

## LA GLICOLISI

### Prima parte

La glicolisi è il processo di demolizione (lisi) del glucosio, un monosaccaride che può a sua volta derivare da reazioni di scomposizione esoergoniche (idròlisi) progressive di polisaccaridi come amido, cellulosa, glicogeno, o di disaccaridi come saccarosio (glucosio + fruttosio), lattosio (glucosio + galattosio) o maltosio (glucosio + glucosio).

La glicolisi si realizza nella parte più fluida del citoplasma (citosol) delle cellule procariotiche (es.: batteri) o di quelle eucariotiche (animali e vegetali).

Tra i monosaccaridi, il glucosio presenta il maggior contenuto di energia potenziale, accumulata nei legami chimici che tengono uniti gli atomi della sua molecola.

Perché inizi la glicolisi, è necessario che il glucosio venga “attivato”: viene fornita una molecola di ATP (adenosintrifosfato) che si degrada ad ADP (adenosindifostato), con la formazione del glucosio 6-fosfato (G6P).

Successivamente, il glucosio 6-fosfato viene trasformato dagli enzimi in un suo isòmero, il fruttosio 6-fosfato (F6P).

Quest’ultimo subisce un’ulteriore fosforilazione: viene fornita una seconda molecola di ATP, che si degrada ad ADP, con la formazione di fruttosio 1,6-difosfato (F 1,6DP).

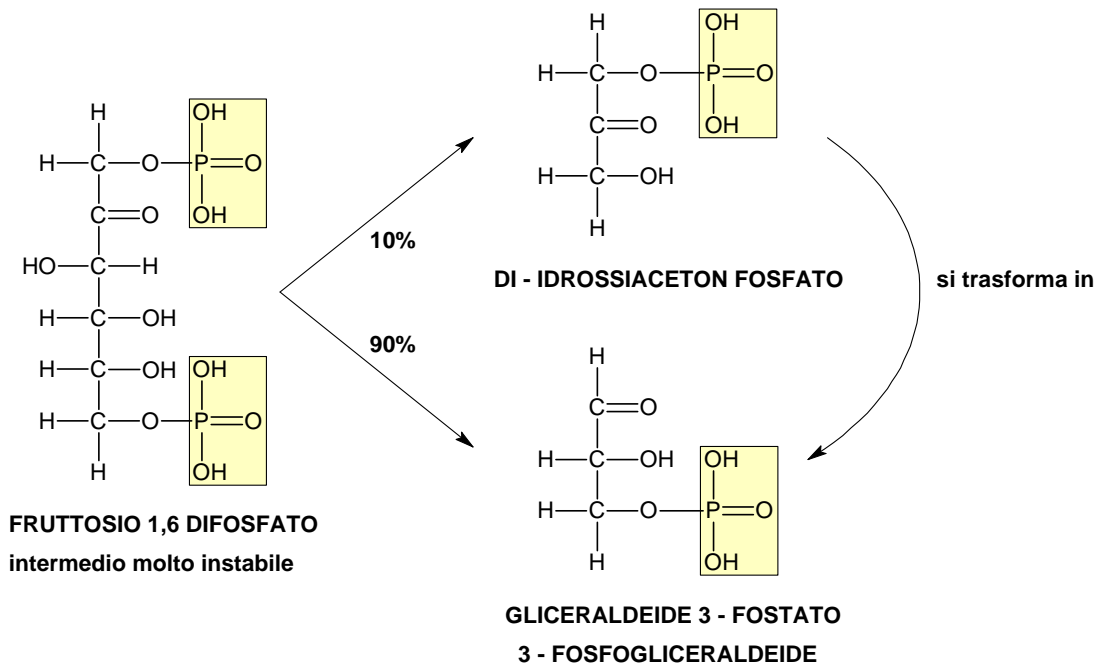
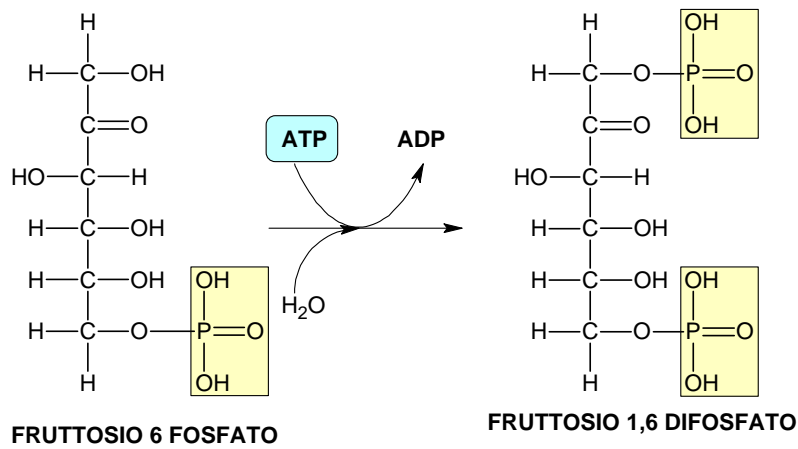
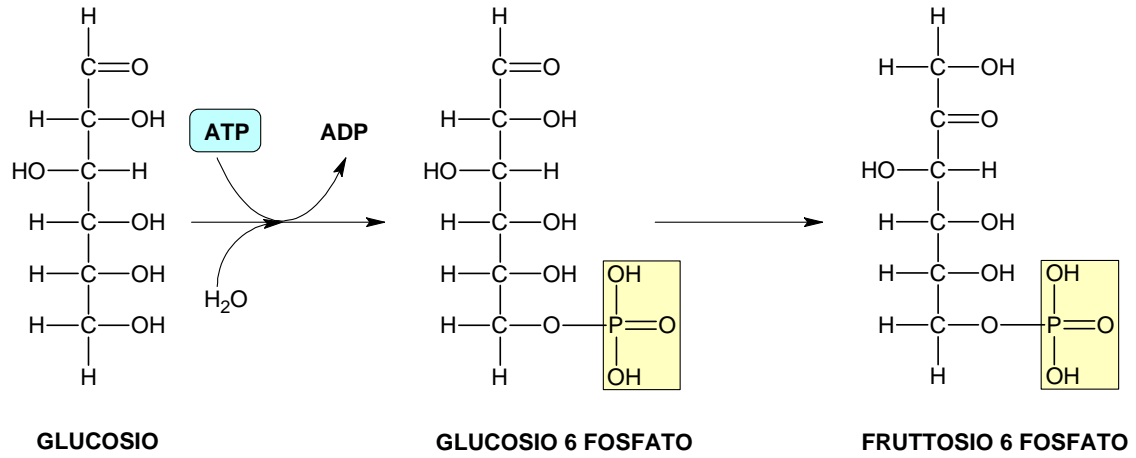
Si tratta di un esoso (zucchero con 6 atomi di carbonio) ricchissimo di energia, molto instabile e reattivo: la ricerca della stabilità energetica lo porta a scindersi in diidrossiacetonfosfato (DAP) e gliceraldeide 3-fosfato (G3P), detta anche aldeide 3-fosfoglicerica (3PGAL).

Con un po’ di ritardo, il DAP (circa il 10% dei prodotti) si trasforma tutto in G3P (o 3PGAL), che passa dal 90% iniziale al 100% dei prodotti.

Il DAP e la 3PGAL sono due composti di tipo C3, perché hanno 3 atomi di carbonio nella loro molecola.

Tutta questa prima parte della glicolisi ha un bilancio energetico negativo, perché abbiamo fornito l’innesco di due molecole di ATP.

Da questo momento ci saranno due linee di percorso parallele di composti C3: si svilupperanno fino alla formazione dell’acido piruvico, che è il composto finale della glicolisi.



**Si ricordi lo schema seguente**

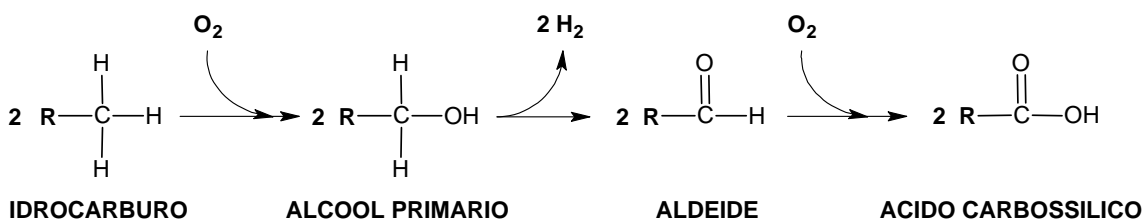
Gli idrocarburi sono composti binari, formati solamente da carbonio ed idrogeno (C, H): sono fortemente ridotti, quindi ricchi di energia potenziale. Noi bruciamo il più semplice idrocarburo: il metano CH<sub>4</sub>.

L'ossidazione (per fornitura di una molecola di ossigeno O<sub>2</sub>) trasforma gli idrocarburi in alcoli. E' da ricordare che gli zuccheri hanno diversi gruppi ossidrilici (-OH) e si possono considerare "poliossidrilici", "polialcolici".

L'ossidazione degli alcoli primari (per sottrazione di ioni H<sup>+</sup> ed elettroni), trasforma questi ultimi in aldeidi. E' il caso del passaggio da fruttosio 1,6-difosfato (F 1,6DP) ad aldeide 3-fosfoglicerica (3PGA1).

L'ossidazione di un'aldeide (per fornitura di una molecola di ossigeno O<sub>2</sub>) trasforma l'aldeide in acido carbossilico.

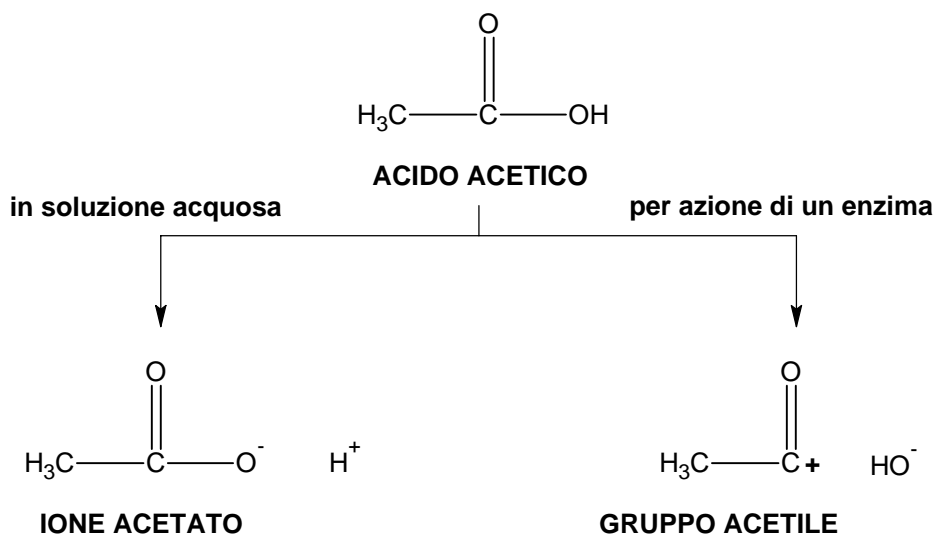
E' il caso del passaggio da aldeide 3-fosfoglicerica (3PGA1) ad acido 3 fosfoglicerico (3PGA).



**Nota**

In una soluzione acquosa, l'acido acetico si dissocia parzialmente (è un acido debole) per generare uno ione acetato ed uno ione idrogeno H<sup>+</sup>.

Invece, per opera di enzimi specifici, l'acido acetico può essere privato del suo ossidrilico (OH), ottenendo un gruppo acetile.



**Seconda parte della glicolisi (*ogni reazione va considerata due volte, in parallelo*)**

La molecola dell'aldeide 3-fosfoglicerica (3PGAl) viene arricchita di un fosfato inorganico ( $P_i$ ) ed ossidata da  $NAD^+$ , che si riduce a  $NADH + H^+$ .

Il  $NADH$  è il primo composto ricco di energia in uscita (si ricordi: due molecole).

Il prodotto è l'aldeide 1,3 difosfoglicerica (1,3 DPGAl).

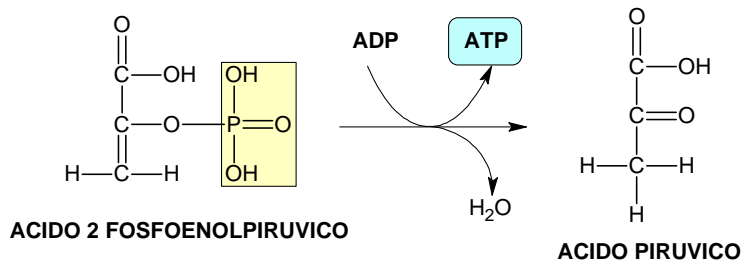
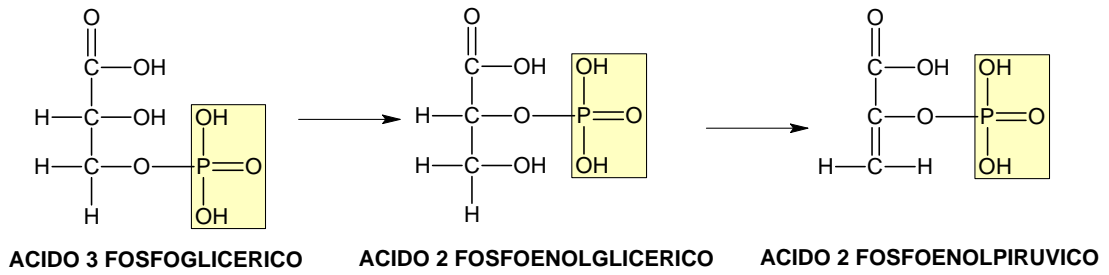
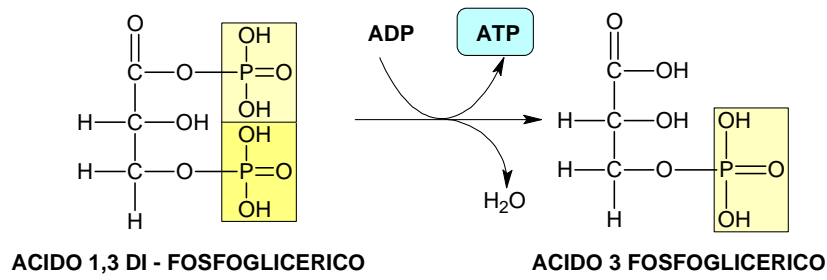
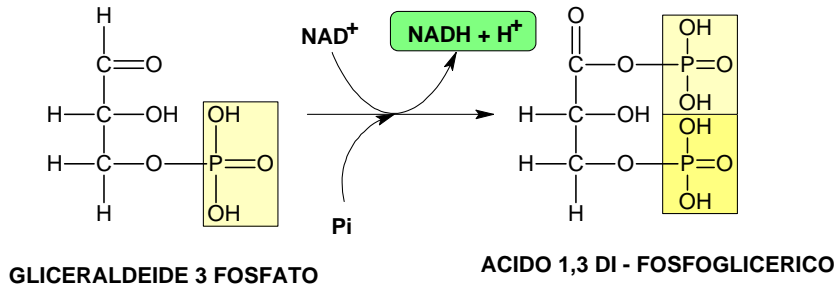
L'aldeide 1,3 difosfoglicerica (1,3 DPGAl) reagisce con una molecola di ADP, che si trasforma in ATP.

Il prodotto della reazione è acido 3 fosfoglicerico (3PGA) e questo, a sua volta, viene trasformato in un suo isomero, l'acido 2 fosfoglicerico (2PGA).

Ogni molecola di acido 2 fosfoglicerico (2PGA) perde uno ione  $H^+$  ed uno ione  $OH^-$  per formare una molecola d'acqua.

Si ottiene acido fosfoenolpiruvico (PEP), che reagisce con ADP, che si trasforma in ATP.

Si ottiene l'acido piruvico, un composto di tipo C3 che è il prodotto finale della glicolisi.



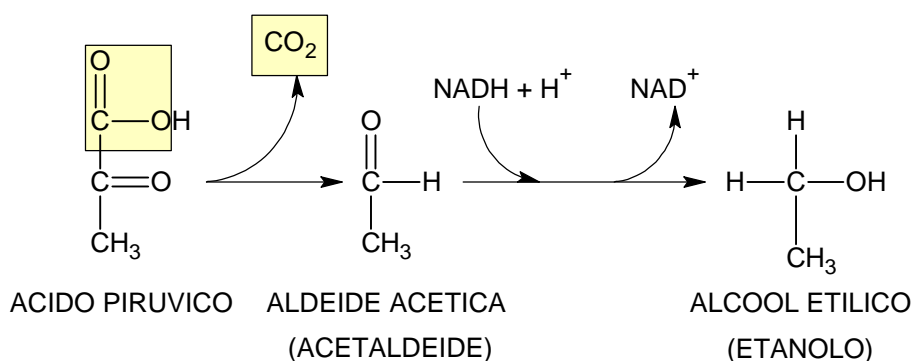
## LE FERMENTAZIONI

Seguono alla glicolisi e si realizzano nel citoplasma cellulare (sia procariote, sia eucariote) quando c'è scarsità o assenza di ossigeno O<sub>2</sub>.

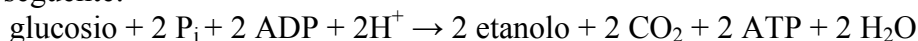
### FERMENTAZIONE ALCOOLICA (O ETILICA)

L'acido piruvico, in ambiente acido (con ioni H<sup>+</sup> disponibili), elimina una molecola di anidride carbonica CO<sub>2</sub> (decarbossilazione) a livello del gruppo carbossilico dell'acido. Si ottiene un composto più ridotto: l'acetaldeide o aldeide acetica.

Quest'ultima viene poi ridotta da NADH + H<sup>+</sup> che si ossida a NAD<sup>+</sup>, fino ad ottenere alcool etilico o etanolo.



A partire da una molecola di glucosio, la reazione complessiva della fermentazione etilica è la seguente:



La fermentazione alcolica trova due vastissimi campi di applicazione nell'industria enologica-birraia e nell'industria della panificazione (arte bianca).

La fermentazione alcolica è svolta dai lieviti ed è di fondamentale importanza per la produzione naturale di alcool etilico. Buchner, nel 1897, fu il primo a dimostrare che la fermentazione alcolica può avvenire anche senza la presenza di cellule viventi, in quanto è legata alla presenza di enzimi che egli definì *zimasi*.

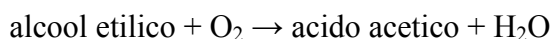
Gli acini dell'uva hanno sulle bucce delle cellule di lievito (*Saccharomyces cerevisiae*): queste ultime in ambiente privo di ossigeno (condizioni anaerobiche) trasformano il succo d'uva che è ricco di zuccheri in vino, grazie al processo di fermentazione. Quando la concentrazione di alcool etilico raggiunge il 12-17% (dipende dal ceppo di lievito) la fermentazione si arresta e le cellule cessano di funzionare. Tra i prodotti della fermentazione c'è anche l'anidride carbonica, che fa gorgogliare ("bollire") il contenuto dei recipienti. Si ricordi che l'anidride carbonica CO<sub>2</sub> ha una massa molecolare (44) maggiore di quella di ossigeno O<sub>2</sub> (32) e di azoto N<sub>2</sub> (28). Tende quindi a stratificarsi in prossimità del suolo. Per questo le tinozze di fermentazione devono essere poste in ambiente elevato, in sottoportico ben arieggiato, e mai in cantine ribassate: la stratificazione e l'accumulo dell'anidride carbonica può provocare anche la morte. Inoltre le grandi ci-

sterne verticali delle cantine, quando sono svuotate del loro contenuto, devono essere aperte nei bocchettoni inferiori (prima) e in quelli superiori: è consigliato di eseguire quindi un'abbondante ventilazione forzata dal bocchettone superiore, poiché la CO<sub>2</sub> esce facilmente dal basso.

Nell'industria della panificazione è proprio l'anidride carbonica che fa lievitare il pane, perché rimane intrappolata nella rete proteica della pasta. La successiva cottura elimina l'alcool etilico per evaporazione e rimangono i caratteristici "buchi" nella mollica del pane. Si osservi che, durante la lievitazione della pasta, questa si riscalda: la fermentazione è infatti un fenomeno esoergonico.

Se si vuole ottenere dell'aceto, dopo la fermentazione alcolica si ha l'attività di microrganismi aerobi obbligati (presenza di ossigeno O<sub>2</sub>) dei generi *Acetobacter* e *Mycoderma*.

L'alcool etilico viene trasformato in aceto secondo la reazione:



### FERMENTAZIONE LATTICA

Nelle cellule muscolari (eucarioti animali), l'intensa attività porta prima o poi ad un calo della quantità di ossigeno disponibile, fino ad arrivare ad un vero e proprio "debito di ossigeno".

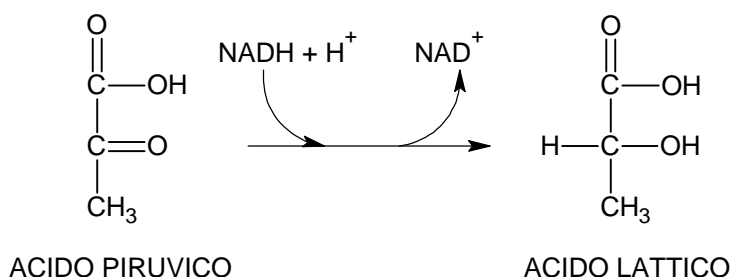
In queste condizioni l'acido piruvico viene convertito in acido lattico (anche lui composto di tipo C3) per azione dell'enzima lattato deidrogenasi, con la contemporanea ossidazione di NADH + H<sup>+</sup> a NAD<sup>+</sup>.

Non c'è eliminazione di CO<sub>2</sub>.

L'acido lattico è quindi più ridotto (ricco di H<sup>+</sup>) dell'acido piruvico.

Solo con il riposo ed una adeguata ossigenazione, l'acido lattico può essere ossidato nuovamente ad acido piruvico e i derivati di quest'ultimo possono entrare nei mitocondri per ossidazione completa, fino ad ottenere CO<sub>2</sub> ed H<sub>2</sub>O.

Alcuni batteri utilizzano la fermentazione lattica per ottenere energia: *Streptococcus termophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* vengono impiegati per produrre lo yogurt.



## ACETILCOENZIMA A

Il coenzima A (in sigla: CoA-SH) è un trasportatore di ioni idrogeno  $H^+$  e di elettroni. Contiene il gruppo tiolico  $-SH$ , che può essere inattivato pericolosamente da metalli pesanti come cadmio (Cd), mercurio (Hg), piombo (Pb), ecc... ed ha un comportamento simile a quello del gruppo ossidrilico ( $-OH$ ), presente negli alcoli.

Si ricordi che, facendo reagire un alcool con un acido organico, si ottiene un estere (reazione endoergonica di condensazione).

Se si fa reagire un tioalcool (che ha il gruppo  $-SH$ ) con un acido organico, per condensazione si ottiene un tioestere.

Facendo reagire il coenzima A (CoA-SH) con l'acido piruvico, in presenza di ossigeno, si ottiene per condensazione un particolare tipo di tioestere, detto acetilcoenzima A.

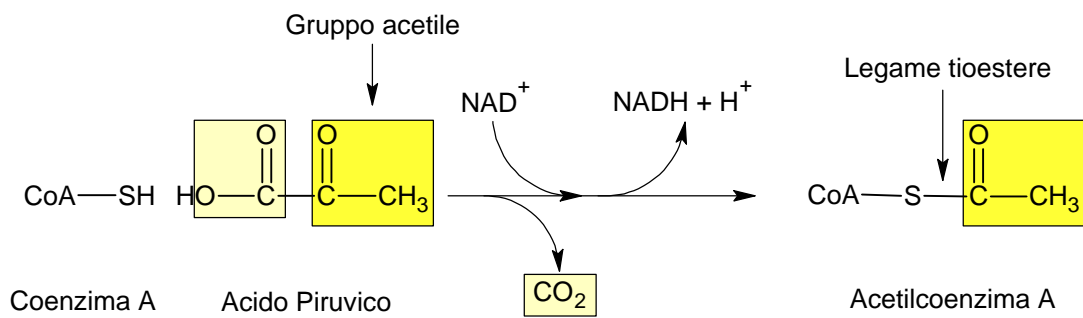
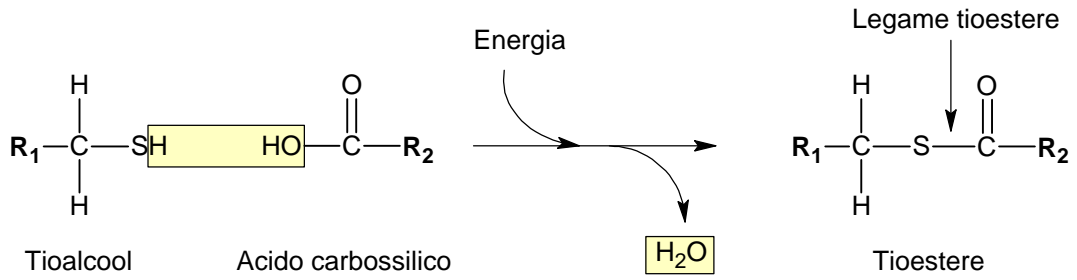
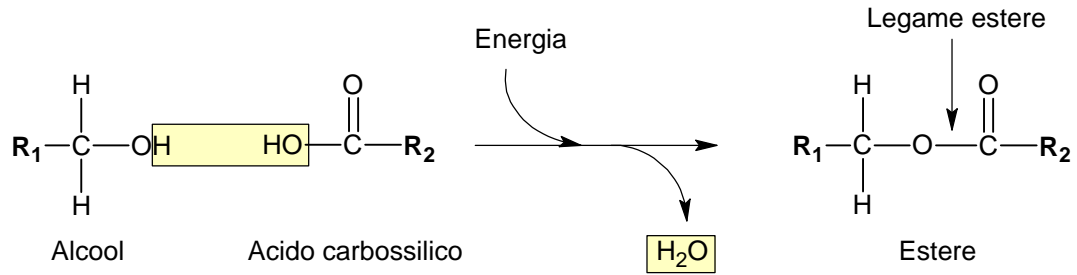
Il processo vede anche la formazione di una molecola di  $CO_2$  e la riduzione di una molecola di  $NAD^+$  a  $NADH + H^+$ . Questo processo è detto **ossidazione dell'acido piruvico**.

L'acetilcoenzima A, proprio grazie alla presenza di ossigeno, riesce ad attraversare la membrana esterna e la membrana interna (quella che ha molte creste ripiegate) del mitocondrio delle cellule eucarioti (animali e vegetali).

La funzione dell'acetilcoenzima A è quella di trasportare il gruppo acetile (una struttura di tipo  $C_2$ ), proveniente dalla demolizione del glucosio, nella matrice (o stroma) mitocondriale, per farlo poi entrare nel ciclo di Krebs.

Si ricordi che ci sono due molecole di acetilcoenzima A per ogni molecola di glucosio impiegata.





## IL CICLO DI KREBS

**Nota: ricordare che quanto esposto va moltiplicato sempre per due.**

E' detto anche ciclo dell'acido citrico o ciclo degli acidi tricarbossilici.

Quando il gruppo acetile (una struttura di tipo C2), trasportato dall'acetilcoenzima A, si trova nella matrice mitocondriale ben ossigenata, reagisce con l'acido ossalacetico (struttura di tipo C4) per dare acido citrico (struttura di tipo C6).

Il coenzima A (CoA-SH) ritorna libero, per essere reimpiegato nell'ossidazione dell'acido piruvico ad acetilcoenzima A.

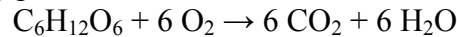
L'acido citrico viene convertito poi nel suo isomero (C6) acido isocitrico.

L'acido isocitrico (C6) viene ossidato da  $\text{NAD}^+$  (con sottrazione di ioni  $\text{H}^+$  ed elettroni  $e^-$ ) per ottenere acido ossalsuccinico (C6).

L'acido ossalsuccinico (C6) perde una molecola di anidride carbonica ( $\text{CO}_2$ ), per ottenere acido  $\alpha$  chetoglutarico (struttura di tipo C5).

L'acido  $\alpha$  chetoglutarico (C5) viene ossidato da  $\text{NAD}^+$  (con sottrazione di ioni  $\text{H}^+$  ed elettroni  $e^-$ ) e reagisce con il coenzima A (CoA-SH): viene liberata una molecola di anidride carbonica ( $\text{CO}_2$ ) e si ottiene succinilcoenzima A (struttura di tipo C4).

**Nota importante:** a questo livello, proprio perché c'è ossigeno  $\text{O}_2$ , viene eliminata tutta l'anidride carbonica ( $\text{CO}_2$ ) prodotta dalla reazione:



Più avanti ci sarà il consumo di ossigeno e la produzione di acqua.

Il succinilcoenzima A reagisce con un mediatore energetico (GDP, guanossindifosfato) che acquisisce un fosfato inorganico ( $\text{P}_i$ ) presente nella soluzione acquosa della matrice mitocondriale. Si forma GTP (guanossintrifosfato); si libera il coenzima A (CoA-SH) che può essere reimpiegato nella reazione precedente.

In questo modo, il succinilcoenzima A viene ossidato ad acido succinico.

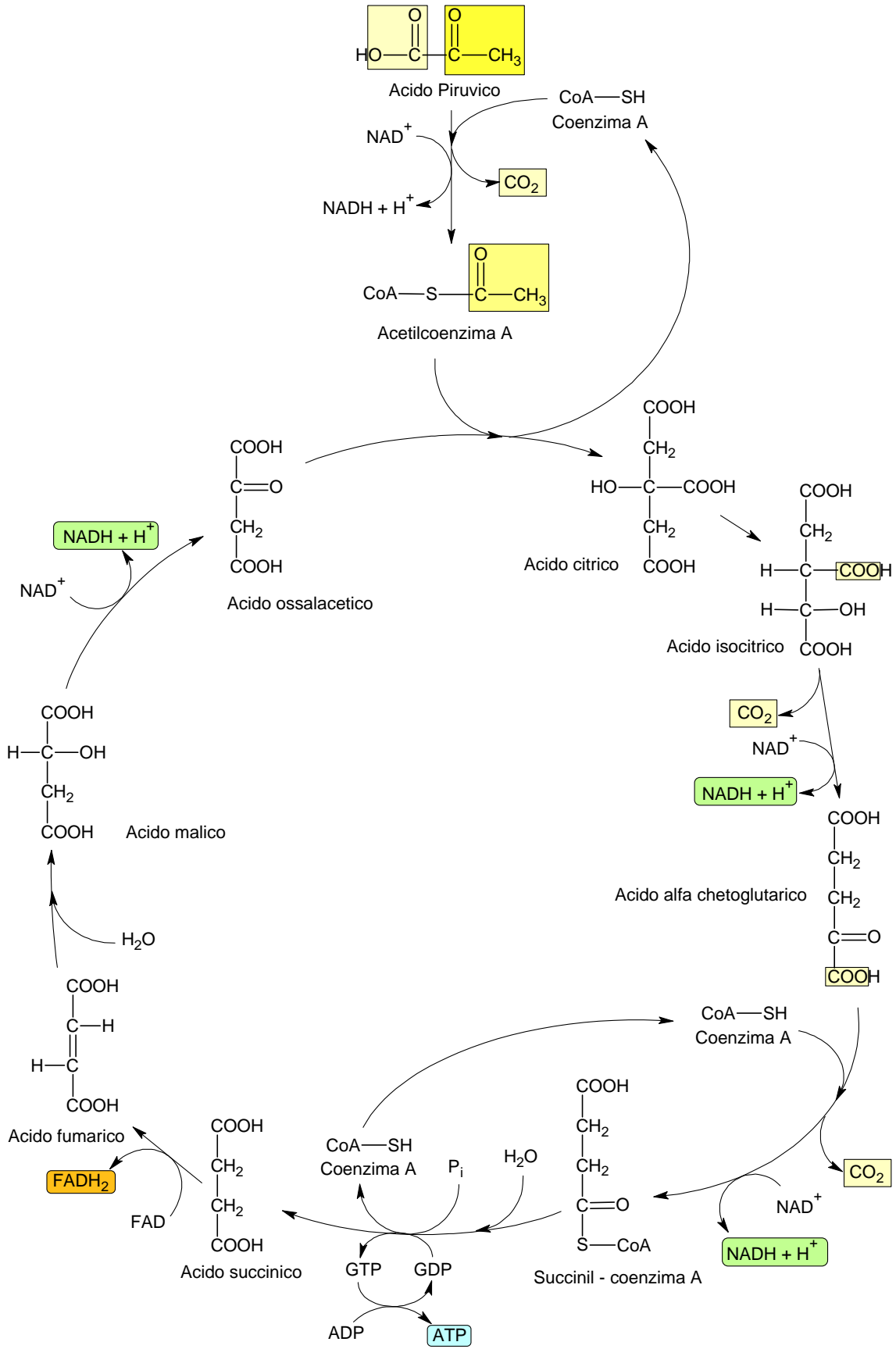
Il mediatore energetico GTP cede un gruppo fosfato alla molecola di ADP (adenossindifosfato) che si trasforma in ATP (adenossintrifosfato).

L'acido succinico (struttura di tipo C4) viene ossidato dal FAD (flavin-adeninodinucleotide) mediante deidrogenazione; FAD si riduce a  $\text{FADH}_2$ ; come prodotto si ottiene l'acido fumarico (struttura di tipo C4).

L'acido fumarico viene addizionato con acqua e si forma acido malico (struttura di tipo C4).

L'acido malico viene ossidato da  $\text{NAD}^+$  per deidrogenazione: si ottiene  $\text{NADH} + \text{H}^+$  e acido ossalacetico (struttura di tipo C4).

L'acido ossalacetico è il composto più ossidato, più povero di energia del ciclo di Krebs.



## Nota

Possiamo paragonare il ciclo di Krebs alla rampa in discesa, come la spira di una molla e fare i seguenti ragionamenti.

Se c'è ossigeno, in cima alla rampa arriva il gruppo acetile.

Questo attiva un "ascensore" che porta, in verticale, l'acido ossalacetico a legarsi proprio con il gruppo acetile.

Nella prima parte del ciclo vengono eliminate 2 molecole di  $\text{CO}_2$  e prodotte due molecole di NADH.

Nella fase intermedia viene prodotta una molecola di ATP.

Nella parte finale, vengono prodotte una molecola di  $\text{FADH}_2$  ed una di NADH.

Il ciclo di Krebs può continuare nella ripetizione, solo se c'è glucosio disponibile (o prodotti delle varie fasi della glicolisi) e ossigeno.

## DEMOLIZIONE DELLE PROTEINE

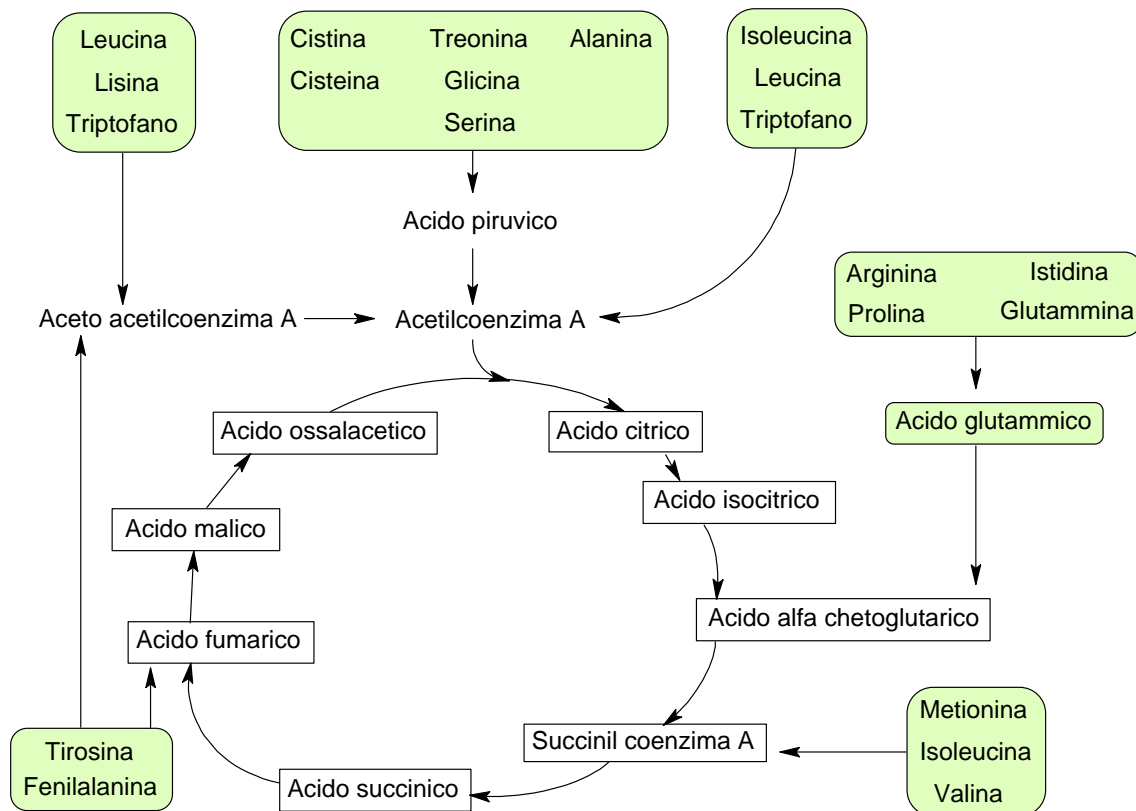
Le proteine, costituite da una o più catene di amminoacidi, svolgono soprattutto funzione plastica (strutturale) e/o funzione enzimatica (controllo delle reazioni biochimiche). In condizioni di necessità possono essere utilizzate per scopi energetici (come succede per i carboidrati): 1 grammo di proteina libera circa 4 kcal.

Durante le varie fasi della digestione delle proteine si separano i singoli amminoacidi. Gli amminoacidi singoli (che sono di venti tipi diversi) vengono poi degradati attraverso tre processi:

- **deaminazione:** eliminazione del gruppo amminico  $-NH_2$  sotto forma di ammoniaca  $NH_3$ ;
- **decarbossilazione:** eliminazione del gruppo carbossilico ( $-COOH$ ) con liberazione di anidride carbonica ( $CO_2$ );
- **transaminazione:** trasferimento di un gruppo amminico ( $-NH_2$ ) da un amminoacido ad un'altra sostanza, che diventa un nuovo amminoacido.

Tutti i composti ottenuti sono poi degradati ad acqua ( $H_2O$ ) ed anidride carbonica ( $CO_2$ ).

A questi, si aggiungono anche altri prodotti come: urea, acido urico, creatina, ammoniaca.



## OSSIDAZIONE DEI TRIGLICERIDI

Le molecole dei trigliceridi (oli e grassi) vengono scisse dagli enzimi digestivi in glicerina (o glicerolo) e acidi grassi. Si tratta di reazioni di idrolisi.

La glicerina viene trasformata in gliceraldeide 3-fosfato (o 3 fosfogliceraldeide), un importantissimo prodotto intermedio della glicolisi.

Gli acidi grassi si legano con il coenzima A (CoA-SH), trasformando l'ATP in AMP (adenosinmonofosfato): i due gruppi fosfato che vengono liberati assieme costituiscono il gruppo pirofosfato ( $P_iP_i$ ).

Così si attivano gli acidi grassi, che vengono poi ossidati in una serie di reazioni ( $\beta$  ossidazione).

### **Demolizione di un acido grasso saturo a catena lineare e con numero pari di atomi di carbonio.**

La molecola viene progressivamente demolita, separando due atomi di carbonio alla volta, a partire dall'atomo di carbonio in posizione 2, indicato con la lettera  $\beta$  (beta).

Per ogni molecola di acetilcoenzima A staccata, si ottengono:

- una molecola di  $FADH_2$ ;
- una molecola di  $NADH + H^+$ .

Poiché durante il processo di respirazione cellulare (fosforilazione ossidativa) si ottengono:

- 2 ATP da una molecola di  $FADH_2$ ;
- 3 ATP da una molecola di  $NADH + H^+$

**In totale si ottengono 5 molecole di ATP per ogni molecola di acetilcoenzima A prodotta per  $\beta$  ossidazione.**

### **Demolizione di un acido grasso saturo a catena lineare e con numero dispari di atomi di carbonio.**

Questo tipo di acido grasso viene demolito per  $\beta$  ossidazione fino ad ottenere un residuo con catena di tre atomi di carbonio. Due residui di questo tipo formano poi una catena a sei atomi di carbonio: questa viene poi demolita per ottenere tre molecole di acetilcoenzima A.

**Demolizione di acidi grassi insaturi (presenti negli oli):** per la loro ossidazione sono richiesti altri due enzimi specifici. Qui non viene trattato questo argomento.

### **Esempio: demolizione dell'acido palmitico, contenente 16 atomi di carbonio.**

Dall'ossidazione si ottengono:

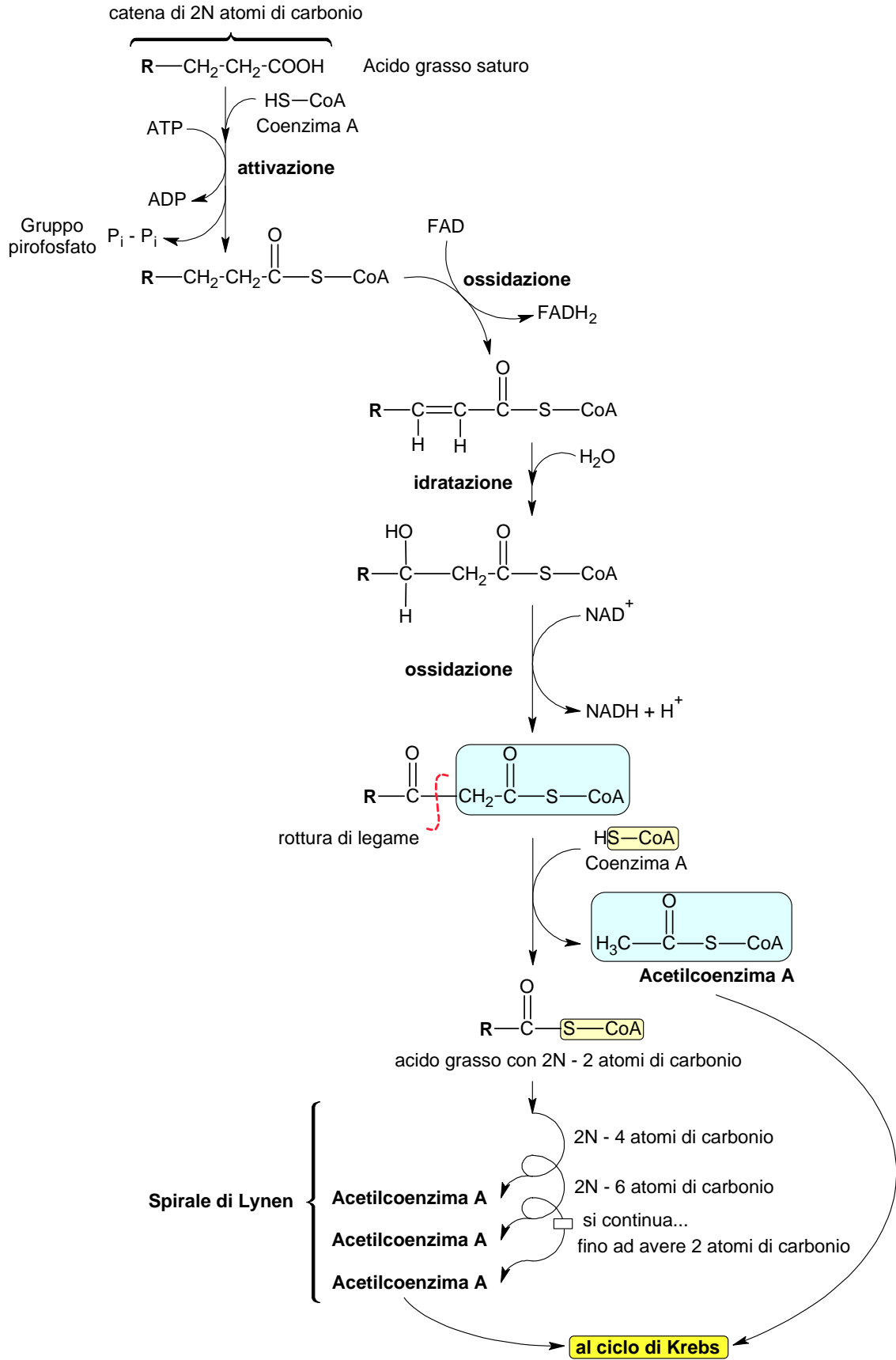
- 8 molecole di acetilcoenzima A;
- 7 molecole di  $FADH_2$ ;
- 7 molecole di  $NADH + H^+$

**da cui si ottengono ben 129 molecole di ATP.**

E' da notare che:

- la  $\beta$  ossidazione di 1 grammo di grasso fornisce circa 9 kcal;
- l'ossidazione di 1 grammo di monosaccaride come il glucosio fornisce circa 4 kcal.

Osservazione importante: è **molto difficile perdere grasso corporeo in eccesso**. Per liberarcene dovremmo consumare una quantità di energia paragonabile a quella immagazzinata sotto forma di lipidi.



## CATENA DI TRASPORTO DEGLI ELETTRONI

E' l'ultima fase della respirazione cellulare: viene detta anche fosforilazione ossidativa perché, grazie alla presenza di  $O_2$ , si ottengono molecole di ATP (adenosintrifosfato).

I composti ridotti NAD e  $FADH_2$  subiscono delle ossidazioni, trasformandosi rispettivamente in  $NAD^+$  e FAD.

- $NADH + H^+ \rightarrow NAD^+ + 2H^+ + 2e^-$
- $FADH_2 \rightarrow FAD + 2H^+ + 2e^-$

Gli elettroni liberati e gli ioni  $H^+$  seguono due strade diverse, per poi reagire con  $O_2$  nello stadio finale: il prodotto è acqua  $H_2O$ .

Gli elettroni possono essere paragonati all'acqua che scorre in un torrenti, lungo il quale si trovano, a diverse quote, tre "mulini" particolari.

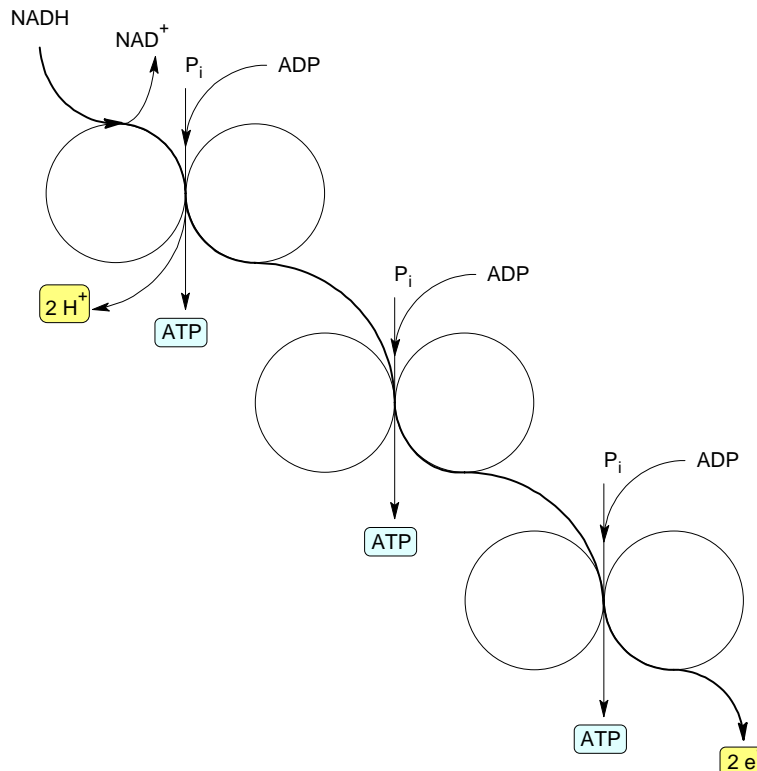
In ogni "mulino", che possiamo immaginare costituito da due rulli (come quelli per fare la pasta sfoglia), si ha l'entrata di fosfato inorganico ( $P_i$ ) e di una molecola di ADP: la reazione di sintesi porta alla formazione di una molecola di ATP, la moneta di scambio energetico comune a tutti gli esseri viventi.

La molecola di NADH entra ad un livello elevato; gli elettroni attraversano tutti e tre i "mulini", producendo tre molecole di ATP.

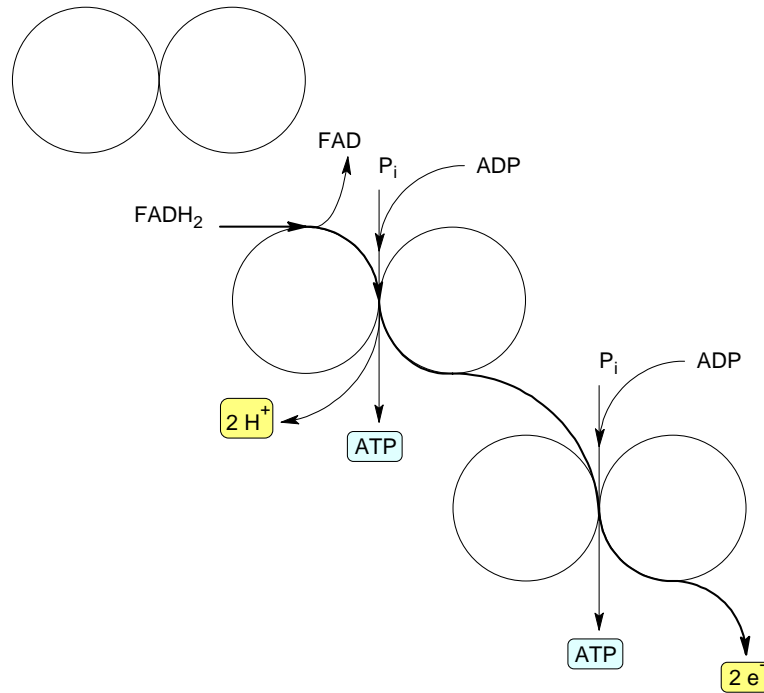
La molecola di  $FADH_2$  entra invece ad un livello più basso; gli elettroni attraversano solo due "mulini", producendo due molecole di ATP.

Il  $NAD^+$  (forma ossidata) tornerà a caricarsi di ioni  $H^+$  e di elettroni o nella seconda parte della glicolisi o nel ciclo di Krebs.

Il FAD tornerà a caricarsi di ioni  $H^+$  e di elettroni nella parte medio-finale del ciclo di Krebs.





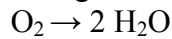


Come si diceva, alla fine del loro percorso, gli ioni idrogeno e gli elettroni reagiscono con l'ossigeno  $O_2$  per produrre acqua.

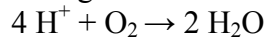
Si tratta di una semireazione di riduzione, che deve comunque essere bilanciata.

Vediamo come.

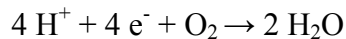
Con una molecola di ossigeno  $O_2$  si devono ottenere due molecole d'acqua, perché ogni molecola d'acqua ha in sé un atomo di ossigeno:



Per fare questo, servono 4 atomi di idrogeno considerati come ioni  $H^+$ :

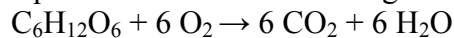


Ricordando che le molecole di ossigeno e le molecole di acqua sono elettricamente neutre, è necessario aggiungere anche 4 elettroni a sinistra della freccia:



Come si vede una molecola di ossigeno  $O_2$  produce due molecole di acqua  $H_2O$ .

Esaminando la reazione complessiva di ossidazione del glucosio:



si osserva che 6 molecole di ossigeno  $O_2$  producono 6 molecole di acqua  $H_2O$ .

Ciò significa che una molecola di ossigeno  $O_2$  produce una molecola di acqua  $H_2O$ .

Come si può spiegare questa apparente contraddizione con quanto detto poc'anzi e cioè che "una molecola di ossigeno  $O_2$  produce due molecole di acqua  $H_2O$ "?

Semplicemente aggiungendo 6 molecole di acqua  $H_2O$  a destra e a sinistra della freccia:



**Bilancio energetico della glicolisi, del ciclo di Krebs e della catena di trasporto degli elettroni.**

Nella prima parte della glicolisi sono state impiegate due molecole di ATP.

Nella seconda parte della glicolisi, si sono ottenute due molecole di NADH e due molecole di ATP.

Nella decarbossilazione e ossidazione dell'acido piruvico, per ottenere il gruppo acetile, si sono ottenute due molecole di NADH.

Nel corso del ciclo di Krebs si ottengono: 2 x 3 molecole di NADH; 2 x 1 molecole di ATP; 2 x 1 molecole di FADH<sub>2</sub>.

Poiché ogni molecola di NADH produce 3 molecole di ATP e ogni molecola di FADH<sub>2</sub> produce 2 molecole di ATP, si può schematizzare il **bilancio energetico teorico** come nella seguente tabella.

	entrata	uscita	ATP prodotte
Innesco della glicolisi	(-) 2 ATP		
Seconda parte della glicolisi		2 NADH	6 ATP
		2 ATP	2 ATP
Ossidazione dell'acido piruvico		2 NADH	6 ATP
Ciclo di Krebs		4 NADH	12 ATP
		2 ATP	2 ATP
		2 FADH <sub>2</sub>	4 ATP
		2 NADH	6 ATP
		Totale netto	<b>36 ATP</b>