transmembrana mitocondriale*" per ricavarne energia di ATP da utilizzare per i processi vitali.

- Le cellule dei vari organi e tessuti comunicano attraverso un "*potenziale elettrochimico transmembrana cellulare*".

- Il mio Pensiero si esprime nella parola o nella scrittura utilizzando il *Potenziale elettrochimico transmembrana cellulare* dei neuroni.

- Le grandi opere del Pensiero, la musica, la pittura, l'arte sono espresse tramite il *potenziale elettrochimico transmembrana neuronale che viene dalla luce del sole*.

Con il *potenziale elettrochimico transmembrana* vi ho comunicato la VITA DELLE CELLULE, e le Cellule, con la loro straordinaria e armonica complessità intesa a dare a noi la vita, vi hanno parlato di DIO.

- [La vita delle cellule: una piccola corrente elettrica dalla luce del sole al pensiero.](#)

Guardo stupito. Ammirato, commosso...mi sento sempre il ragazzo della torre Winkler.