

ENZIMI

REAZIONI CHIMICHE

Perché una reazione chimica avvenga devono essere soddisfatte tre condizioni:

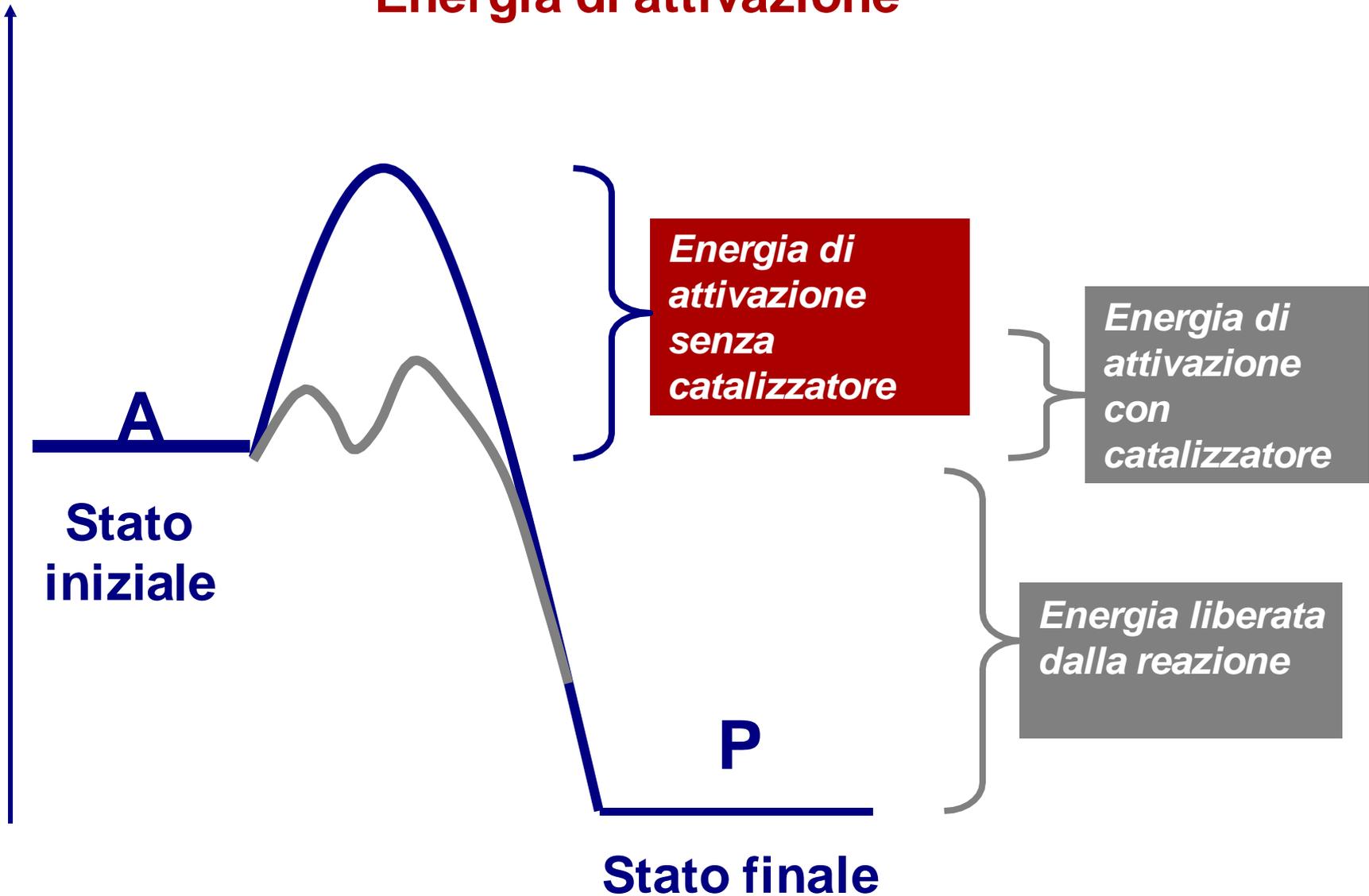
- I reagenti (substrati) devono entrare in collisione
- Le collisione tra le molecole dei reagenti devono avvenire con un orientamento corretto
- I reagenti devono avere una energia sufficiente che viene chiamata **ENERGIA di ATTIVAZIONE**

Enzimi: catalizzatori biologici

- Si combinano transientemente col substrato e ne **abbassano l'energia di attivazione**
- **Non modificano** l'equilibrio della reazione, ma solo **la velocità** con la quale l'equilibrio viene raggiunto
- Permettono ad una reazione chimica di procedere a **velocità** considerevole a temperature nettamente inferiori a quelle necessarie in assenza di enzima
- **Non vengono modificati nella reazione**, e al termine della reazione sono subito disponibili per catalizzare una nuova reazione

Energia

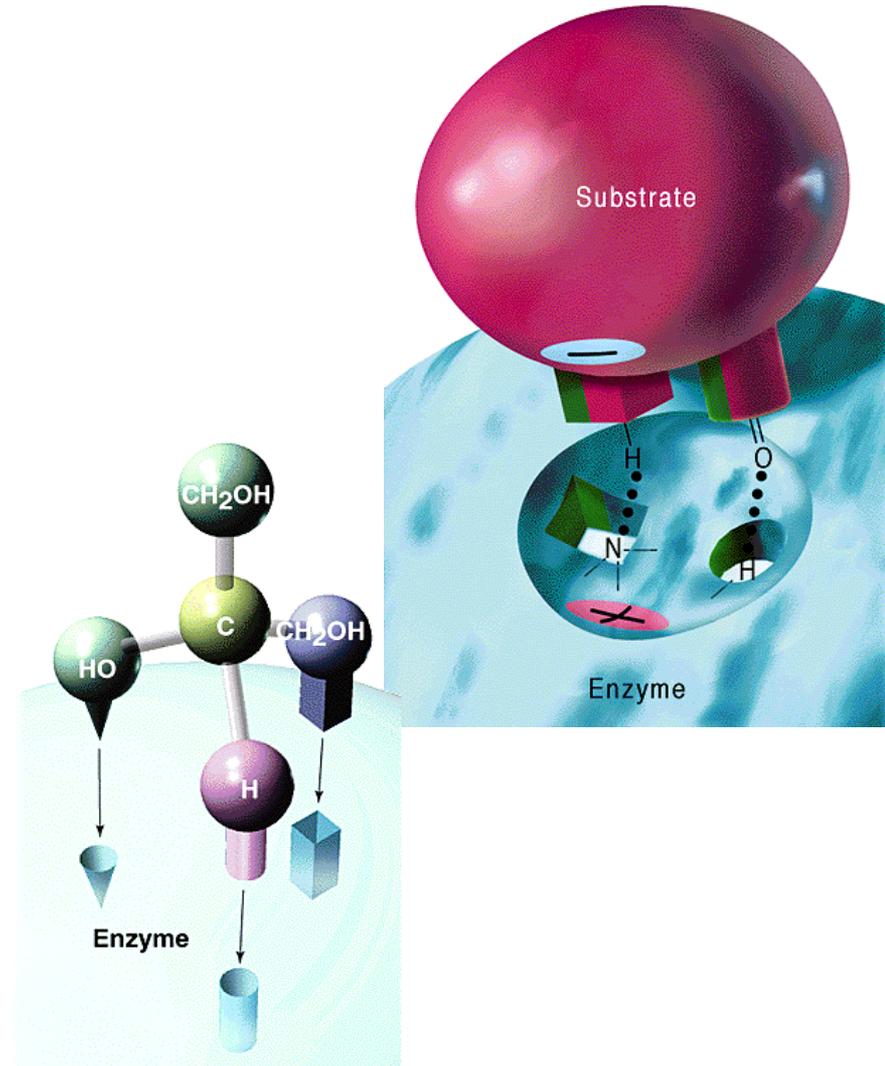
Energia di attivazione



Modello Lock and Key: l'enzima si combina chimicamente col substrato

Gli enzimi sono caratterizzati da elevata specificità

- Il **sito attivo** è costituito dal "negativo" del substrato
 - Si formano legami ionici e elettrostatici esatti fra enzima e substrato
- Riconoscimento spesso tridimensionale
 - Gli enzimi possono distinguere gli stereoisomeri



Velocità di reazione ed attività enzimatica

- Velocità di reazione: quantità di substrato trasformata nell' unità di tempo
- Attività enzimatica: attività catalitica di un enzima. Viene espressa in Unità Enzimatiche Internazionali (UEI).

1 UEI=quantità di enzima che converte $1\mu\text{mol}$ di substrato in 1 minuto

Classificazione internazionale degli enzimi in base al tipo di reazione che essi catalizzano

- 1 - **ossidoreduttasi**: reazioni di ossido-riduzione, con aggiunta o rimozione di atomi di idrogeno da gruppi chimici
- 2 - **transferasi**: trasferimento di gruppi chimici da una molecola ad un'altra
- 3 - **idrolasi**: rottura di legami mediante aggiunta di acqua (idrolisi)
- 4 - **liasi**: reazioni di addizione a doppi legami
- 5 - **isomerasi**: reazioni di trasformazione di una molecola nel suo isomero, trasferimento intramolecolare di gruppi
- 6 - **ligasi**: reazioni di formazione di nuovi legami, che utilizzano ATP come fonte di energia

COFATTORI

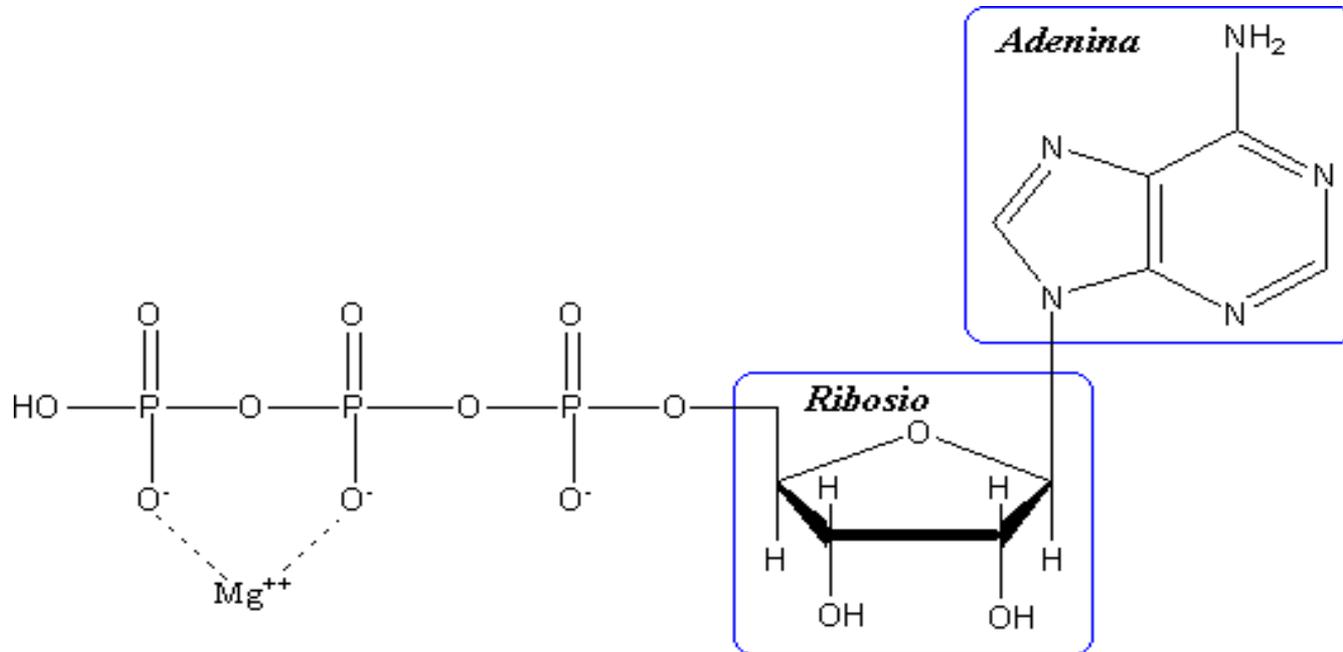
- **Coenzimi:** piccole molecole organiche, spesso derivate da vitamine, che mediano il legame tra enzima e substrato
- **Ioni metallici:** esempio Fe, Zn, Cu, Mn, stabilizzano la proteina e possono funzionare come accettori o donatori di elettroni

COENZIMI

- Piccole molecole organiche, spesso derivate da **vitamine**
- Si legano con forte affinità a enzima e substrato
- Spesso fungono da secondo substrato
- Determinano la specificità della reazione catalizzata

Adenosin trifosfato (ATP)

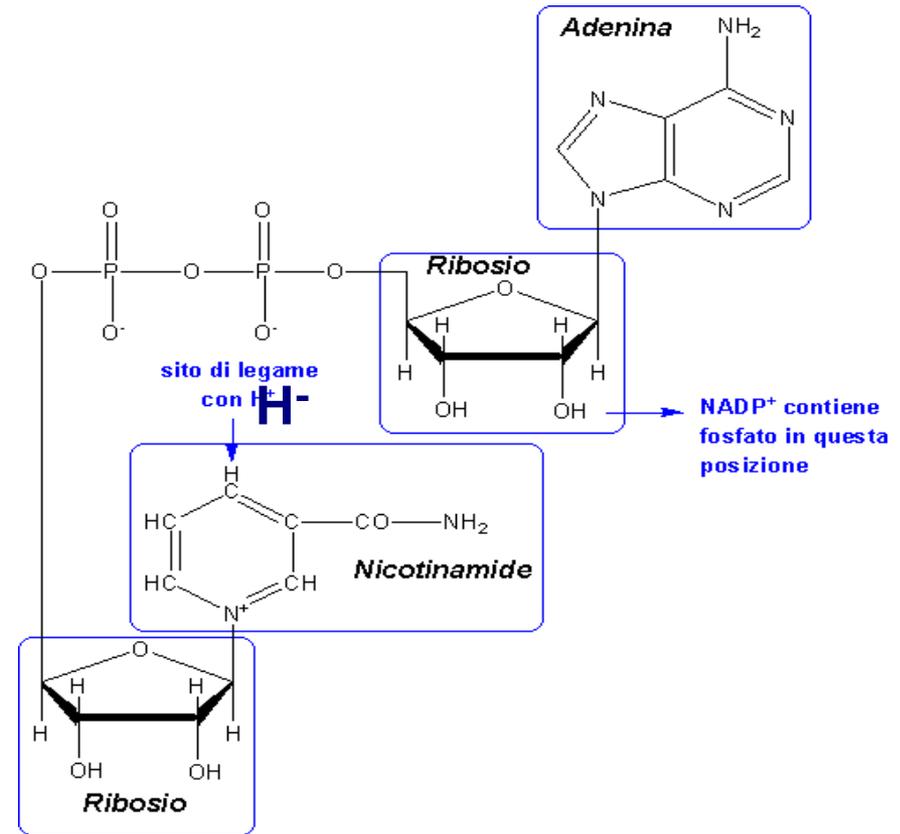
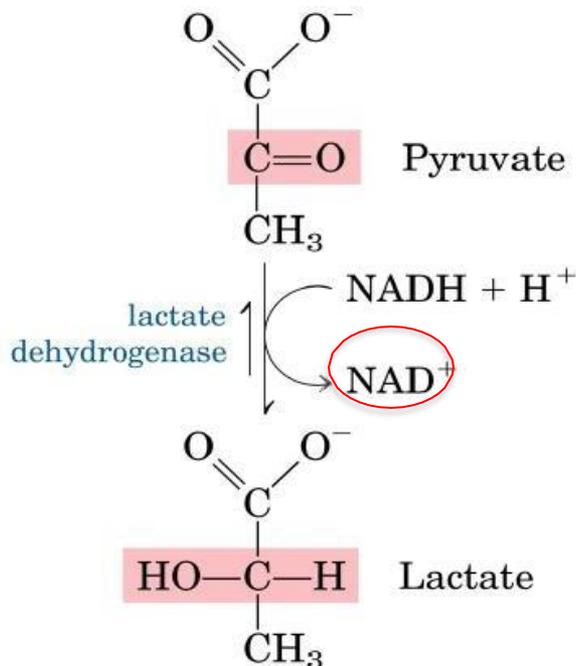
- Coenzima delle **chinasi**, trasferisce un gruppo Pi al substrato
- Esempio: Glucosio + ATP \Rightarrow Glucosio-6-fosfato + ADP
- In molte chinasi, il substrato vero è Mg-ATP



Nicotinamide Adenina Dinucleotide (NAD⁺)

- Coenzima di **deidrogenasi**
- Derivato da **niacina**
- **Trasferisce un H⁻ (2 e⁻):**

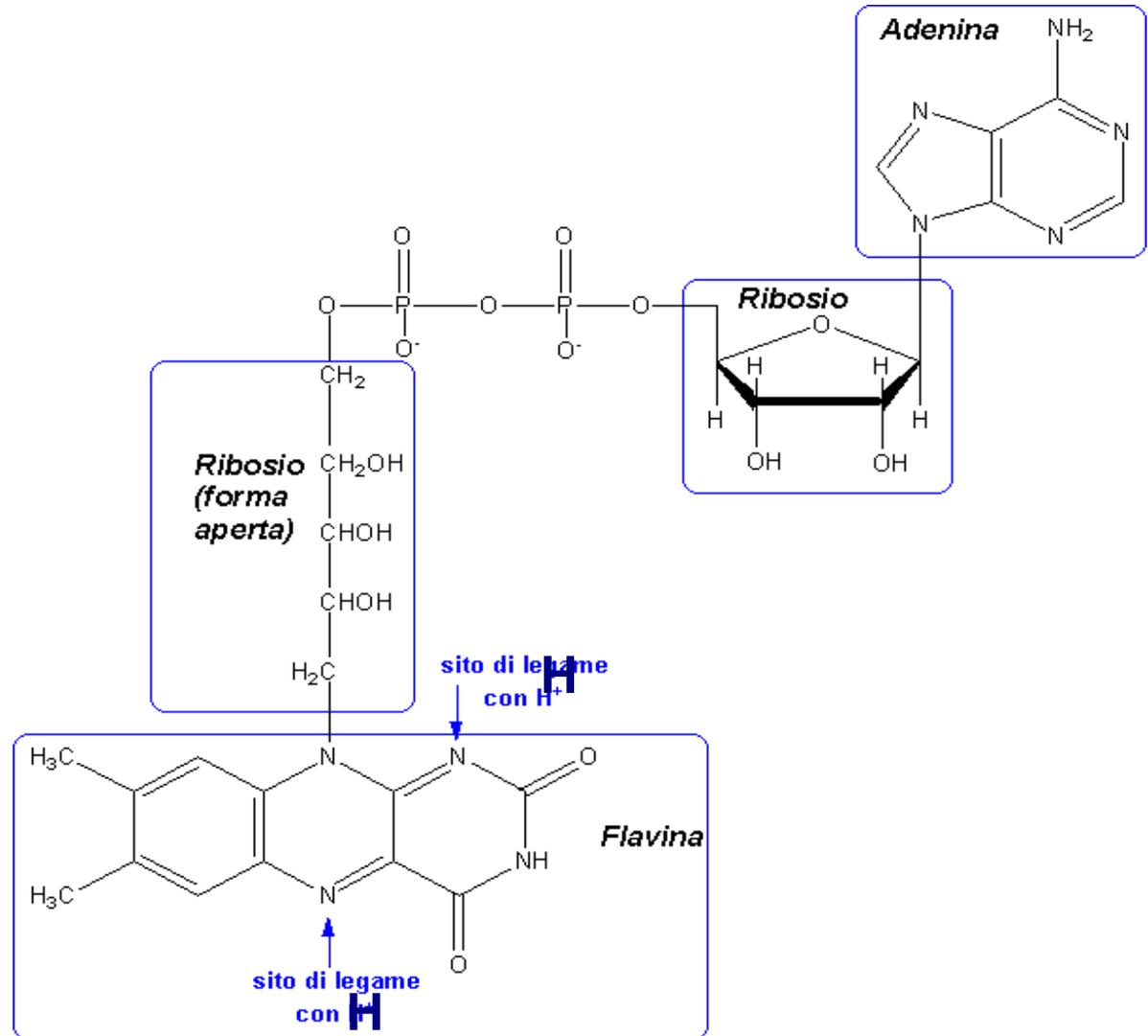
Es: lattato + NAD⁺ \rightleftharpoons piruvato + NADH + H⁺



Esiste una forma fosforilata NADP⁺

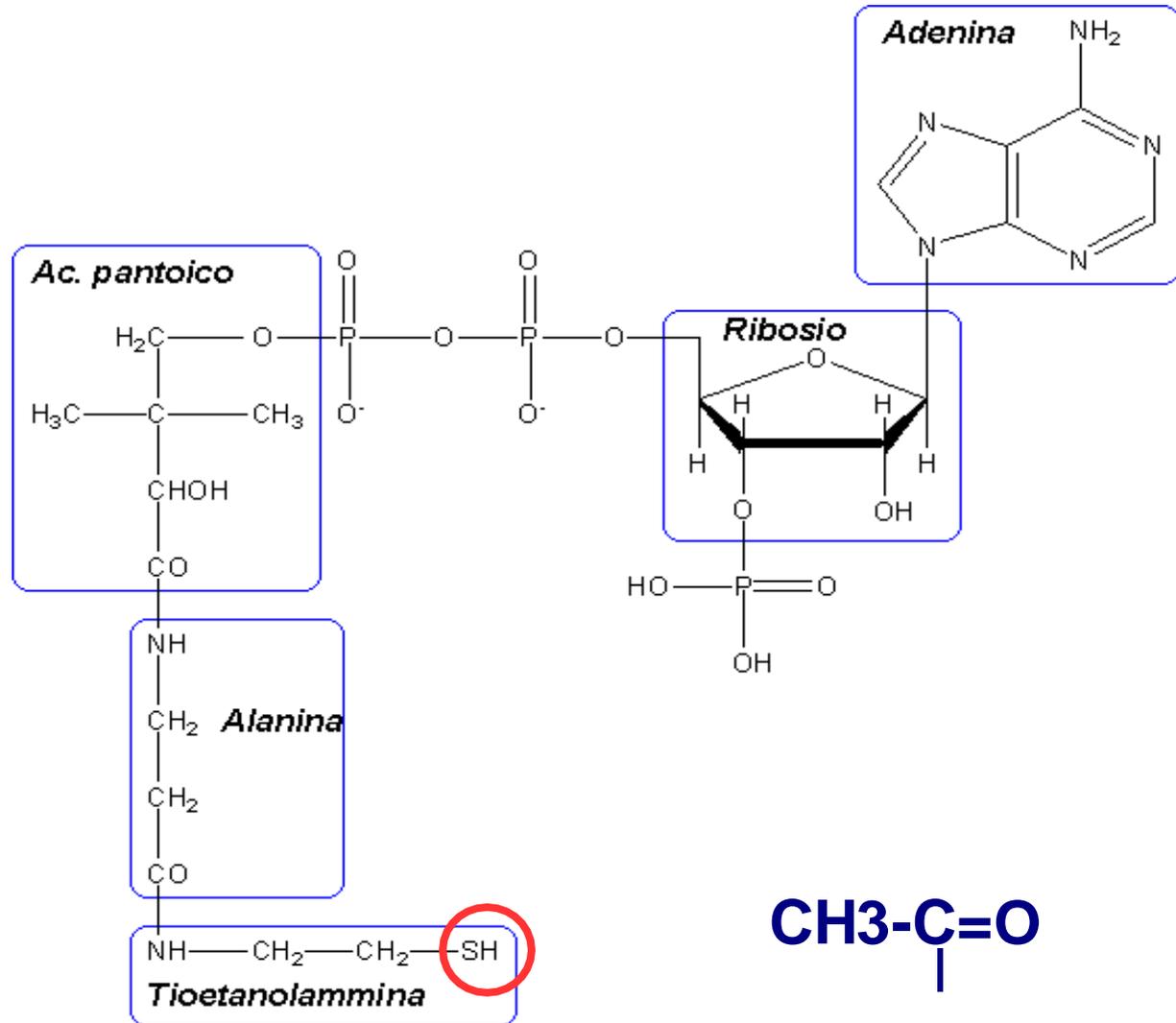
Flavina adenina dinucleotide (FAD)

- **Coenzima di deidrogenasi**
- **Derivato da riboflavina (vit. B₂)**
- **Trasferisce due atomi di idrogeno da/a substrati**
- **Esempio: Succinato + FAD \rightleftharpoons Fumarato + FADH₂**



Coenzima A

Trasportatore e attivatore di gruppi acilici (acidi grassi) e di acetile



Metalli di transizione (Fe, Zn, Cu, Mn...)

Cofattori più che coenzimi

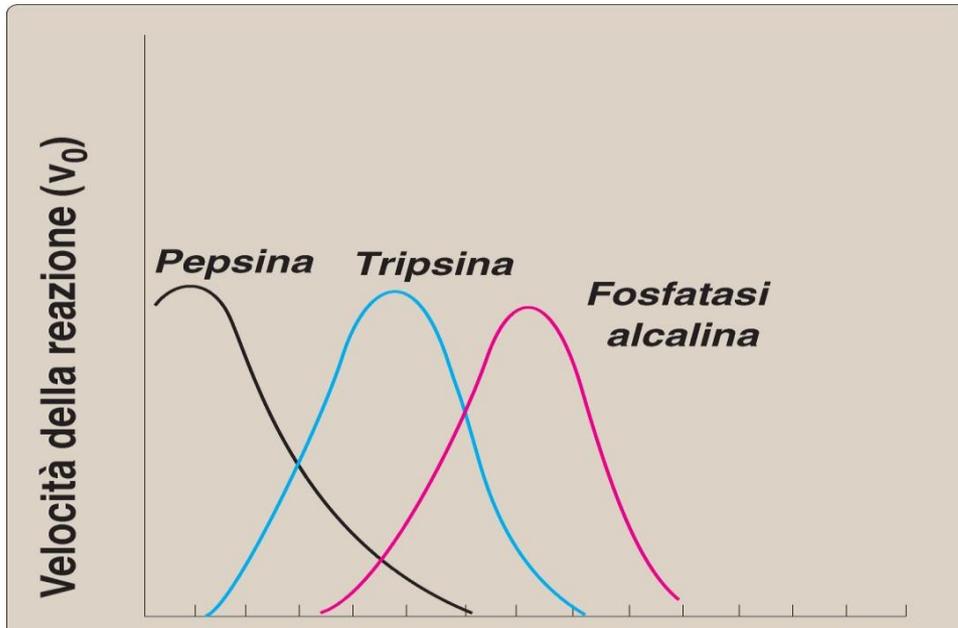
Presenti in 2/3 degli enzimi

Agiscono come stabilizzatori della proteina e come donatori/accettori di elettroni

Fattori che influenzano l'attività di un enzima

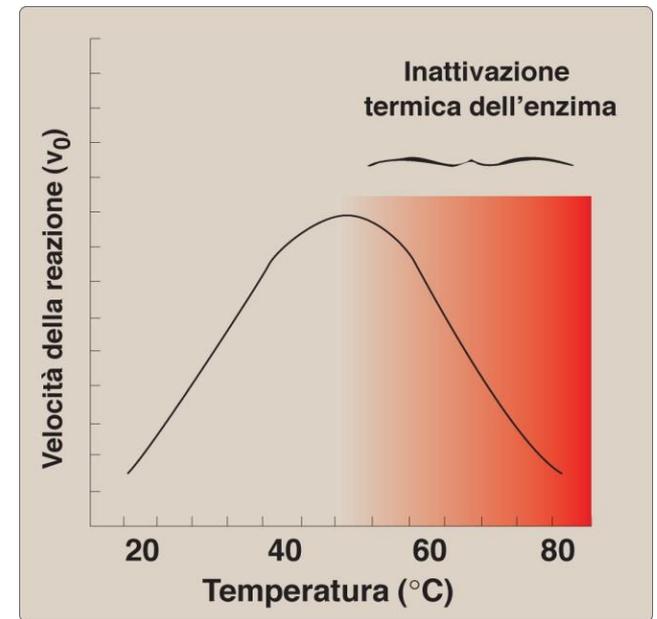
- **pH**, influenza la struttura terziaria, la distribuzione delle cariche dei gruppi coinvolti nel legame con il substrato o nel processo catalitico
- **Temperatura**, influenza la velocità della reazione catalitica (effetto positivo); elevate temperature denaturano gli enzimi (effetto negativo)
- **Concentrazione del substrato**
- **Modificazioni covalenti** (es. taglio proteolitico, fosforilazione)

pH e attività enzimatica



pH

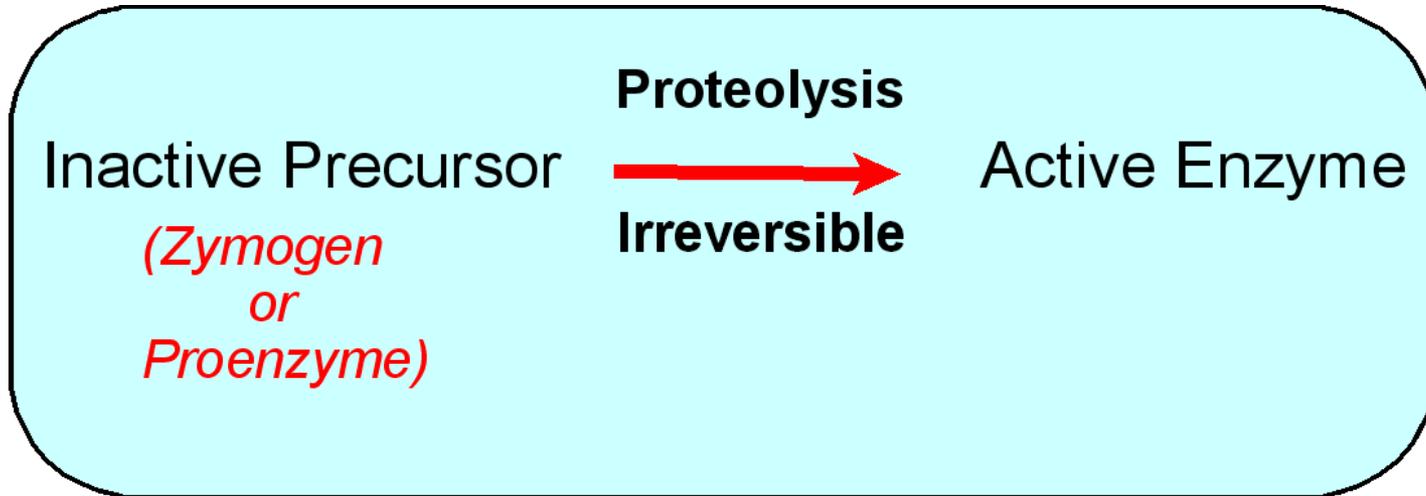
Temperatura e attività enzimatica



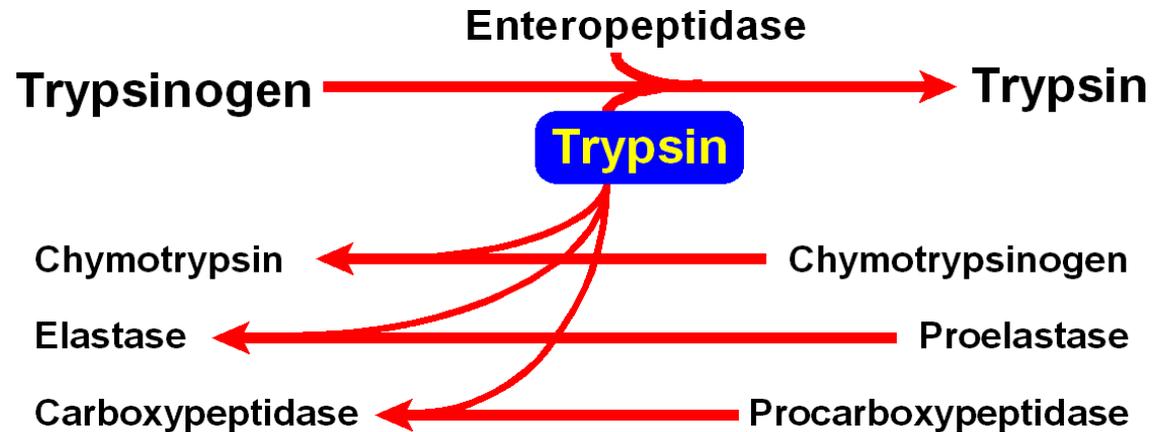
Per ogni enzima esiste una temperatura ottimale

Regolazione dell'attività enzimatica mediante proteolisi

Attivazione di zimogeni



Esempio:

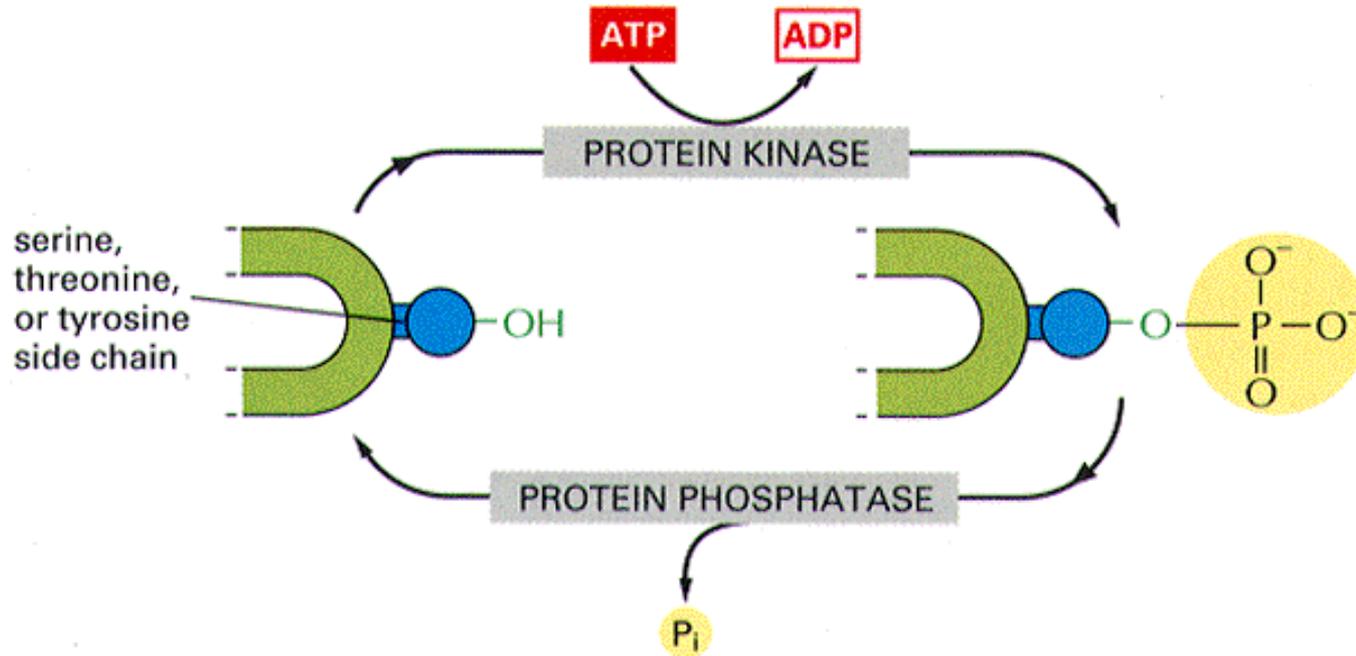


Zimogeni ed Isoenzimi e loro importanza fisiologica e clinica

- Gli zimogeni sono proforme di enzimi, cioè proteine che, in seguito a eliminazione di una parte della loro sequenza, diventano enzimi nella loro forma matura e pienamente funzionali. Molti enzimi con funzione proteolitica esistono nel nostro organismo come zimogeni. Es.: il tripsinogeno, che diventa tripsina.
- Gli isoenzimi sono forme diverse di enzimi (cioè con una sequenza leggermente diversa) ma con simile attività enzimatica che sono presenti in diversi tessuti. Hanno un importante valore diagnostico. Ad esempio la lattico deidrogenasi, che è presente in isoforme diverse in tessuti diversi.

Regolazione dell'attività enzimatica: **Modificazione degli enzimi mediante Fosforilazione**

- La fosforilazione **AUMENTA** l'attività di alcuni enzimi
- La fosforilazione **DIMINUISCE** l'attività di altri enzimi



Inibizione dell'attività di un enzima

Inibitori irreversibili, inibiscono l'enzima legandosi ad esso in modo stabile, con interazioni covalenti.

Modificano chimicamente l'enzima, che così perde la capacità di interagire con il substrato o di catalizzare la trasformazione

- **Molti veleni e composti mercuriali** (reagiscono con -SH dei residui di Cys)
- **Cianuro**, reagisce con gli ioni metallici degli enzimi della catena respiratoria
- **Diisopropil fluorofosfato (Sarin, gas nervino)** inibisce gli enzimi contenenti Ser (acetilcolinesterasi)

Inibitori reversibili, possono legarsi nel sito attivo al posto del substrato (inibitore competitivo), oppure si legano al altri siti dell'enzima, riducendone l'attività (inibitore non competitivo)

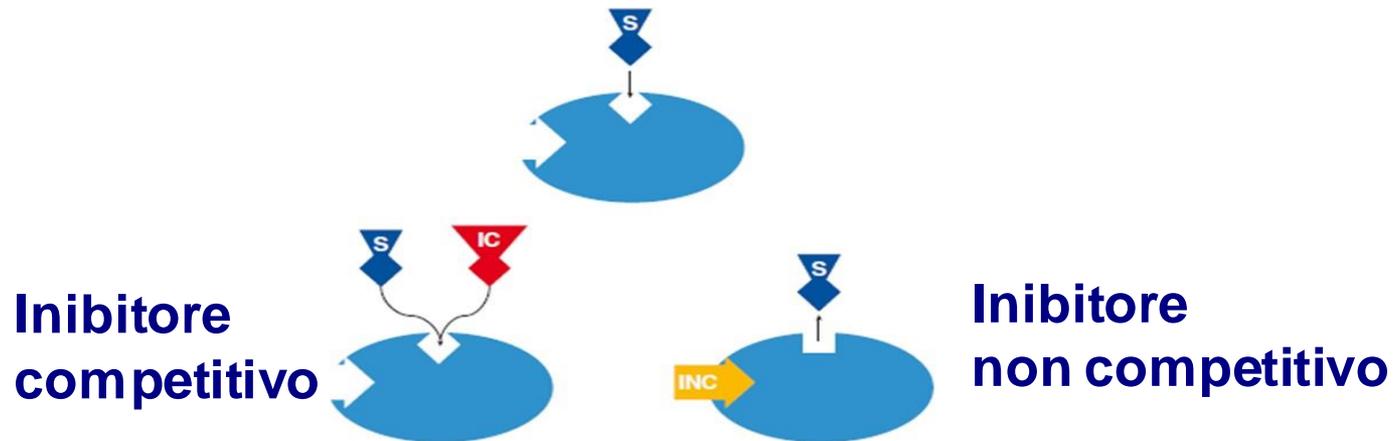
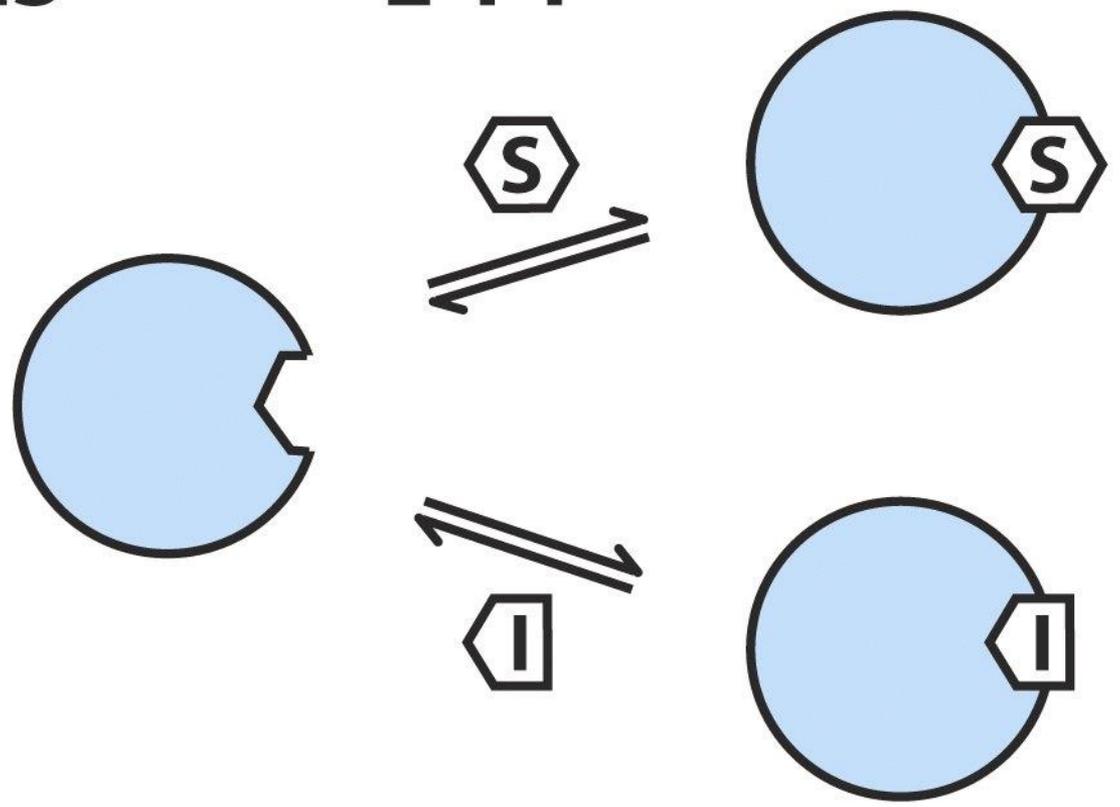
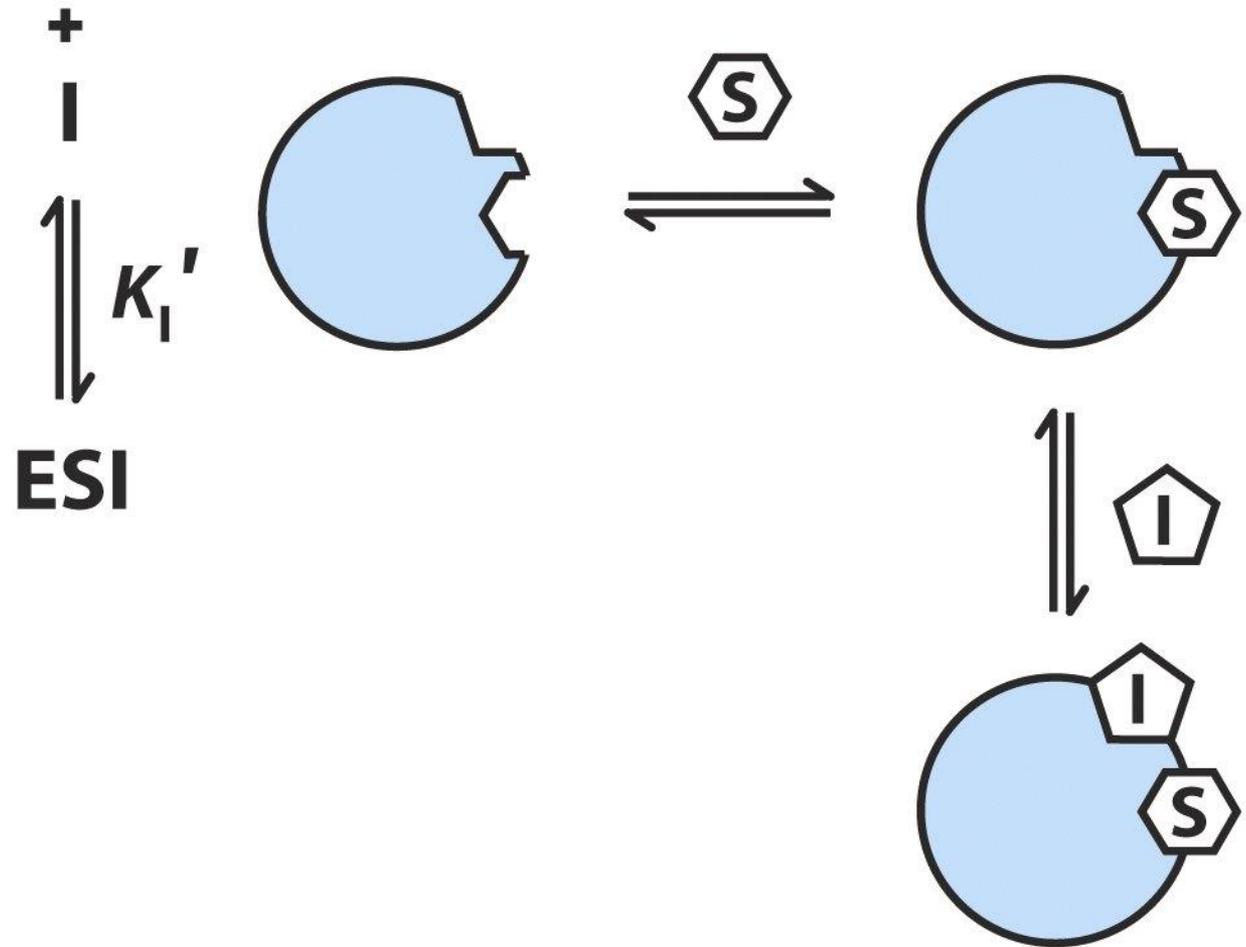


Figura 15. Inibizione competitiva e non-competitiva. In assenza di inibitori, un enzima presenta un sito attivo per il substrato S, cui si lega per formare il complesso ES. In presenza di un inibitore competitivo IC con struttura simile a quella di S, IC compete con S per lo stesso sito attivo dell'enzima e rallenta la formazione del complesso ES. In presenza di un inibitore non-competitivo (INC) che si lega all'enzima ad un sito diverso dal sito attivo, la conformazione del sito attivo è modificata e non è più complementare alla struttura di S, che pertanto non può più legarsi all'enzima.

(a) Competitive inhibition

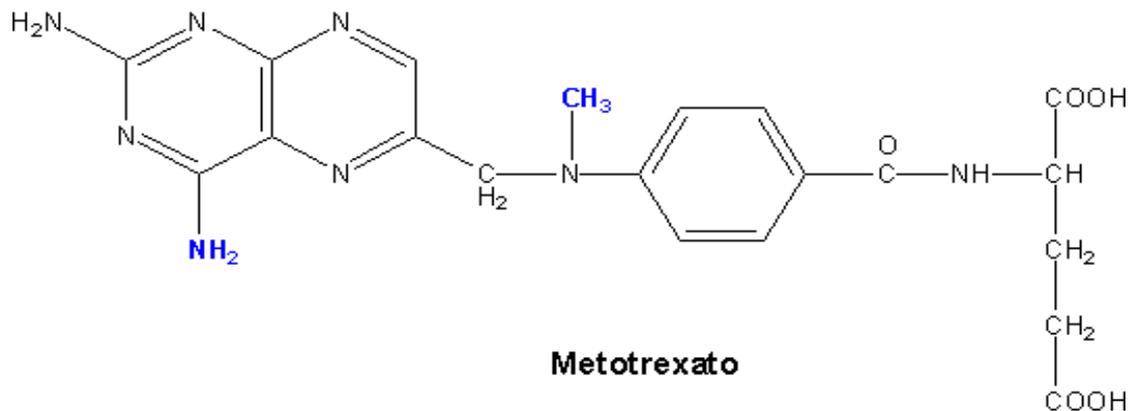
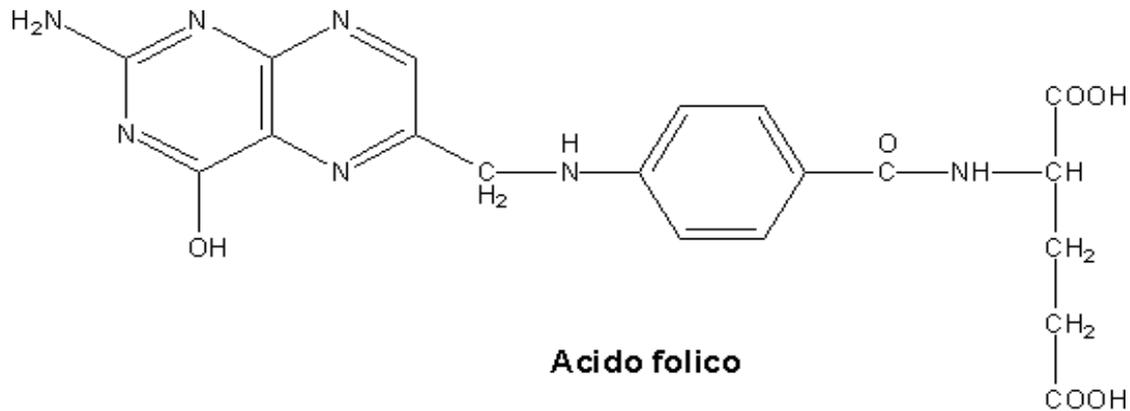


(b) Uncompetitive inhibition



Esempi di inibizione enzimatica competitiva

Metotrexato o antifolato, antileucemico che rallenta la biosintesi di purine e pirimidine



Inibizione enzimatica competitiva

Esempio di terapia medica basata sull'inibizione competitiva:

- In caso di avvelenamento da metanolo:



Infusione intravenosa di :



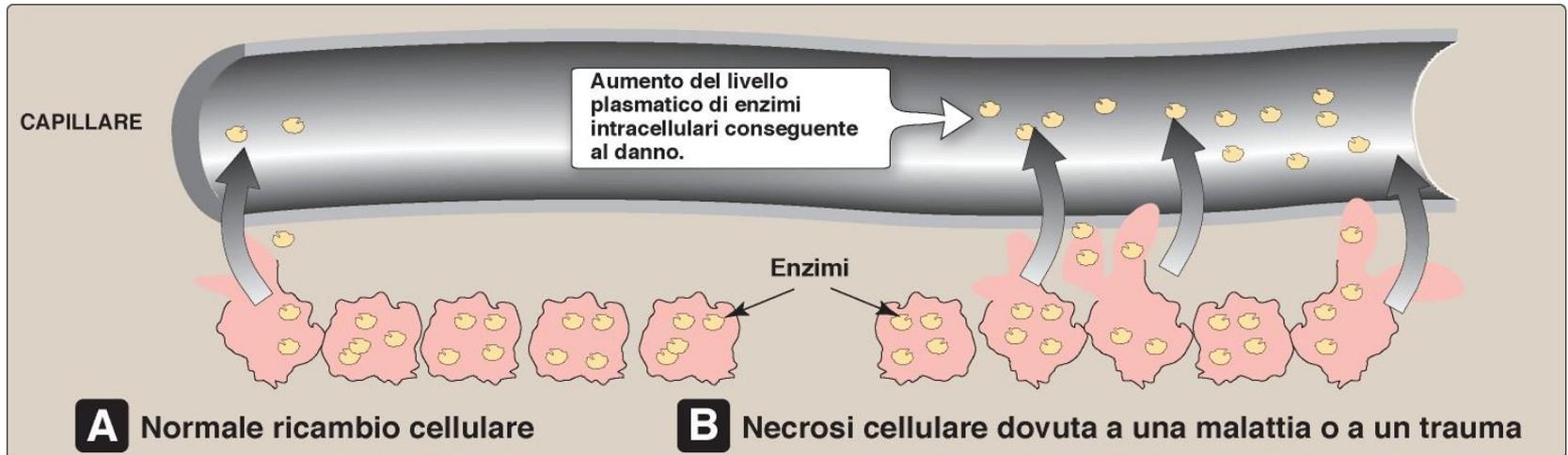
Farmaci come inibitori enzimatici clinicamente utili

Alcuni esempi:

- **Antinfiammatori** (es aspirina; ibuprofen, FANS):
inibitori dell'enzima *Cyclooxygenase* che catalizza la formazione di molecole mediatrici dell'infiammazione.
-es terapia artrite
- **Inibitori della via di sintesi del colesterolo** (es statine):
inibitori di *HMG-CoA Reductase*
-trattamento della ipercolesterolemia
- **Antipertensivi** (captopril; ramipril): inibitori dell'enzima "Angiotensin Converting Enzyme" (ACE) che catalizza la formazione dell'angiotensina II (potente ipertensivo)
-terapia malattie cardiovascolari e dell'insufficienza renale cronica

Enzimi del plasma

- Specifici del plasma, con un ruolo ben definito (es: enzimi della coagulazione)
- Specifici di un tessuto, **si ritrovano nel plasma solo in seguito alle lesioni di cellule di quel tessuto/i o organi in cui l'enzima si trova normalmente**



Il dosaggio di numerosi enzimi puo' avere utilità ai fini diagnostici

Aumento in circolo di enzimi specifici, normalmente presenti a basse concentrazioni

Esempio: Infarto miocardico

CK= creatina chinasi

LDH= lattato deidrogenasi

