

# METABOLISMO AEROBICO METABOLISMO OSSIDATIVO

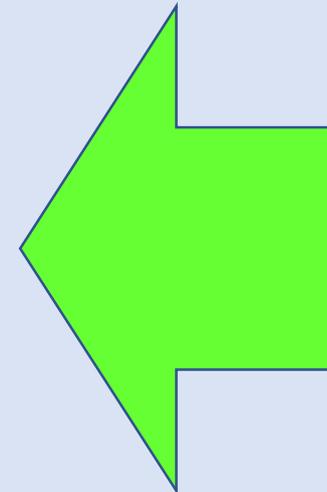
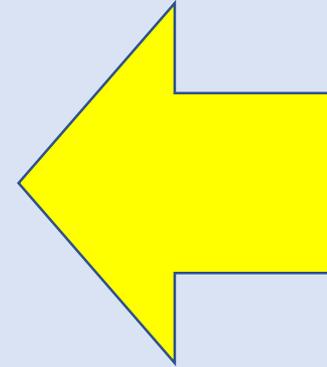
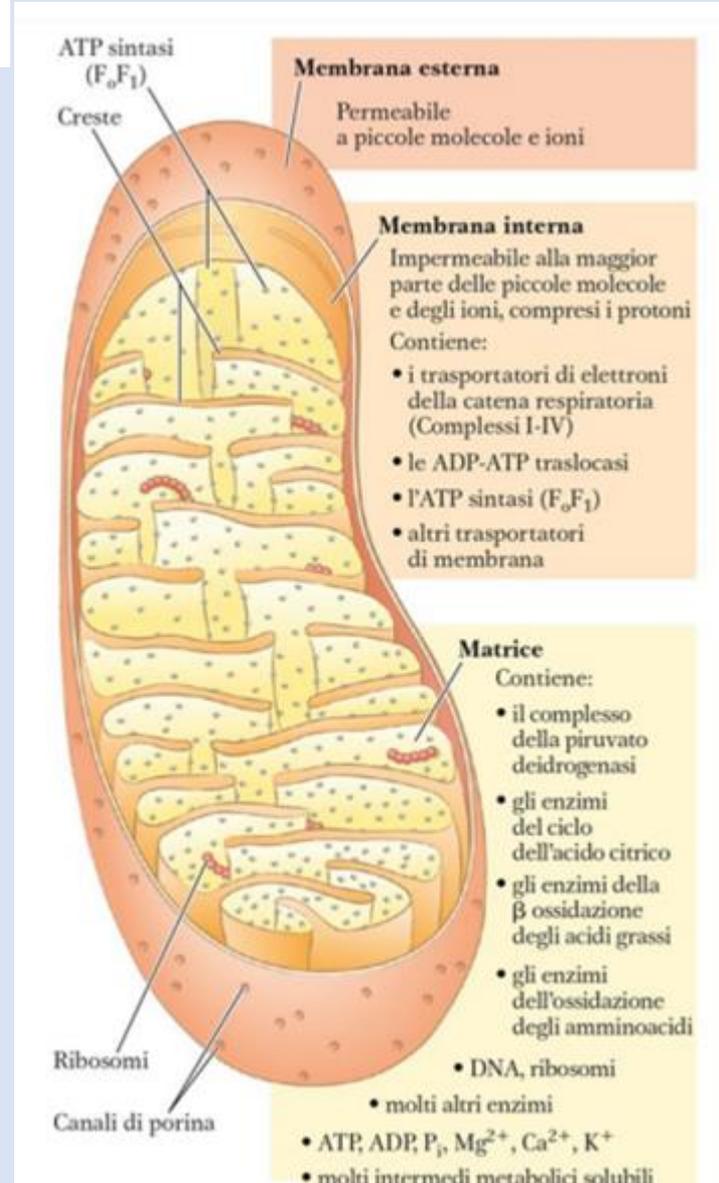


# **AVVERTENZA SULL'USO DEL MATERIALE DIDATTICO FORNITO AGLI STUDENTI**

**L'uso del materiale didattico fornito agli studenti deve essere considerato strettamente personale e la sua distribuzione deve essere in ogni caso autorizzata dal docente**

# I MITOCONDRI RAPPRESENTANO LA CENTRALE ENERGETICA DELLA CELLULA

Nel mitocondrio si svolgono la maggior parte delle reazioni **ossidative**, attraverso le quali la cellula ottiene **l'energia** (ATP) indispensabile alle proprie esigenze vitali. La produzione di energia è associata al consumo di **O<sub>2</sub>**.

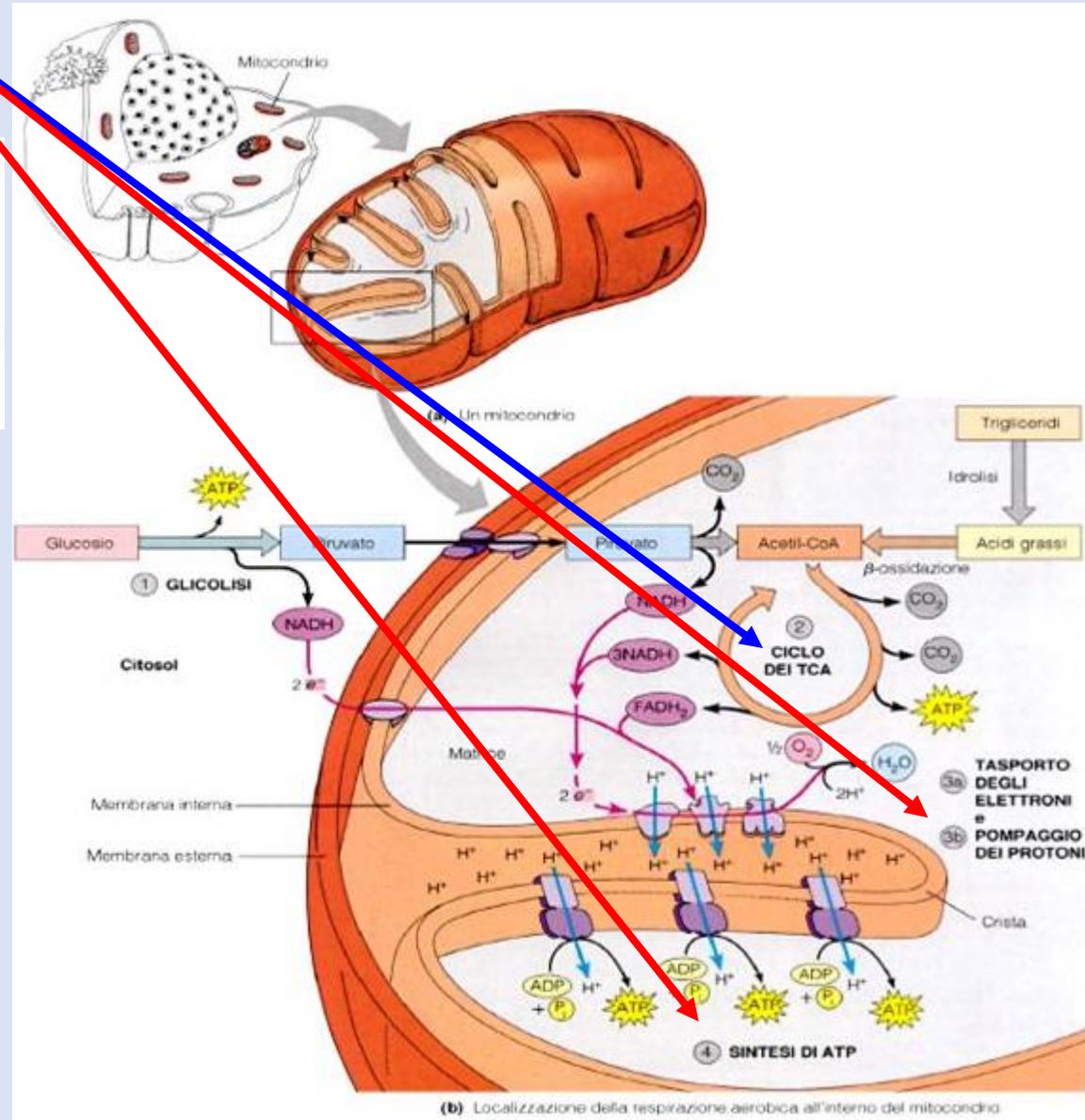


## Modello di mitocondrio e schema generale della respirazione cellulare

I mitocondri sono considerati **organuli semiautonmi**, perché riescono a sintetizzare molte delle proteine di cui necessitano; inoltre, vanno incontro ad un'autoreplicazione mediante un processo che è analogo alla divisione dei batteri.

La respirazione aerobica ha luogo nella **matrice** e nella **membrana mitocondriale interna** e questo processo è incrementato dalla grande superficie offerta dalle creste. La matrice contiene la maggior parte degli **enzimi** coinvolti nell'ossidazione degli acidi grassi e gli enzimi degli acidi tricarbossilici (ciclo di Krebs); sono inoltre presenti **DNA mitocondriale** ed **RNA**. La **membrana mitocondriale interna** contiene i **citocromi**, le molecole di trasporto della catena di trasporto degli elettroni e gli enzimi coinvolti nella produzione di ATP.

## LA RESPIRAZIONE CELLULARE

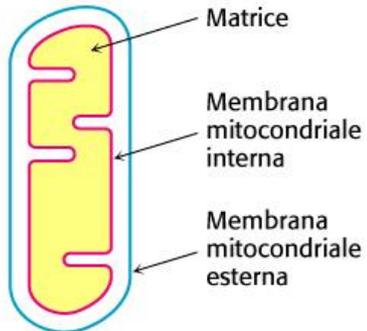
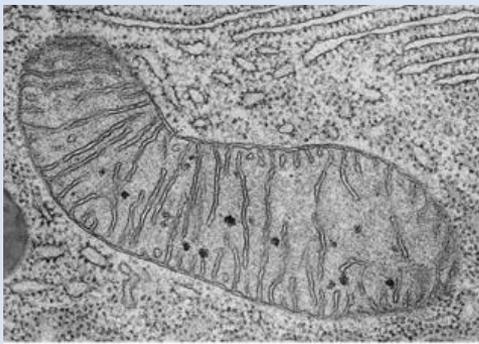


(b) Localizzazione della respirazione aerobica all'interno del mitocondrio



**Ciclo di Krebs**  
**Ciclo dell'acido citrico**  
**Ciclo degli acidi**  
**tricarbossilici (TCA)**

**Sir Hans Adolf Krebs**  
**(1900–1981)**

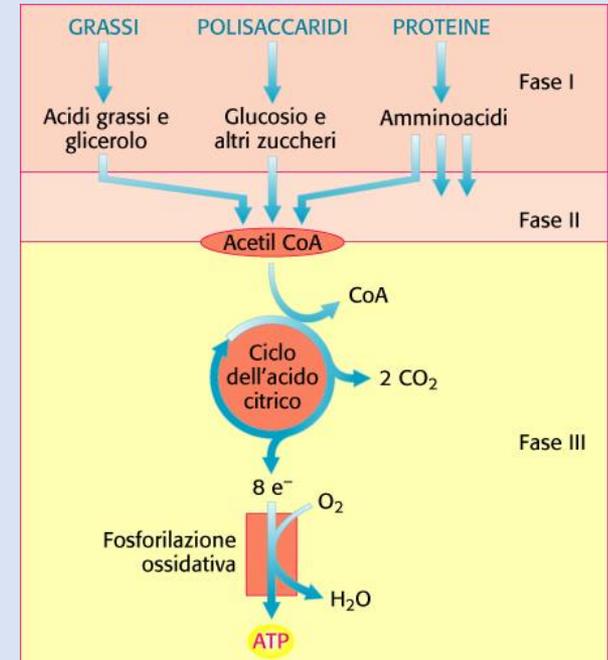


È un processo ossidativo che ha un ruolo centrale nel metabolismo energetico delle cellule eucariotiche.

Avviene nella matrice mitocondriale.

È alimentato soprattutto dall'Acetil-CoA, metabolita chiave prodotto dal catabolismo ossidativo dei carboidrati, dei lipidi, di vari amminoacidi.

- E' quindi il catabolismo dell'**acetil-CoA**
- Le reazioni si ripetono ciclicamente, catalizzate da enzimi localizzati nella matrice.
- Questa via metabolica produce **direttamente** solo una piccola quantità di energia (1 molecola di **GTP**), ma grandi quantità di **coenzimi ridotti (FADH<sub>2</sub> e NADH; potere riducente)**, che alimentano la catena respiratoria in cui si forma la maggior parte dell'ATP necessario alla cellula.



L'energia rilasciata dalle ossidazioni del ciclo di Krebs è conservata come potere riducente (NADH e FADH<sub>2</sub>) che alimenta la sintesi di **ATP mitocondriale.**

# Ciclo di Krebs

## Centro biochimico della cellula

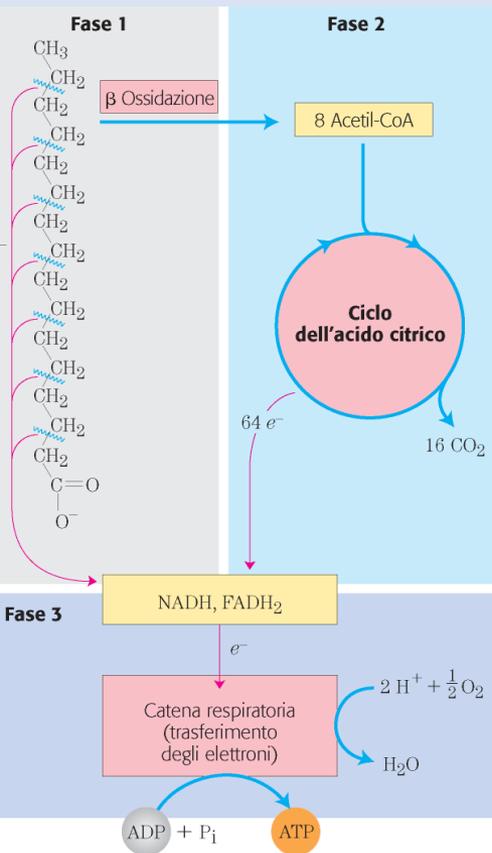
### 1. **Ossida i combustibili (via catabolica)**

- Via comune finale per l'ossidazione delle sostanze nutrienti: amminoacidi, acidi grassi e carboidrati
- La maggior parte delle sostanze nutrienti entrano nel ciclo come **acetil-CoA**

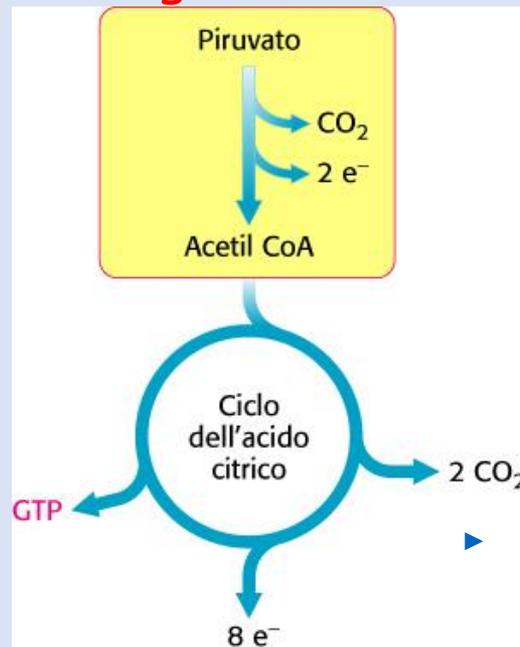
### 2. **Fonte di precursori per la biosintesi (via anabolica)**

# Collegamento tra ciclo di Krebs e metaboliti energetici

## Ossidazione degli acidi grassi

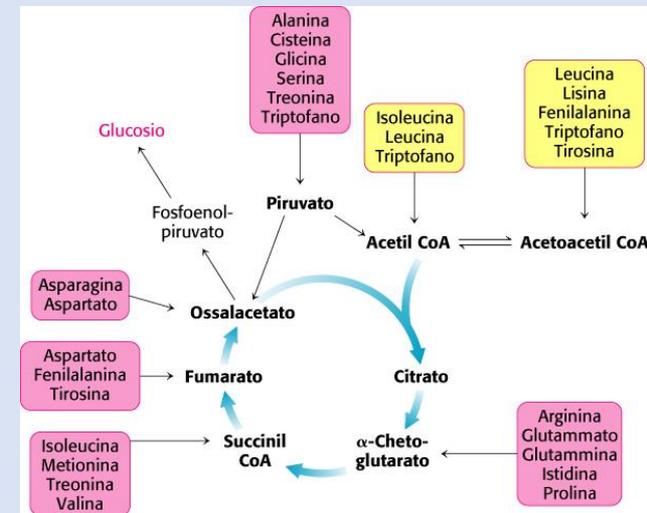


## Ossidazione del glucosio



► La sintesi di acetil CoA dal piruvato è una tappa irreversibile essenziale per il catabolismo aerobico del glucosio

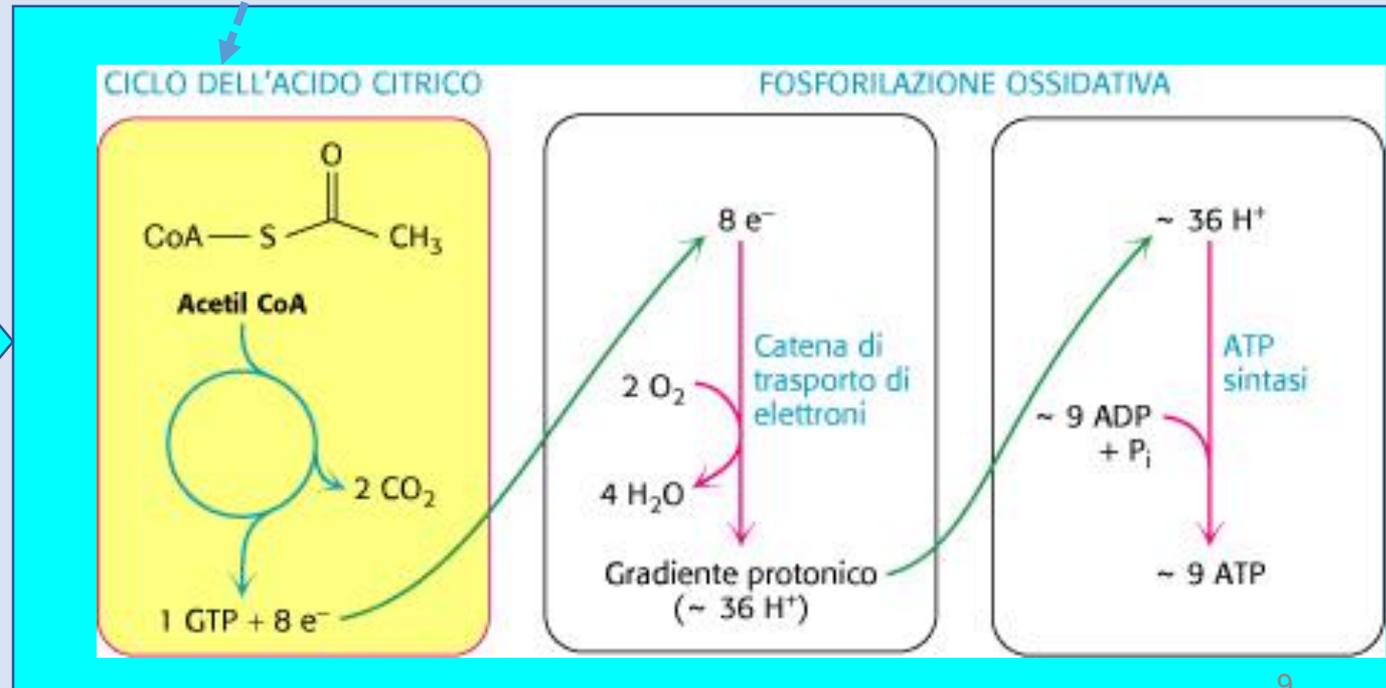
## Ossidazione degli amminoacidi



Il ciclo di Krebs costituisce il **1° stadio** della respirazione cellulare, via metabolica che prevede rimozione di **elettroni** ad alta **energia** dai metaboliti **energetici** carboniosi.

Questi **elettroni**, nella via metabolica successiva detta **fosforilazione ossidativa (2° stadio)**, trasformeranno (ridurranno)  $O_2$  ad  $H_2O$  e si avrà la sintesi di ATP

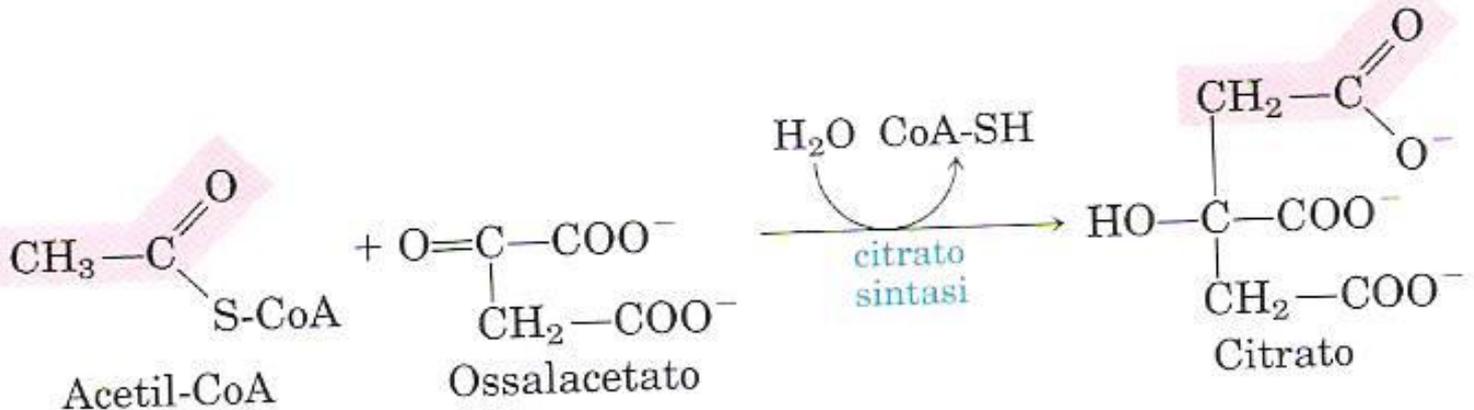
RESPIRAZIONE  
CELLULARE:  
Ciclo di Krebs +  
Fosforilazione  
ossidativa



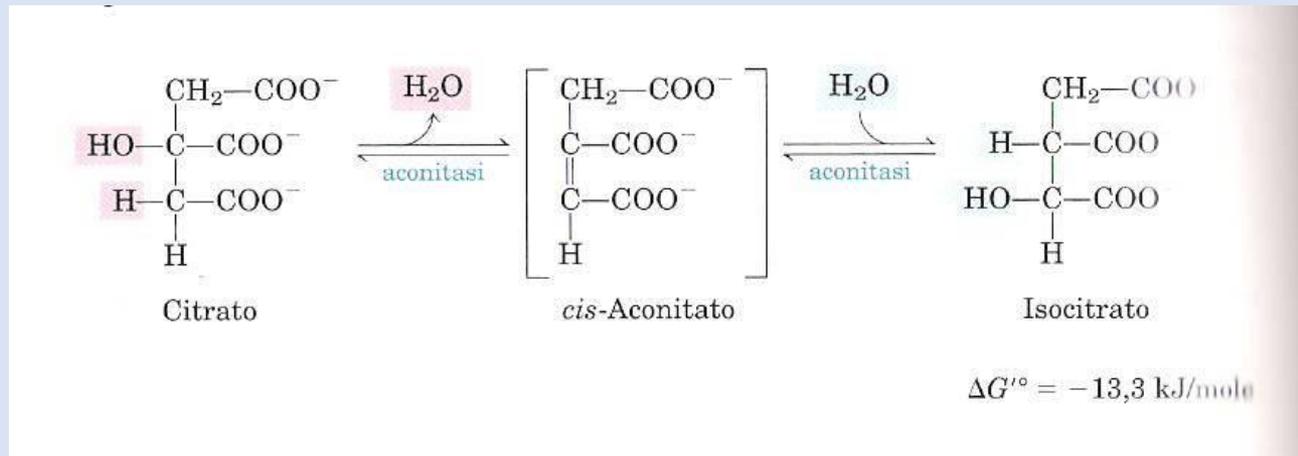
# Il ciclo di Krebs consiste in 8 reazioni sequenziali

**1° reazione:** formazione del citrato

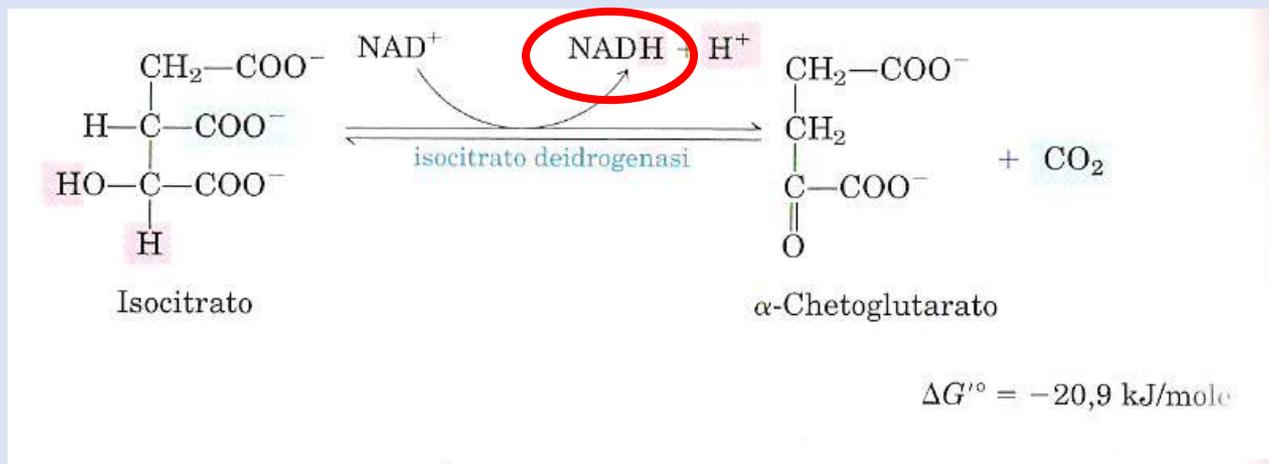
Reazione di condensazione



## 2ª reazione: formazione dell'isocitrato attraverso il cis-aconitato



## 3ª reazione: ossidazione dell'isocitrato ad $\alpha$ -chetoglutarato (decarbossilazione ossidativa)

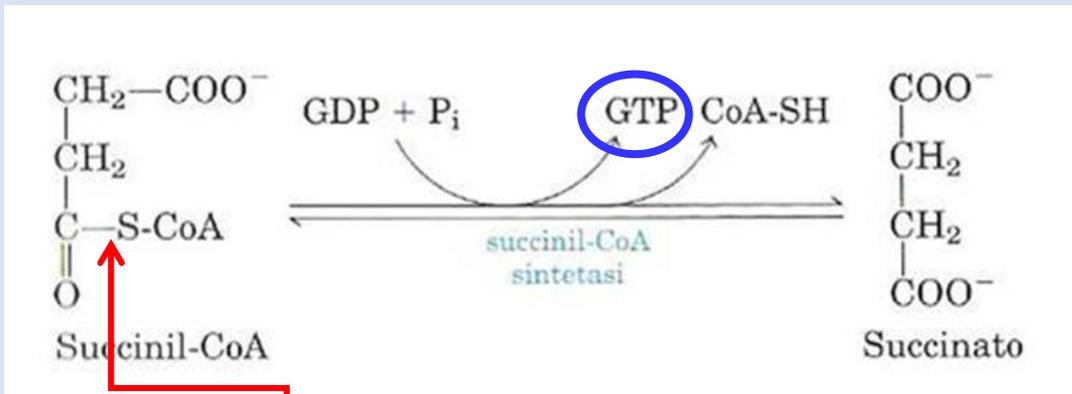


## 4ª reazione: ossidazione dell'α-chetoglutarato a succinil-CoA e CO<sub>2</sub>



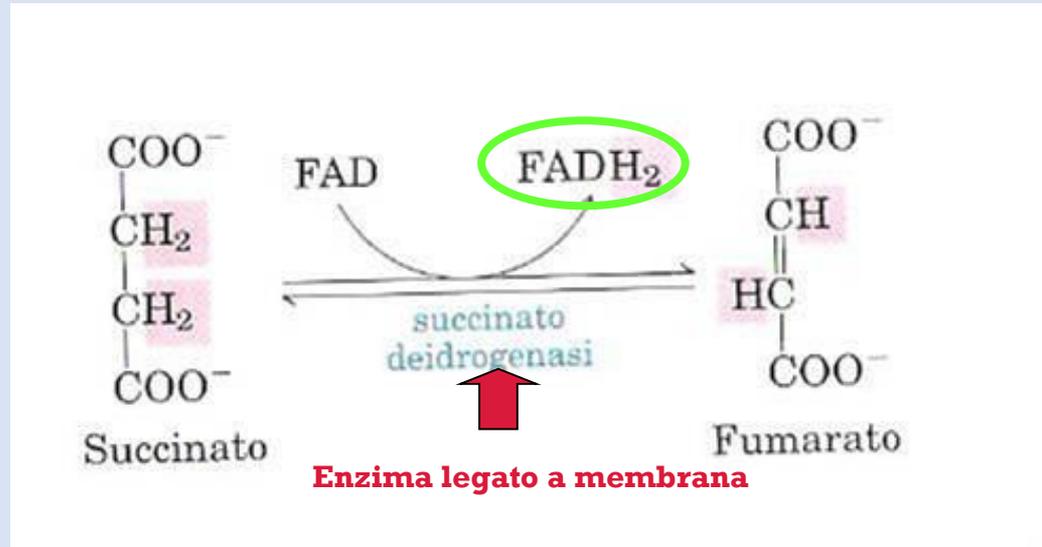
•5ª reazione: conversione del succinil-CoA a succinato.

•Energia rilasciata dalla rottura del legame tioestere viene conservata nella molecola di GTP che si forma

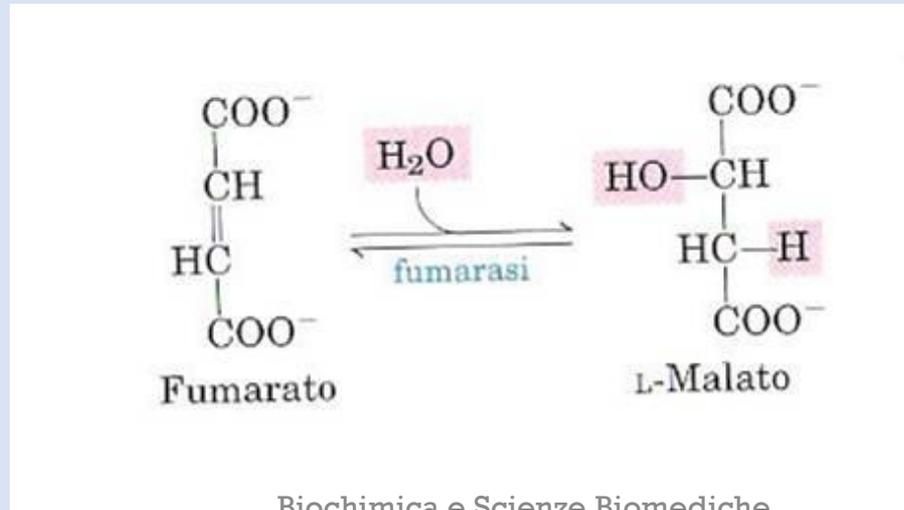


legame tioestere

## 6ª reazione: ossidazione del succinato a fumarato



## 7ª reazione: idratazione del fumarato. Si forma malato



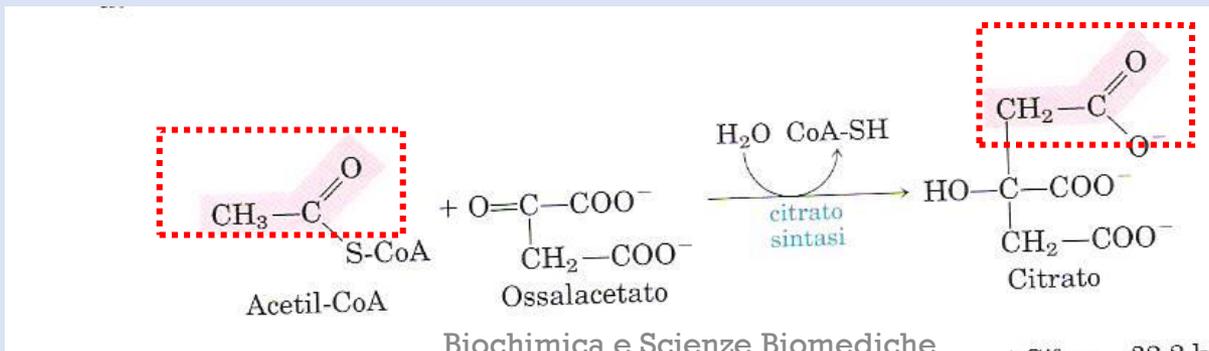
## 8ª reazione: ossidazione del malato ad ossalacetato

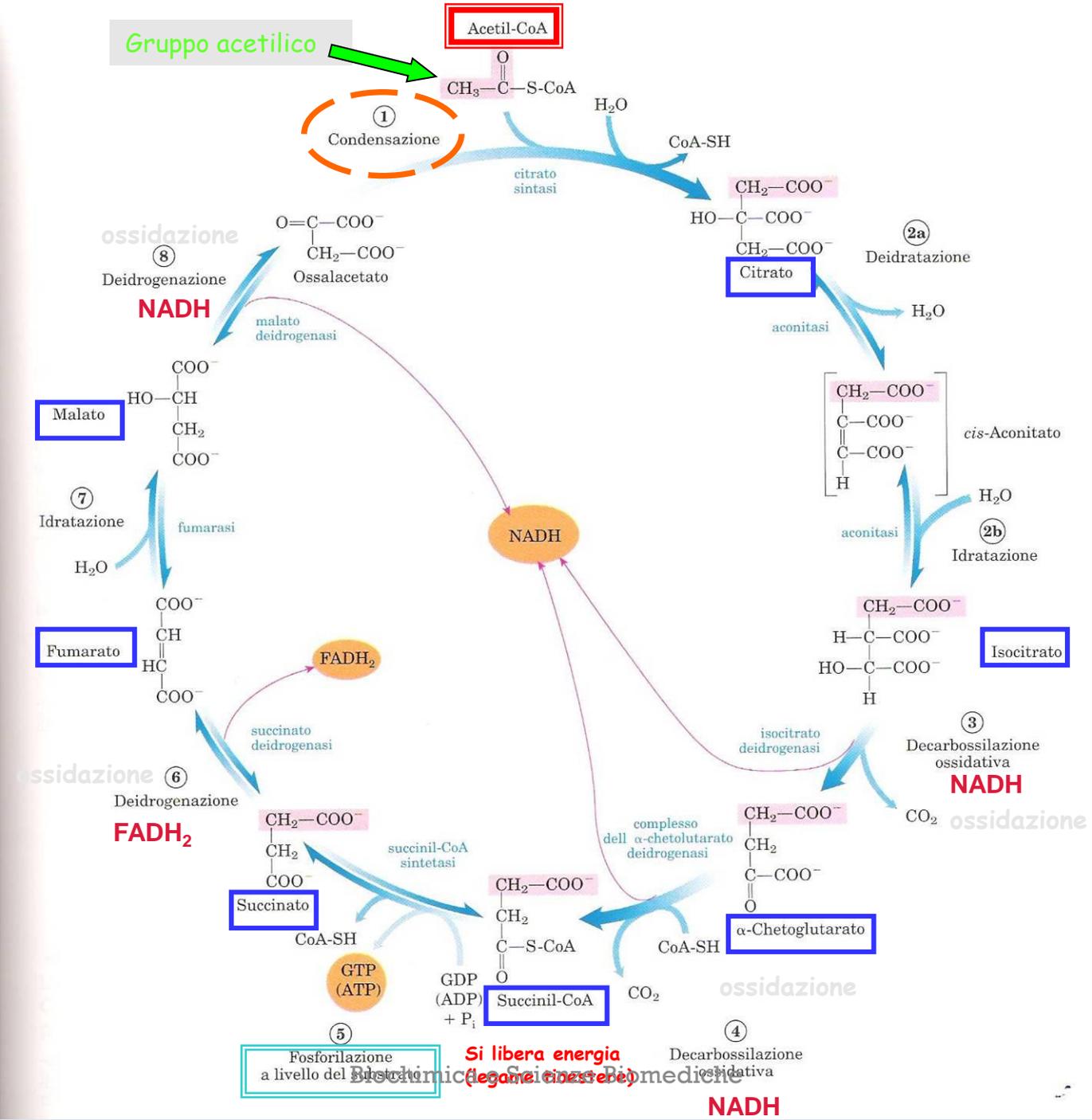


Ricomincia il ciclo:

1ª reazione: reazione di condensazione

acetil-CoA + ossalacetato -----> **CITRATO**

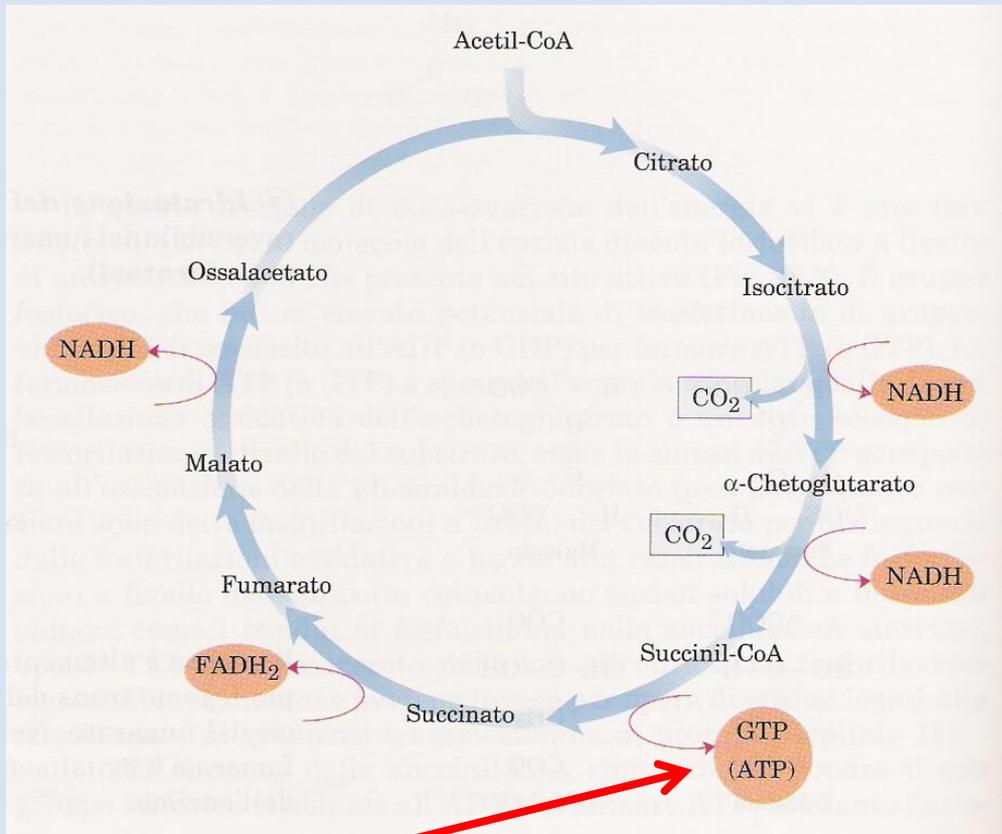




**Si libera energia**  
(legame cinetico)

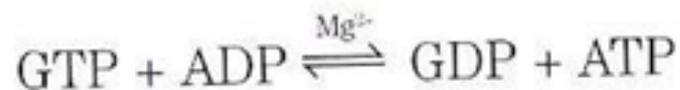
Biochimica (legame cinetico) Scienze Biomediche

# Resa energetica ciclo di Krebs

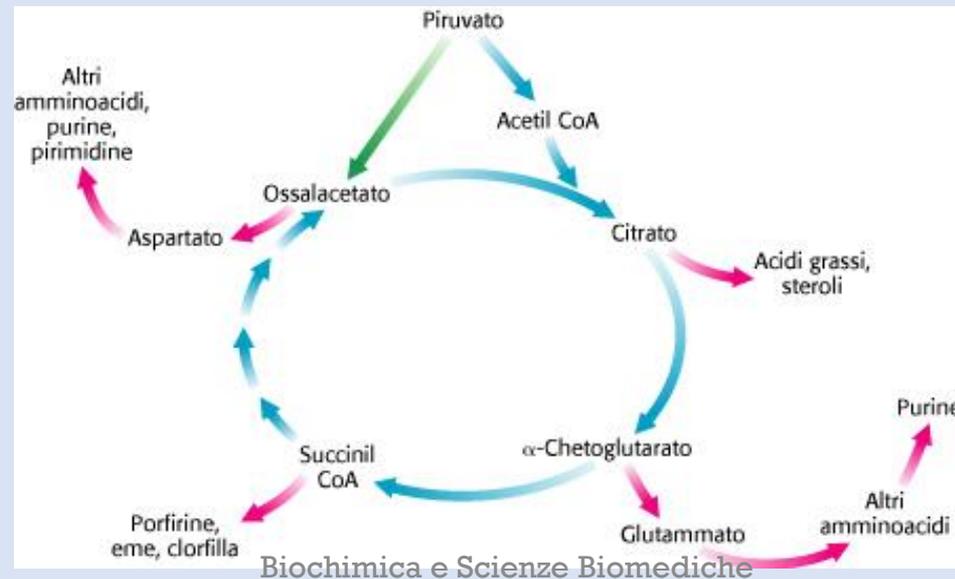


- Il ciclo di Krebs ossida unità bicarboniose, producendo 2 molecole di **CO<sub>2</sub>**, 1 di **GTP** ed **elettroni** ad alta **energia** sotto forma di **3 NADH** e **1 FADH<sub>2</sub>**
- Sono presenti cioè 4 reazioni di ossidazione che determinano un flusso di e<sup>-</sup> captati dai coenzimi che entrano nella catena respiratoria dove si ha la sintesi di numerose molecole di ATP

- Il **GTP** invece può donare il suo gruppo P terminale direttamente all'ADP per formare ATP (reazione reversibile della nucleoside difosfato chinasi)



- Negli organismi aerobici, il ciclo di Krebs è considerata anche una via **anfibolica, cioè è coinvolto** sia in **processi anabolici che catabolici**:
- Interviene infatti:
  - sia nel **catabolismo** di carboidrati, acidi grassi, aminoacidi
  - sia nella **sintesi** di **precursori** di numerose vie biosintetiche
- Le **reazioni** del ciclo di Krebs portano alla formazione **sia** di coenzimi ridotti, **sia** di **molecole intermedie**, che possono essere utilizzate anche in altre vie metaboliche:



# Reazioni anaplerotiche

Gli intermedi **sottratti** dal ciclo (perché utilizzati come precursori in altre vie) possono essere rimpiazzati mediante altre reazioni dette reazioni di **riempimento o anaplerotiche**

*Le reazioni anaplerotiche riforniscono il ciclo di Krebs di intermedi.*

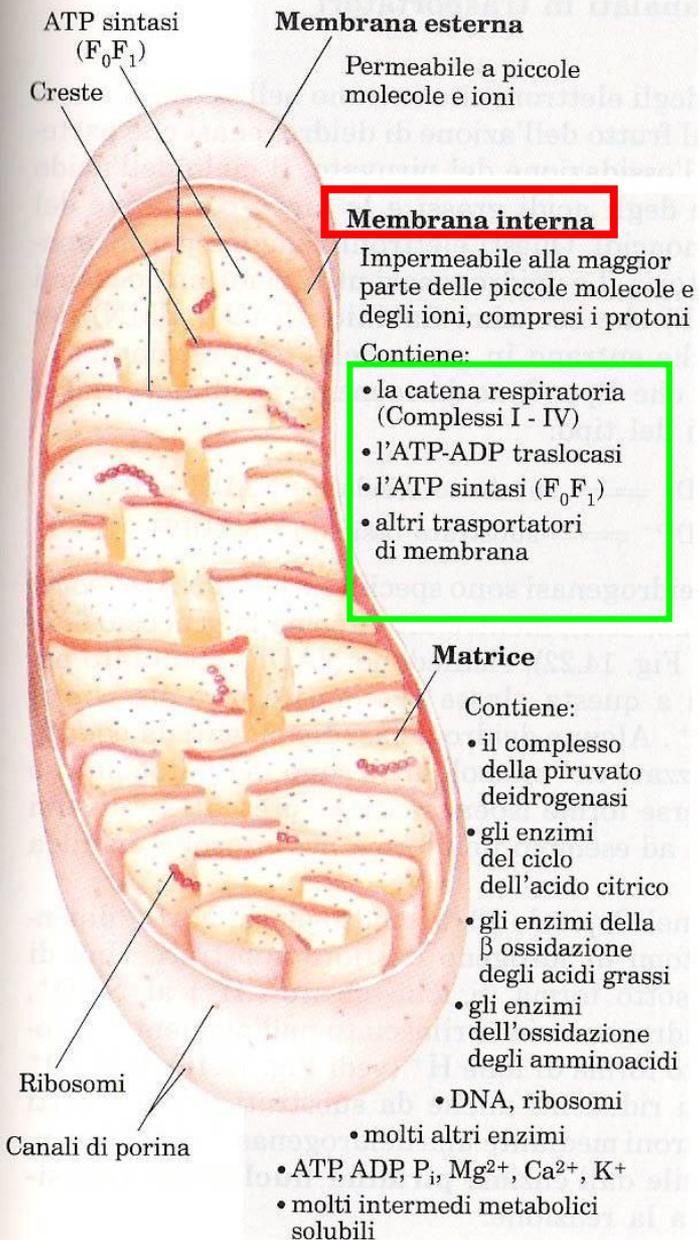
*In condizioni normali, esiste un bilanciamento quasi perfetto tra le reazioni che rimuovono intermedi dal ciclo e quelle che invece lo riforniscono, e quindi la concentrazione di questi composti resta costante.*

# Riassumendo, il ciclo di Krebs:

- Serie ciclica di reazioni (8) che avvengono in **aerobiosi**
- Ossidazione dell'AcetilCoa a  $\text{CO}_2$
- Generazione di **equivalenti riducenti** NADH e  $\text{FADH}_2$
- Produzione di energia GTP = ATP
- Rigenerazione di ossalacetato
- **Via anfibolica:** sintesi di molecole che sono il punto punto di partenza di alcune vie anaboliche

A detailed illustration of a cell containing numerous mitochondria. The mitochondria are depicted with their characteristic bean-like shape and internal folds (cristae). The central mitochondrion is larger and more prominent, showing a complex internal structure. The surrounding mitochondria are smaller and scattered throughout the cell. The overall color palette is dominated by shades of blue, purple, and red, giving the image a scientific and somewhat ethereal appearance.

# Fosforilazione ossidativa



**E.Kennedy, A.Lehninger (1948): nelle cellule eucariotiche la fosforilazione avviene nei mitocondri. Questa scoperta rappresenta storicamente l'inizio degli studi sulla trasduzione energetica nei sistemi biologici**



Albert L. Lehninger  
1917-1986

**I mitocondri derivano probabilmente da batteri aerobici, contenenti già la fosforilazione ossidativa, entrati in rapporto simbiotico con cellule anaerobiche primitive di eucarioti**

**Figura 18.1. Anatomia biochimica di un mitocondrio.** Le involuzioni (creste) della membrana interna ne aumentano considerevolmente l'area superficiale. La membrana interna di un singolo mitocondrio di fegato può avere anche più di 10000 gruppi di trasportatori di elettroni (catene respiratorie) e di molecole di ATP sintasi, distribuite su tutta la superficie della membrana interna. I mitocondri di cuore, che hanno ancora più creste e quindi un'area superficiale della membrana interna più grande, contengono una quantità tre volte maggiore di trasportatori di elettroni, rispetto al fegato. I coenzimi e gli intermedi dei mitocondri sono fisicamente separati da quelli del citosol. I mitocondri delle piante, degli invertebrati e degli eucarioti microbionici sono simili a quello mostrato nella figura, anche se possono presentare differenze nella dimensione, forma e gradi di ripiegamento della membrana interna.

La fosforilazione ossidativa è un processo biochimico cellulare fondamentale e ubiquitario per la produzione di energia tramite la sintesi di ATP

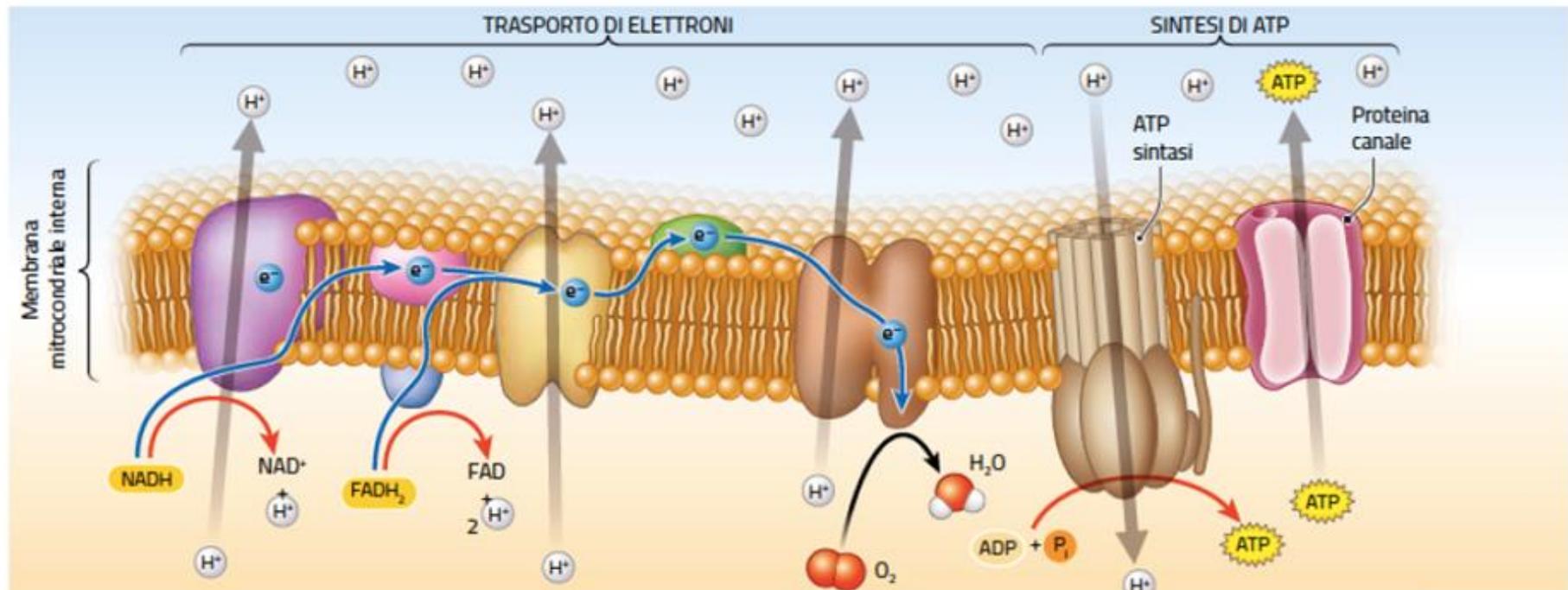
Tale processo, negli eucarioti avviene a livello della **membrana interna** mitocondriale, nei procarioti presso la **membrana cellulare**.

La **fosforilazione ossidativa** è costituita da un insieme di reazioni che avvengono nei mitocondri e hanno lo scopo di produrre ATP (**fosforilazione**) sfruttando la reazione di **ossidazione** mediata da  $O_2$  (**ossidativa**) dei **coenzimi ridotti NADH e  $FADH_2$**  che sono stati generati (ad esempio dalla glicolisi, dalla beta ossidazione, dal ciclo di Krebs).

**È formata da due fasi:**

1. **Catena di trasporto degli elettroni:** in questo processo gli elettroni trasportati da NADH e  $FADH_2$  vengono ceduti alla catena enzimatica della membrana **interna** dei mitocondri generando un **gradiente protonico**
2. **Sintesi di ATP** tramite fosforilazione di ADP da parte dell'enzima ATP sintasi

La **fosforilazione ossidativa** avviene sulla membrana interna dei mitocondri, dove il NADH e il FADH<sub>2</sub> cedono i propri elettroni alla **catena respiratoria mitocondriale**.



Madava et al, *La nuova biologia.blu* – © Zanichelli 2020

ZANICHELLI

# FOSFORILAZIONE OSSIDATIVA

Si svolge nei mitocondri, a livello della membrana interna, e comprende i seguenti eventi:

**1**

Il NADH e il FADH<sub>2</sub> prodotti durante il ciclo dell'acido citrico e le altre vie metaboliche ossidative (glicolisi, ossidazione del piruvato, degradazione degli acidi grassi ecc) vengono riossidati attraverso la catena di trasporto degli elettroni presente nella membrana mitocondriale interna

**2**

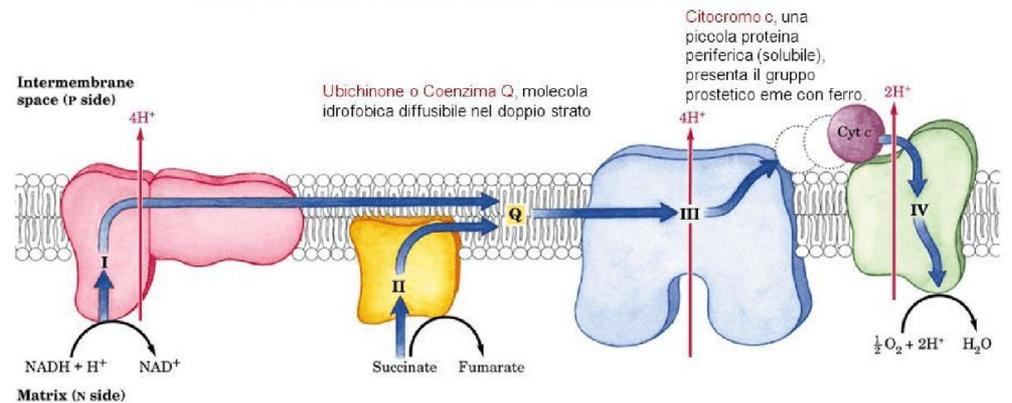
Il trasferimento degli elettroni passa attraverso più di 10 centri redox per poi arrivare all'ossigeno molecolare che così viene ridotto ad acqua

**3**

Durante il trasferimento degli elettroni viene generato un gradiente di protoni tra l'interno del mitocondrio (matrice) e lo spazio tra la membrana esterna e quella interna (spazio intermembrana). L'energia associata a questo gradiente viene poi utilizzata per la produzione di ATP (processi accoppiati)

Gli elettroni si spostano lungo la catena di trasporto: una serie di complessi proteici della membrana mitocondriale interna.

## I) CATENA DI TRASPORTO DEGLI ELETTRONI



**Complesso I**  
**NADH**  
**DEIDROGENASI**  
 trasferisce elettroni dal NADH al **Coenzima Q**

**Complesso II**  
**SUCCINATO**  
**DEIDROGENASI**  
 trasferisce elettroni dal **FADH<sub>2</sub>** al Coenzima Q

**Complesso III**  
**UBICHINONE**  
**CITOCROMO C**  
**REDUTTASI**  
 trasferisce elettroni dal Coenzima Q al **citocromo c**

**Complesso IV**  
**CITOCROMO**  
**OSSIDASI**  
 trasferisce elettroni dal citocromo c all'**O<sub>2</sub>**

# Meccanismo della ATP sintasi

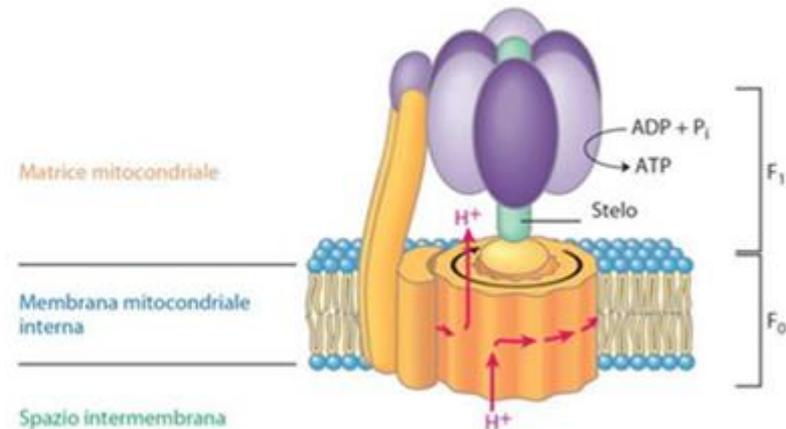
L'ATP sintasi catalizza la sintesi dell'ATP.

E' costituita da due subunità:  $F_1$  e  $F_0$ .

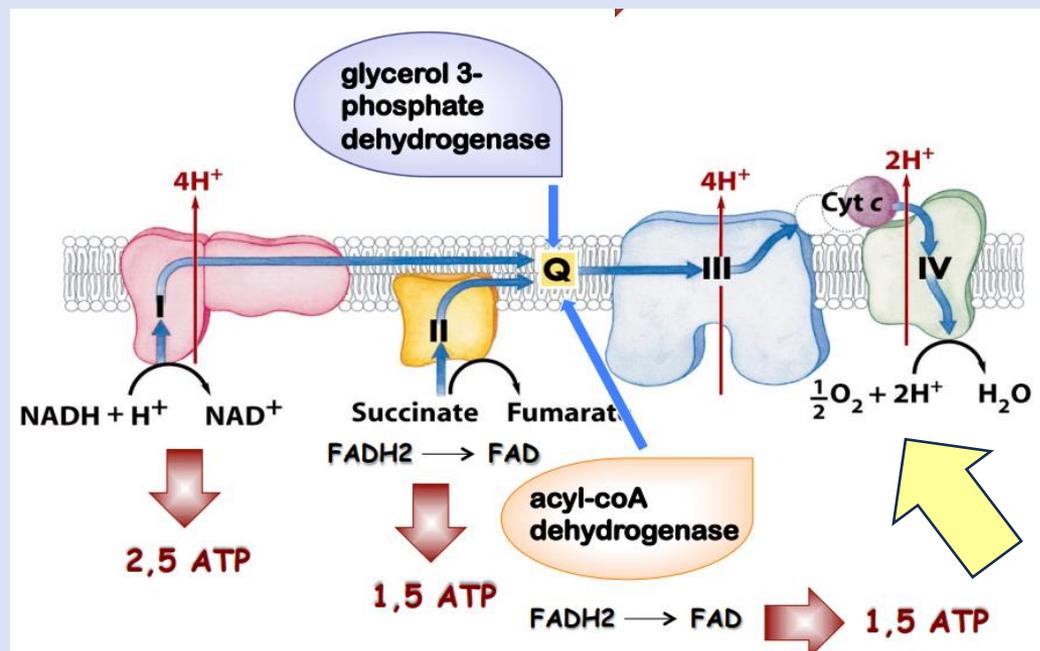
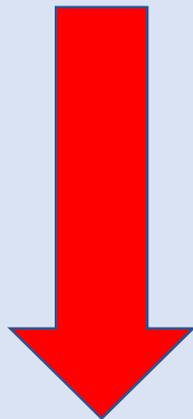
Questo enzima viene anche definito  $F_1$ - $F_0$  ATPasi.

$F_1$  e  $F_0$  sono due **unità funzionali separabili**.

Il movimento si trasmette alle proteine della testa (**subunità  $F_1$** ) che sporge verso la matrice e dove ha sede la sintesi di ATP a partire da ADP e  $P_i$ , generando **acqua**.

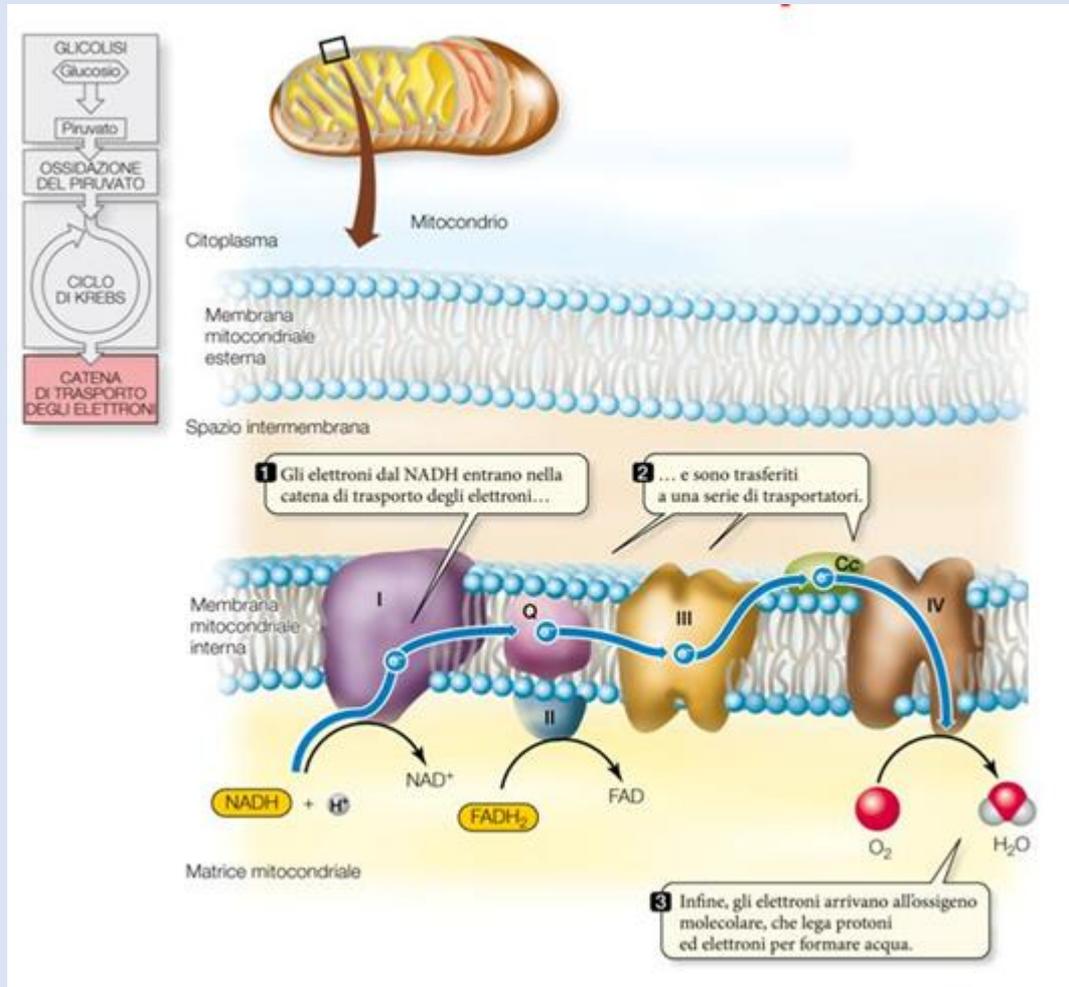


# Resa energetica riossidazione coenzimi ridotti



La riossidazione di 1 molecola di NADH+H<sup>+</sup> fornisce energia sufficiente per la sintesi di circa 2,5 molecole di ATP, e la riossidazione di 1 molecola di FADH<sub>2</sub> fornisce energia sufficiente per la sintesi di circa 1,5 molecole di ATP.

# La catena di trasporto degli elettroni



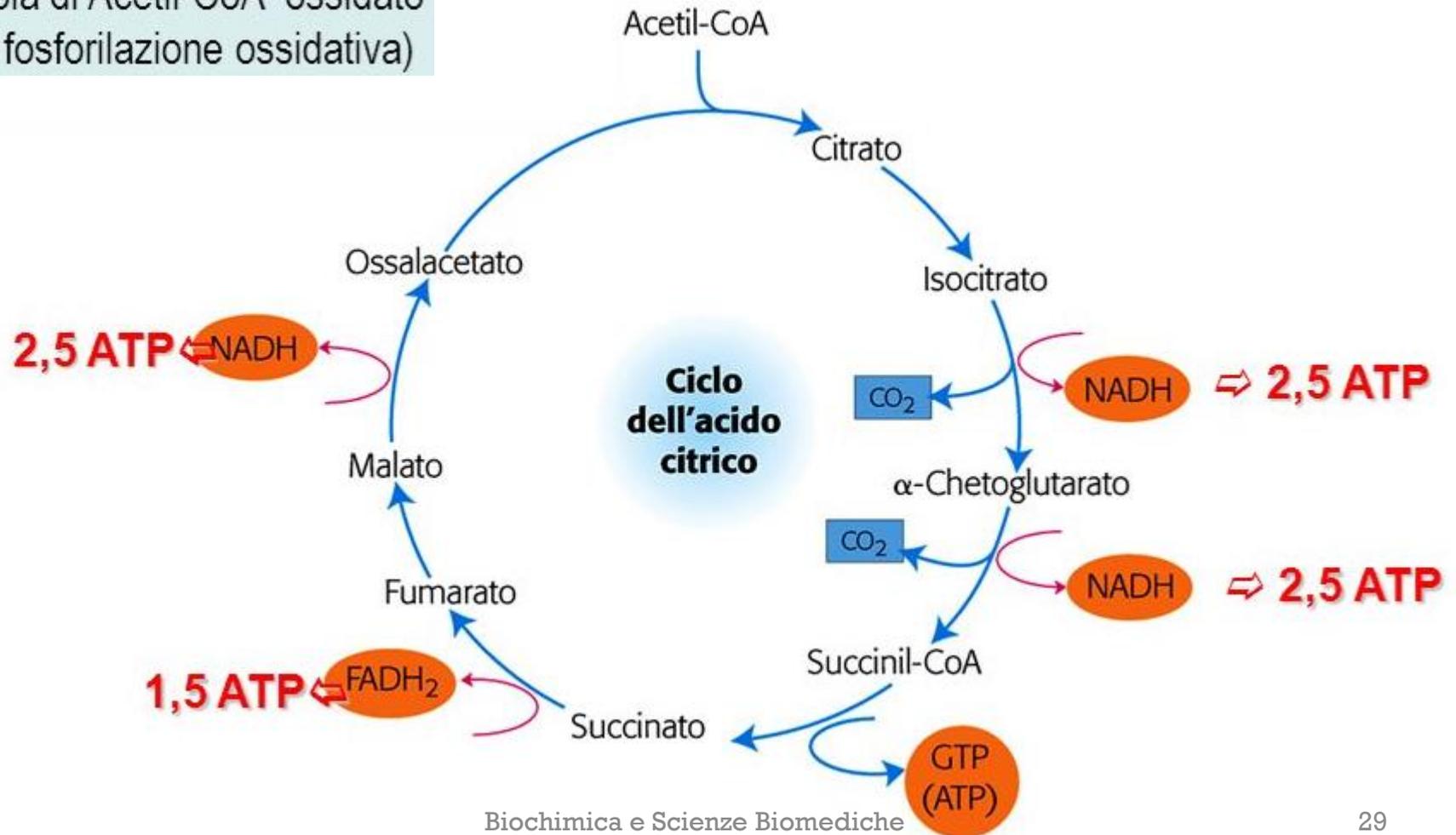
- I trasportatori di elettroni sono organizzati in quattro complessi multienzimatici posizionati in maniera ordinata sulla membrana mitocondriale interna.
- L'affinità per gli elettroni aumenta dal complesso I fino all'ossigeno.
- Ogni **complesso** è caratterizzato da una propria composizione in proteine e dalla presenza di determinati gruppi prostetici.

# Resa energetica ciclo di Krebs

Per ogni giro del ciclo avremo

**10 molecole di ATP** per

molecola di Acetil-CoA ossidato  
(nella fosforilazione ossidativa)



Una molecola di Acetil-SCoA che entra nel ciclo di Krebs viene ossidata e produce energia sufficiente per la sintesi di 10 molecole di ATP a partire da ADP.

3 NADH+H <sup>+</sup>	7,5 ATP
1 FADH <sub>2</sub>	1,5 ATP
1 ATP	1 ATP
TOTALE	10 ATP

# Resa energetica dell'ossidazione aerobica del glucosio

<b>Glicolisi *</b>	<b>2 NADH</b>	<b>1,5* x 2 = 3 ATP</b>
<b>Piruvato deidrogenasi (2 molecole di piruvato)</b>	<b>2 NADH</b>	<b>2,5 x 2 = 5 ATP</b>
<b>Ciclo di Krebs (2 molecole di AcetilCoA)</b>	<b>6 NADH 2 FADH<sub>2</sub></b>	<b>2,5 x 6 = 15 ATP 1,5 x 2 = <u>3 ATP</u></b>
		<b>26 ATP</b>

Sintesi di ATP mediante fosforilazione a livello del substrato (2 ATP nella glicolisi, 2 GTP da 2 cicli di Krebs)

**4 ATP**

**Il bilancio energetico totale:**

**30 ATP**

*\*La riossidazione del NADH della glicolisi produce solo 1,5 ATP (navetta del glicerofosfato) (il NADH deve essere trasportato dal citoplasma nel mitocondrio)*

Il valore di **30** molecole di ATP per ogni molecola di glucosio **sostituisce** il valore **ipotizzato** negli anni precedenti di 36 molecole di ATP.

- Il numero di molecole di ATP (o GTP) formate nella glicolisi e nel ciclo dell'acido citrico **è noto** con certezza essendo determinato dalla stechiometria delle reazioni chimiche.
- Per contro, il numero di molecole di ATP prodotte nella fosforilazione ossidativa è **meno certo**, poiché la stechiometria dei processi di pompaggio di protoni, della sintesi di ATP e di metaboliti può non essere costituita da numeri interi o può perfino non avere valori fissi.
- Pertanto, per esempio, è possibile **solo stimare** quante molecole di ATP si formano quando il glucosio viene ossidato completamente a  $CO_2$ .

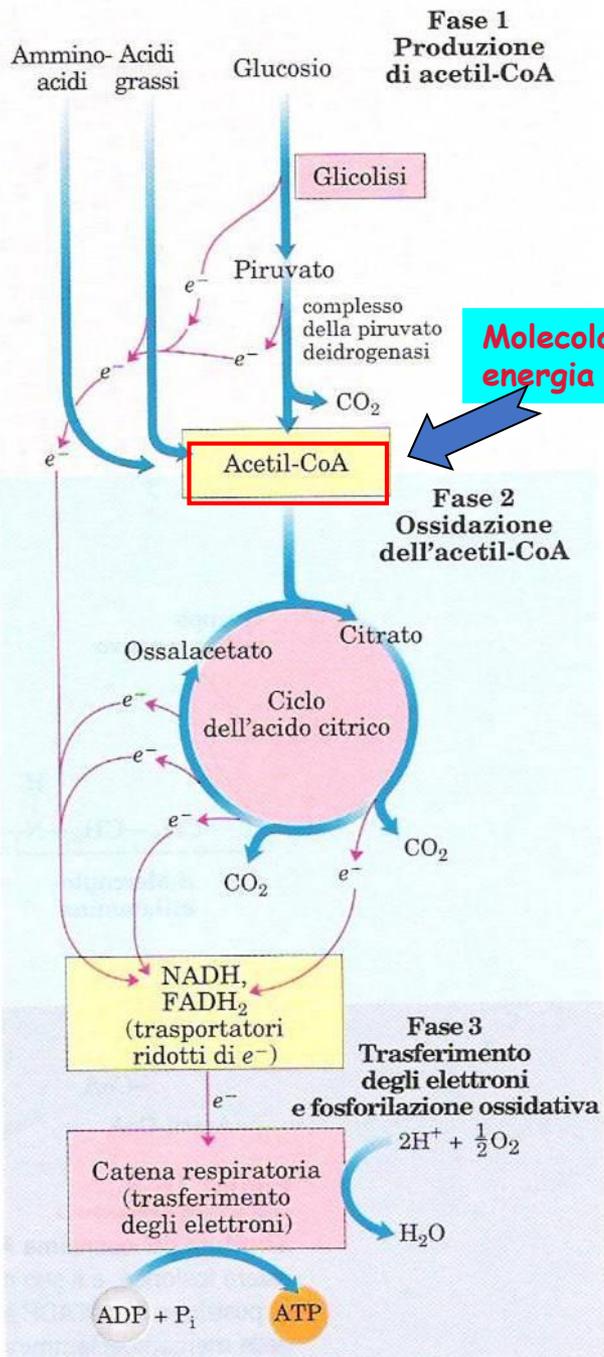
## La fosforilazione ossidativa è regolata sulle necessità energetiche della cellula

La velocità della respirazione mitocondriale è limitata dalla disponibilità di ADP quale substrato per la fosforilazione (accettore del gruppo fosforico).  
La dipendenza della velocità di consumo di ossigeno dalla concentrazione di ADP è detta controllo dell'accettore della respirazione. Indica l'accoppiamento dell'ossidazione con la fosforilazione.

# Riassumendo

Il catabolismo delle proteine, dei grassi e dei carboidrati avviene nelle 3 fasi della respirazione cellulare.

- **Fase 1:** l'ossidazione degli acidi grassi, del glucosio e di alcuni amminoacidi porta alla formazione di *acetil-CoA*.
- **Fase 2:** l'ossidazione dell'acetil-CoA nel ciclo di Krebs comprende quattro fasi in cui si ha *sottrazione di elettroni*.
- **Fase 3:** gli elettroni trasportati dal NADH e dal FADH<sub>2</sub> sono incanalati in una catena mitocondriale di trasportatori di elettroni, la *catena respiratoria*, riducendo alla fine O<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>O. Questo flusso di elettroni guida la *sintesi di ATP* nel processo della *fosforilazione ossidativa*.



Molecola ricca di energia