

## CITOZYM NEL 2° SISTEMA RESPIRATORIO

### Introduzione

La funzione primaria del sistema respiratorio è quella di ottenere l'O<sub>2</sub> dall'aria per l'utilizzo delle cellule dell'organismo e l'eliminazione della CO<sub>2</sub> prodotta.

Lo scambio dei gas O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> tra gli alveoli e il sangue avviene per semplice diffusione.

L'O<sub>2</sub> diffonde dagli alveoli al sangue e la CO<sub>2</sub> dal sangue agli alveoli.

Tutto ciò è ottenuto attraverso la respirazione, che serve a mantenere la concentrazione (o pressione) dell'O<sub>2</sub> maggiore negli alveoli rispetto al sangue, e viceversa la concentrazione di CO<sub>2</sub> minore negli alveoli rispetto a quella del sangue.

La trachea si suddivide nei due bronchi ciascun bronco si suddivide 22 volte per terminare in un gruppo di alveoli. Ogni polmone contiene circa 150 milioni di alveoli polmonari.

Le ciglia delle cellule epiteliali del bronco hanno la funzione di trasporto del muco, verso la faringe, proteggendo il sistema da particelle estranee ispirate presenti nell'aria.

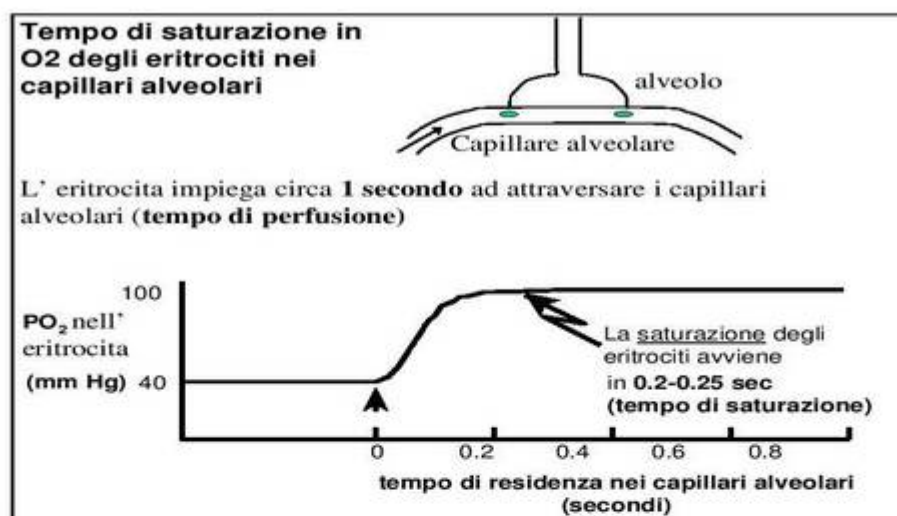
Il movimento delle ciglia può essere fortemente danneggiato da fattori ambientali, stili di vita e dallo "stress ossidativo".

Le vie aeree terminano nei lobuli polmonari, esse contengono un numero di dotti alveolari e sacchi ("grappoli") alveolari. ogni alveolo è circoscritto da capillari alveolari dove circola sangue venoso in arrivo dal cuore (attraverso l'arteria polmonare) per l'ossigenazione del sangue in seguito il sangue ossigenato dalla vena polmonare ritorna al cuore.

**Gli alveoli sono complessi cellulari di tipo I per lo scambio gassoso e di tipo II per la sintesi del surfattante**, la presenza dei macrofagi alveolari riveste un ruolo determinante per la digestione del materiale estraneo che raggiunge gli alveoli permettendone la fisiologica funzione.

L'eritrocita impiega circa 1 secondo ad attraversare i capillari alveolari (tempo di perfusione)

l'attività di perfusione del sangue nei capillari polmonari e di ventilazione alveolare sono soggette a diversi meccanismi di controllo.



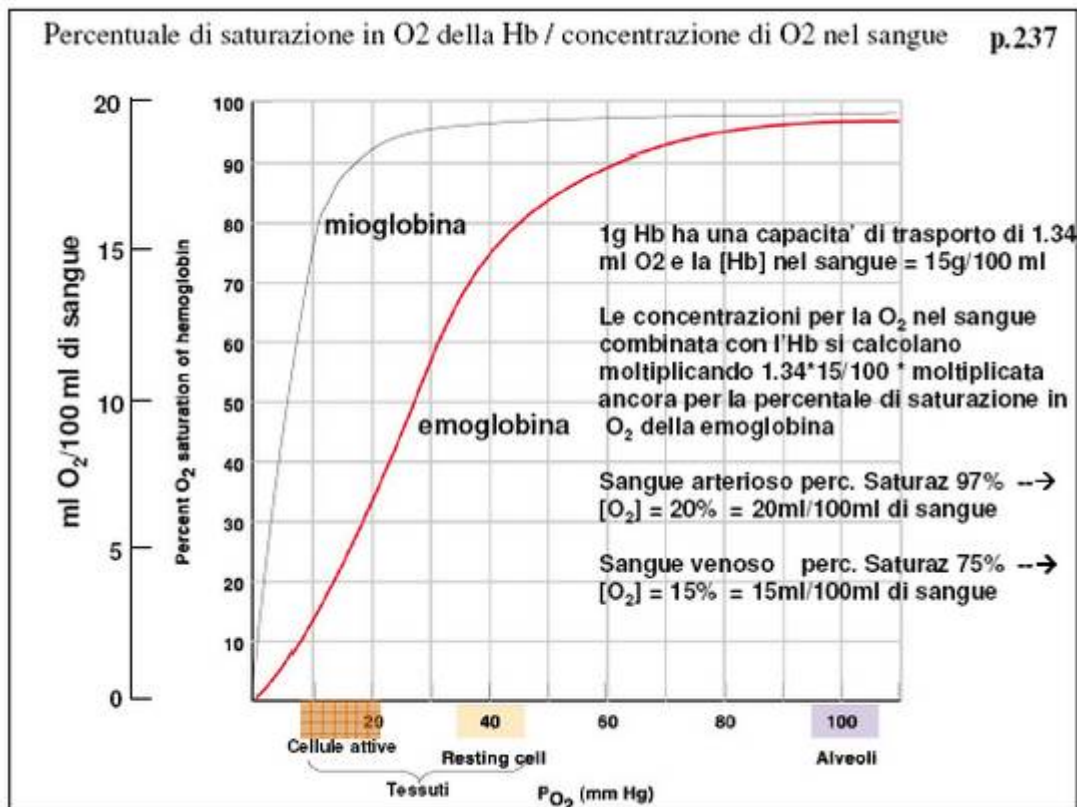
Durante la fase tranquilla della respirazione i capillari delle basi polmonari sono completamente perfusi, mentre quelli degli apici polmonari vengono reclutati completamente soltanto durante la fase di esercizio intenso in risposta all'aumento della pressione del sangue

In presenza di ipossia locale negli alveoli (mancanza di ossigeno) avviene una vasocostrizione delle arterie polmonari che perfondono l'area ipossica.

La riduzione del calibro arterioso aumenta la resistenza al flusso questo provoca una redistribuzione della perfusione verso zone alveolari più ossigenate adeguata infatti la perfusione alla ventilazione.

Il coeff. di solubilità della  $\text{CO}_2$  è 20 volte più grande dell'  $\text{O}_2$  il trasporto dell'  $\text{O}_2$  libero disciolto nel sangue è limitato dalla sua scarsa solubilità per questo si è evoluta nei vertebrati una proteina di trasporto (emoglobina), che invece non è necessaria per la  $\text{CO}_2$

La mioglobina Proteina a singola catena contenente un gruppo prostetico (eme) con un atomo di Ferro in grado di legare l'  $\text{O}_2$  Presente nelle cellule dei tessuti con il compito di immagazzinare l' $\text{O}_2$  proveniente dal sangue. Emoglobina Proteina presente nei globuli rossi del sangue contiene 4 catene, 4 gruppi eme 4 siti di legame per l'  $\text{O}_2$  . Ha quindi il compito di legare l'  $\text{O}_2$  a livello dei capillari polmonari, trasportarlo in circolo e rilasciarlo a livello dei capillari periferici.



Trasporto della  $\text{CO}_2$  Circolo venoso  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$  Prodotta dai tessuti, trasportata agli alveoli. Partecipa all'equilibrio del pH nel sangue e viaggia con tre modalità: gas disciolto, ione carbonato, e legata alla Hb.

Per le normali reazioni chimiche della cellula è sufficiente anche una piccola pressione parziale di ossigeno. I sistemi enzimatici sono organizzati in modo che quando la  $\text{PO}_2$  della cellula è superiore a 1 mmHg, la disponibilità di ossigeno non è più il fattore limitante. Fattore limitante è invece la concentrazione di ADP. Un aumento di ADP determina l'utilizzo di ossigeno e vari nutrienti che si combinano con

ossigeno con effetto finale di un aumento dell'energia prodotta. Questa energia viene usata per riconvertire ADP in ATP. A volte le cellule possono trovarsi ad una distanza maggiore di 50 mm, e la diffusione di ossigeno a queste cellule è così bassa che la  $PO_2$  intracellulare scende sotto il livello critico di un mmHg.

In condizioni di sforzo muscolare: in primo luogo, il consumo energetico e di  $O_2$  da parte dei muscoli causa un aumento di  $pCO_2$  e di  $H^+$  nel sangue, che genera iperventilazione e tachipnea) e ai centri simpatici cardiaci (aumento della frequenza di scarica del nodo SA, aumento della contrattilità, della trasmissione elettrica AV, della velocità di conduzione del miocardio= effetto cronotropo, inotropo, dromotropo, batmotropo POSITIVO).

Questo causa un aumento marcato sia della ventilazione (molta più aria entra nei polmoni) sia della perfusione (molto più sangue imbecca il circolo polmonare) procedono di pari passo per garantire la funzione respiratoria.

Il ruolo dei capillari alveolari viene coinvolto solamente al mantenimento dell'efficienza respiratoria, infatti può coesistere la condizione di una vasodilatazione in un alveolo dell'apice polmonare nel quale fisiologicamente entra meno sangue ed una vasocostrizione in un alveolo delle basi nel quale arriva più sangue.

Gli alveoli sono la sede degli scambi gassosi fra aria e sangue. Si calcola che gli alveoli polmonari siano circa 300.000.000 (trecento milioni) e possano ricoprire l'equivalente di una superficie variabile dai 34 mq. Nella respirazione tranquilla a 72 mq. Nella respirazione massima. Nell'atto respiratorio normale, tuttavia, solo una minima parte degli alveoli polmonari partecipi agli scambi gassosi. Il sangue circolante nella rete capillare, attraverso una sottilissima parete, entra in intimo rapporto con l'aria contenuta negli alveoli. Lo scambio dei gas (anidride carbonica ed ossigeno) è governato dalle leggi fisiche della diffusione ed è quindi determinato dai diversi valori di pressione parziale dei gas nell'aria alveolare e nel sangue.

La pressione parziale, infatti, dell'anidride carbonica ( $CO_2$ ) nel sangue è di 46 mm Hg. mentre nei polmoni è di 40 mm Hg.. Perciò, per differenza di pressione ( 46 - 40 ) l'anidride carbonica viene eliminata. La pressione parziale dell'ossigeno ( $O_2$ ), invece, è di 100 mm Hg. nell'alveolo polmonare e di 40 mm Hg. nel sangue.

Quindi, per differenza di pressione ( 100 - 40 ), l'ossigeno viene immesso nel sangue e si lega all'emoglobina.

Il fine ultimo della funzione respiratoria, è quello di mantenere la pressione parziale di ossigeno ad un livello sufficiente nei tessuti per assicurare una completa efficienza dei meccanismi enzimatici che stanno alla base delle reazioni aerobiche. A tale necessità corrisponde un aumento della funzione respiratoria e circolatoria allorché il fabbisogno energetico, ossia l'entità dei processi ossidativi aumenta, così come si verifica nel corso del lavoro muscolare.

Nell'inspirazione i diametri della gabbia toracica, espandendosi, determinano anche un aumento di volume che fa diminuire la pressione interna (si crea una depressione). Tale diminuzione di pressione interna determina una differenza di pressione parziale tra l'aria atmosferica (che ha una pressione di 760 mm Hg.) e la cavità polmonare permettendo così all'aria di passare all'interno.

Nella espirazione, invece, la cavità toracica diminuisce di volume facendo aumentare la pressione interna rispetto a quella atmosferica, favorendo perciò l'uscita dell'aria interna. L'alternanza degli atti respiratori (inspiratori ed espiratori) è detta ventilazione polmonare. Il numero degli atti respiratori al minuto determina la frequenza respiratoria (a riposo la frequenza respiratoria è di 12 - 14 atti respiratori al minuto). Il volume di aria che correntemente viene immesso con una inspirazione normale è di circa 500 ml (volume aria respiratoria).Perciò, normalmente, in condizioni di riposo, viene ventilato in ogni minuto un volume d'aria complessivo di circa 6 litri (atti respiratori 12 x 500 ml = 6 litri aria / minuto).Durante un lavoro intenso aumenta sia la frequenza respiratoria (fino a 50 atti al minuto) che il volume respiratorio. Si può così arrivare ad una ventilazione massima di circa 70 litri d'aria al minuto.

### La ventilazione polmonare è in rapporto al consumo di ossigeno.

Il massimo consumo relativo di ossigeno di un individuo, espresso in  $\text{ml} / \text{Kg} / \text{min.}$ , può essere paragonato al consumo del carburante di un'automobile. Così come un'auto di grossa cilindrata ha un consumo di carburante maggiore di un'auto di piccola cilindrata, così un soggetto dotato di masse muscolari molto sviluppate avrà un consumo di ossigeno maggiore di un individuo che possiede una muscolatura poco sviluppata. Frequenza cardiaca e massimo consumo relativo di  $\text{O}_2$  sono in stretta correlazione:

Aumentando la richiesta di ossigeno durante l'esercizio muscolare deve necessariamente aumentare anche il numero delle pulsazioni cardiache al minuto.

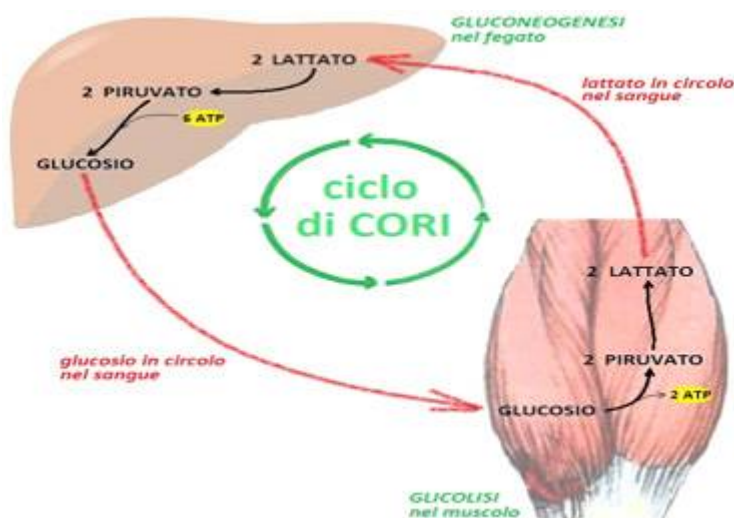
Capacità vitale = il massimo volume di gas che può essere emesso nel corso di una espirazione forzata seguente ad una inspirazione massima.

Quando il metabolismo aerobico non riesce più a soddisfare le esigenze energetiche (produzione di ATP) richieste dall'elevata intensità dello sforzo fisico, allora subentra il metabolismo anaerobico lattacido con formazione, appunto, di acido lattico nel sangue, una volta raggiunta la massima concentrazione possibile di lattato nel sangue non è più possibile produrre lavoro muscolare e perciò si è costretti ad interrompere l'attività fisica.

Nel frattempo però si è contratto un debito di ossigeno lattacido che corrisponde alla quantità di ossigeno che sarebbe stato necessario assumere per produrre, con il metabolismo aerobico, l'ATP che è stato invece prodotto con il metabolismo anaerobico lattacido.

Con tale sistema si può cioè posporre l'utilizzo di una certa quantità di ossigeno. Tale debito di ossigeno deve però essere saldato al termine dello sforzo, ed è per questo motivo, dopo aver terminato uno sforzo intenso, si continua ad ansimare moltissimo: in pratica si sta pagando il debito di ossigeno.

Fig.1



### Effetti dell'integratore biodinamico Citozym

La riduzione dei livelli di emoglobina possono essere diversi come la carenza di ferro poiché il ferro è l'elemento essenziale per la produzione della stessa un'insufficienza di questo minerale può portare ad anemia da carenza di ferro, influenzando negativamente sull'emoglobina.

È possibile che pur mangiando alimenti ricchi di ferro, se si soffre di disturbi come la celiachia oppure il morbo di Crohn, che impediscono all'intestino di assorbire correttamente il ferro, si avrà l'emoglobina bassa, anche per sanguinamento, l'emoglobina si può abbassare nel momento in cui vi è una consistente perdita di sangue, la diminuzione della produzione di globuli rossi, se si soffre di qualche disturbo che impedisce all'organismo di produrre correttamente globuli rossi (leucemia, malattie renali, problemi alla tiroide, etc..) i valori dell'emoglobina si abbasseranno.

Anche alcune terapie o farmaci, come per esempio la chemioterapia, influiscono negativamente sulla produzione di eritrociti.

**Il Citozym** può agire in diverse situazioni come già confermano i dati pubblicati dei lavori di sperimentazione dove risulta evidente a livello ematico un aumento del numero degli eritrociti in concomitanza con il benessere generale degli organi come il fegato, intestino, rene, arterie, e riduzioni della lipidemia, concorrendo ad una migliore ossigenazione del sangue evidente soprattutto dell'aumento dell'emoglobinemia.

È chiaro che la dinamicità degli effetti del **Citozym** si esplica in diverse modalità e in diverse problematiche dove occorre intervenire a livello funzionale delle attività cellulari in base alle regolazioni enzimatiche necessarie a riportare l'equilibrio del lavoro fisiologico di un organo.

È impossibile riorganizzare un sistema partendo solamente dal principio attivo e specifico di un farmaco senza tener conto dei molteplici fattori causali che danno origine alla patologia stessa.

Il **Citozym** sembra intervenire con una certa dinamicità finora non circostanziata sperimentalmente su tutto il sistema generale, non tenendo in considerazione uno specifico principio attivo mirato ed esclusivo.

A livello ematico oltre alla glicolisi anaerobia che si effettua per ottenere energia il globulo rosso passa alla via del pentoso fosfato che non è una via di produzione di energia. Ma per ottenere il NADPH. in tal modo un'alta concentrazione di NADPH e glutazione ridotto creano un'ambiente riducente che protegge il globulo rosso dai danni radicali che potrebbero formarsi a molecole varie dalla formazione di specie reattive dell'ossigeno come il perossido d'idrogeno cioè l'acqua ossigenata.

Ad es. i fabici hanno un deficit nel primo enzima della via del pentoso fosfato quindi non producendo NADPH non possono detossificarsi dall'acqua ossigenata che si forma quando mangiano le fave mentre i soggetti normali usando il NADPH e il glutazione convertono l'acqua ossigenata in acqua ed ossigeno molecolare prevenendo eventuali danni ossidativi.

L'assunzione del **Citozym** comportando un aumento delle attività degli enzimi endogeni come la superossidodismutasi SOD, la catalasi, CAT e il Glutazione, prevenendo costantemente il danno ossidativo.

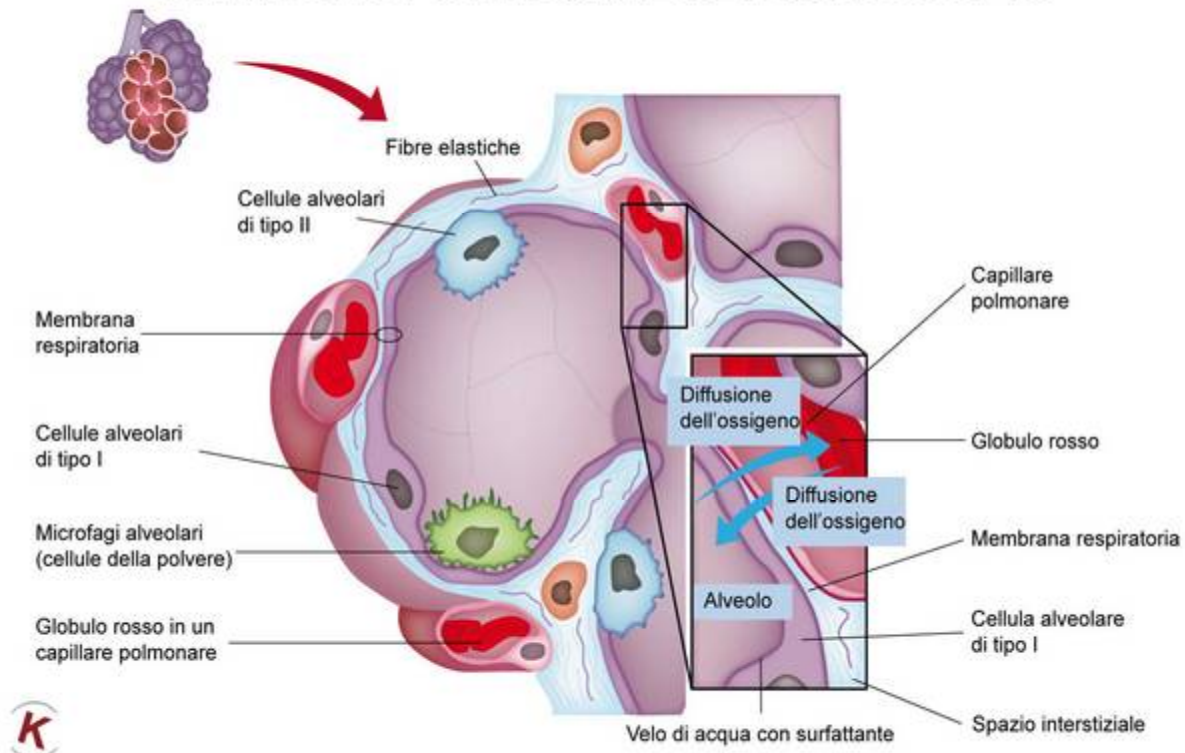
Come già sopra accennato il movimento della ciglia può essere fortemente danneggiato da fattori ambientali, stili di vita e dallo "stress ossidativo" in questo caso l'azione dinamica interviene soprattutto sui meccanismi dell'attività enzimatica con specifica azione di mantenimento delle funzioni che possono garantire fattori di prevenzione.

Quanto descritto come una generale e indispensabile premessa e utile per far comprendere gli effetti del **Citozym** nei vari passaggi delle reazioni metaboliche catalizzate da enzimi specifici dipendenti dall'energia disponibile ed il mantenimento funzionale dei complessi cellulari di cui prendono parte gli alveoli polmonari.

Andando per ordine in riferimento alla tipologia degli alveoli è necessario soffermarsi all'importanza del *surfactante*. Fig.1



## L'ALVEOLO POLMONARE AL MICROSCOPIO



(Fig.2)

Il surfattante è una miscela di fosfatidilcolina (80%, di cui la metà coniugata come dipalmitoilfosfatidilcolina), fosfatidilglicerina e fosfatidiletanolamina secreta dai pneumociti di tipo II. Le molecole si orientano nell'alveolo esponendo all'aria lo strato insolubile e alla matrice acquosa la parte polare, riduce la tensione superficiale.

Da notare è che nel polmone si crea all'interno degli alveoli un'interfaccia aria-acqua: le molecole di acqua si dispongono sulla parete alveolare e generano forze di tensione superficiale.

Come ci insegna Laplace la tensione superficiale, ovvero la forza uguale e contraria alla pressione intramurale, cresce al diminuire del raggio.  $P = \frac{2 \sigma}{r}$  Un piccolo raggio degli alveoli comporterà una pressione intraluminare elevata: per le leggi della fluidodinamica questo porterà gli alveoli piccoli a svuotarsi nei grandi.

La maggior concentrazione di surfattante però negli alveoli piccoli (essendo distribuito su una parete minore) diminuirà la tensione superficiale di questi ultimi e quindi la loro pressione intraluminare maggiormente che negli alveoli più grandi. [si noti che la curva rossa e la blu coincidono per volume polmonare minimo: nella curva rossa il surfattante è così concentrato da annullare le forze di tensione] Ci sono però anche altri due fattori che aiutano i piccoli alveoli a non collassare: essi rimangono pieni grazie al sostegno fornito dalle circostanti strutture (si immagini la cella di un alveolo che è indeformabile nonostante la fragilità delle sue pareti se isolata grazie al sostegno statico fornito dalle celle intorno): quando un alveolo tende a collassare viene sorretto dalla forza di retrazione elastica degli alveoli vicini. Essi inoltre ricevono una forza che si trasmette dalla pleuraviscerale ai setti e da questi ultimi agli alveoli. Il surfattante quindi limita la forza che spinge i piccoli alveoli a svuotarsi nei grandi. Il surfattante per seconda cosa provoca la diminuita tensione di tutti gli alveoli: riduce così il lavoro che sarebbe necessario per vincere le forze di retrazione elastiche del polmone sommate alla tensione della sola interfaccia aria-acqua e agevola il lavoro polmonare. Di ciò è indice il fatto che un'adeguata presenza di surfattante rende i polmoni non perfettamente chimici: i tensioattivi riducono la tensione superficiale: una goccia d'acqua so

un piano avrà forma emisferica perché la superficie risentirà di forze tangenti di attrazione molecolare.

Il tensioattivo riduce queste forze: aggiungendo all'acqua il sapone la goccia perderà la forma sferica e si espandibile e provoca atelettasia dei piccoli alveoli, ovvero li schiaccia (ciò accade nella fatale sindrome da distress respiratorio ai neonati prematuri: le cellule sono capaci di produrre surfattante solo dal settimo mese di gravidanza). Le forze elastiche di retrazione del collagene e dell'elastina polmonari contribuiscono solo per un quarto al richiamo elastico del polmone (la curva ottenuta insufflando con soluzione fisiologica rende conto solo di queste forze non essendo presente l'interfaccia aria-acqua). I 3/4 sono invece dovuti alle forze di retrazione generate dalla tensione, e questa forza sarebbe maggiore (curva a dx nella figura sopra) con tensioattivo non sufficiente. [si noti che il contributo alla retrazione polmonare della tensione è indifferente alla presenza di surfattante; il surfattante anzi è un espediente fisiologico che riduce l'opposizione data dalla tensione e rende il polmone distensibile. Alla domanda cosa genera la tensione superficiale non rispondere il surfattante, ma l'interfaccia aria-acqua] Il surfattante in sostanza riduce il lavoro del sistema respiratorio.

Negli studi precedenti relativi alle sperimentazioni sugli animali e su persone abbiamo avuto modo di osservare alcune proprietà importanti del **Citozym** ripristinando la fisiologica funzione cellulare in molteplici patologie e disfunzioni dovute soprattutto a blocchi enzimatici, ed è per questo fondamentale motivo che possiamo ipotizzare quanto stiamo per relazionare.

Il surfactante, (surfactant) è un complesso tensioattivo fosfolipoproteico secreto dai pneumociti di classe II. Le proteine ed i lipidi che compongono il surfactante presentano sia una regione idrofila che una regione idrofoba. La componente lipidica principale del surfactante è la dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), una molecola in grado di ridurre la tensione superficiale ponendosi all'interfaccia aria-acqua a livello alveolare, prevenzione dell'accumulo di fluidi [modifica modifica]

Le forze di tensione superficiale tendono ad attrarre fluidi dai capillari verso gli spazi alveolari. Il surfactante riduce l'accumulo di questi liquidi e mantiene le vie aeree asciutte, proprio perché viene a contrastare queste forze.

La funzione immunitaria del surfactante viene attribuita principalmente a due proteine:

SP-A e SP-D. Queste proteine possono legarsi agli zuccheri presenti sulla superficie dei patogeni e quindi causarne l'opsonizzazione facilitandone la fagocitosi. Il surfactante regola anche le risposte infiammatorie e interagisce con la risposta immune adattativa. La degradazione o l'inattivazione del surfactante può contribuire ad una maggiore suscettibilità alle infezioni ed alla infiammazione polmonare.

Dai risultati sperimentali la positività evidenziata a livello polmonare generale dell'ossigenazione negli studi sperimentali può essere attribuita alla costante sintesi del surfactante.

A livello polmonare il miglioramento dell'ossigenazione e la riduzione delle secrezioni dei fluidi osservata può essere attribuibile agli effetti del **Citozym** che mirano sul complesso cellulare deputato alla sintesi del surfactante garantendone così la propria funzione e prevenendo l'eccessivo accumulo di fluidi e una buona risposta a livello immunitario.

Nella sperimentazione con pubblicazione scientifica internazionale 2014 Antonelli F. e Beninati S. sulla valutazione degli effetti del **Citozym** sulle placche ateromasiche ha dimostrato una riduzione di circa l'80% delle placche carotidee con contemporanea riduzione della colesterolemia trigliceridi e l'aumento in concomitanza dell'emoglobinemia.

### ***Apporto di biomolecole conformazionate da catalizzatori enzimatici***

In questa relazione si vuole evidenziare le caratteristiche più importanti dei prodotti Citozeatec. Sottolineando che l'alterazione di una molecola genetica all'interno del nucleo cellulare, porta modificazione del codice di memorie alle proteine di trasporto e di conseguenza a tutto il sistema dell'organismo.

Quello che deve essere evidenziato è che tutti i cicli (Krebs, Acidi grassi e Urea ) sono guidati da una serie di memorie biochimiche ripetitive e, se solo una di queste memorie perde la sua capacità, si possono verificare danni anche molto gravi; la risoluzione di questi danni non può passare attraverso il concetto di cura delle conseguenze, come normalmente accade con la farmacologia e l'oncologia, per migliorare il sistema dell'organismo vanno affrontate migliaia e migliaia di reazioni biochimiche a cui il farmaco deve far fronte. (farmaco ancora da scoprire).

Lo spirito della Citozeatec è di produrre molecole biodinamiche mediante tecnologie a conversione enzimatiche (per biodinamica intendiamo la lavorazione continua del substrato con enzimi specifici, in una catena di reattori posti in un impianto industriale imprimendo le memorie degli enzimi nel prodotto finale. Così da dotare le molecole con un proprio codice di riconoscimento verso il proprio sistema) o molecole Citogenetiche.

Molecole quindi in grado di disattivare enzimi anomali e fornire potenza agli enzimi della propria specie, lisozimi compreso.

### **Ruolo generale a livello biochimico**

I prodotti Citozeatec, oggetto della presente relazione, sono preparati con prodotti agricoli assolutamente non transgenici, coltivati su terreni a perfetta sanità biochimica.

La rigidità, con cui si preparano le materie prime agricole, nasce dal fatto che non sono minimamente ammissibili i prodotti transgenici in quanto gli stessi contengono enzimi non accettabili dal metabolismo animale e umano.

Riveste notevole importanza, nella coltivazione, l'assenza di diserbanti, pesticidi, fitofarmaci e altri prodotti di sintesi in quanto questi prodotti rilasciano veleni di difficile eliminazione e in netto contrasto con le proteine che si devono produrre.

***Come già specificato i prodotti Citozeatec, sono derivati da una coordinata attività di processi biochimici su materie prime vegetali rigorosamente biologiche, ottenendo una serie di substrati perfettamente coniugate secondo i principi della biochimica umana.***

***Sono pertanto una felice combinazione di pacchetti energetici in grado di interagire nei processi duplicativi delle cellule, possiedono un'elevata memoria biochimica in grado di modulare, partecipando in forma diretta, la sintesi delle proteine promosse sia nella replicazione del DNA che nelle eventuali fasi di correzione degli errori di trascrizione.***

Come già precisato, essendo la produzione di questi prodotti effettuata secondo i canoni della biochimica relativa ai vari cicli vitali, si arriva alla costruzione dei codoni di amminoacidi e di tutti i componenti energetici necessari ad implementare tali cicli.

Accanto alle proteine di base, amminoacidi questi preparati vengono facilmente utilizzati da enzimi, coenzimi, tRNA assemblando la sequenza proteica nelle strutture ribosomiali, favorendo e potenziando le attività di controllo genomico del DNA cellulare.

### **Fosforilazione ossidativa.**

La fosforilazione ossidativa rappresenta il culmine del metabolismo energetico negli organismi aerobici; tutte le tappe enzimatiche della degradazione ossidativa dei carboidrati, acidi grassi e amminoacidi nelle cellule aerobiche convergono sulla tappa finale della respirazione cellulare, in cui gli elettroni passano dagli intermedi catabolici all'ossigeno, generando l'energia necessaria alla sintesi di ATP da ADP e  $P_i$ .

Le nostre conoscenze sulla sintesi di ATP nei mitocondri e nei cloroplasti sono essenzialmente basate sull'ipotesi, proposta da Peter Mitchell nel 1961, in cui la trasduzione energetica avviene mediante la creazione di gradienti protonici transmembrana, conosciuta come teoria chemiosmotica e universalmente accettata.

Il processo della fosforilazione ossidativa ha origine nella catena di trasporto degli elettroni situata nei mitocondri; questi sono organelli delle cellule eucariotiche, la membrana mitocondriale esterna è facilmente permeabile a piccole molecole e a ioni; molti canali costituiti dalla proteina



porina consentono di attraversare la membrana alla maggior parte delle molecole con una massa molecolare a 5.000  $\mu$ .

La membrana mitocondriale interna è impermeabile a quasi tutti gli ioni e piccole molecole, compreso i protoni  $H^+$ ; le sole specie chimiche che possono attraversare la membrana sono quelle che possiedono uno specifico trasportatore inserito nella membrana stessa; in questa struttura sono localizzati anche i componenti della catena respiratoria e il complesso enzimatico che sintetizza ATP.

La maggior parte degli elettroni che entrano nella catena respiratoria mitocondriale è il frutto dell'azione di deidrogenasi che partecipano a reazioni come l'ossidazione del piruvato, il ciclo dell'acido citrico, la  $\beta$ -ossidazione degli acidi grassi e le tappe ossidative del catabolismo degli amminoacidi.

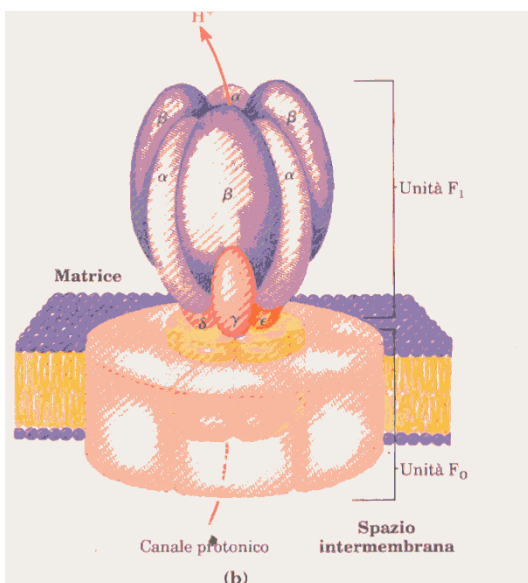
La catena respiratoria mitocondriale è costituita da una serie di trasportatori di elettroni, la maggior parte dei quali sono proteine integrali di membrana, contenenti gruppi prostetici in grado di accettare e di donare uno o due elettroni.

Alcune delle reazioni della sequenza della catena respiratoria comportano il trasferimento di un solo elettrone, mentre in altre vie vi è il trasferimento contemporaneo di due elettroni; oltre al NAD e alle flavoproteine, nella catena respiratoria operano altri tre gruppi di trasportatori di elettroni: un benzochinone idrofobico (ubichinone) e due tipi diversi di proteine contenenti ferro (i citocromi e le proteine ferro-zolfo).

## ATP sintasi.

Il complesso enzimatico che sintetizza l'ATP nella membrana interna dei mitocondri, è formato da due componenti principali chiamati  $F_0$  e  $F_1$ ;  $F_1$ , che in tutti gli organismi aerobici è costituito da sei subunità proteiche, contiene diversi siti di legame per l'ATP e ADP, compreso il sito catalitico in cui avviene la sintesi di ATP.

È un complesso proteico periferico integrale di membrana, composto da quattro polipeptidi diversi che formano un canale transmembrana attraverso il quale possono passare i protoni; fotografie al microscopio elettronico ad alta risoluzione del complesso  $F_0F_1$  hanno mostrato che la struttura ha la forma di un pomello dove  $F_1$  è la testa globulare e  $F_0$  è la base, normalmente inserita nella membrana. Vedi figura sotto riportata.



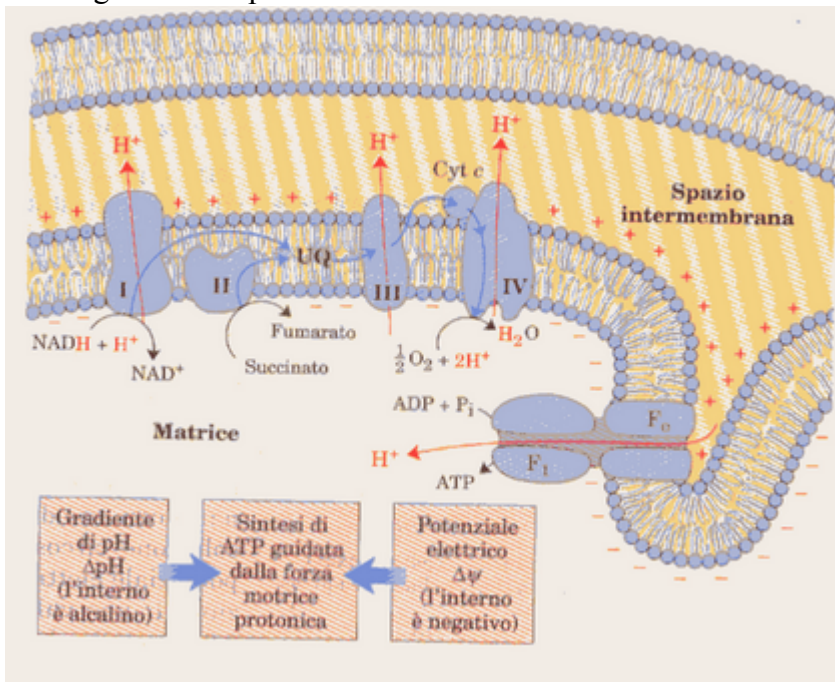
## Teoria chemiosmotica.

Il trasferimento degli elettroni lungo la catena respiratoria è accompagnato da un pompaggio di protoni attraverso la membrana mitocondriale interna, che porta alla formazione di una differenza di concentrazione in protoni e quindi di pH; la faccia che guarda verso la matrice della membrana diventa alcalina rispetto al lato citosolico della membrana stessa.

In linea generale l'energia elettrochimica di un gradiente transmembrana di una qualsiasi specie può essere considerata alla stregua di un legame chimico; l'energia conservata in questo gradiente è formata da due componenti: uno è l'energia potenziale chimica dovuta alla differenza di concentrazione della specie chimica

nelle due regioni separate da una membrana; l'altro è l'energia del potenziale elettrico che si genera dalla separazione delle cariche prodotta da uno ione che attraversa la membrana, senza che vi sia un flusso contrario di pari carica.

Vedi figura sotto riportata.



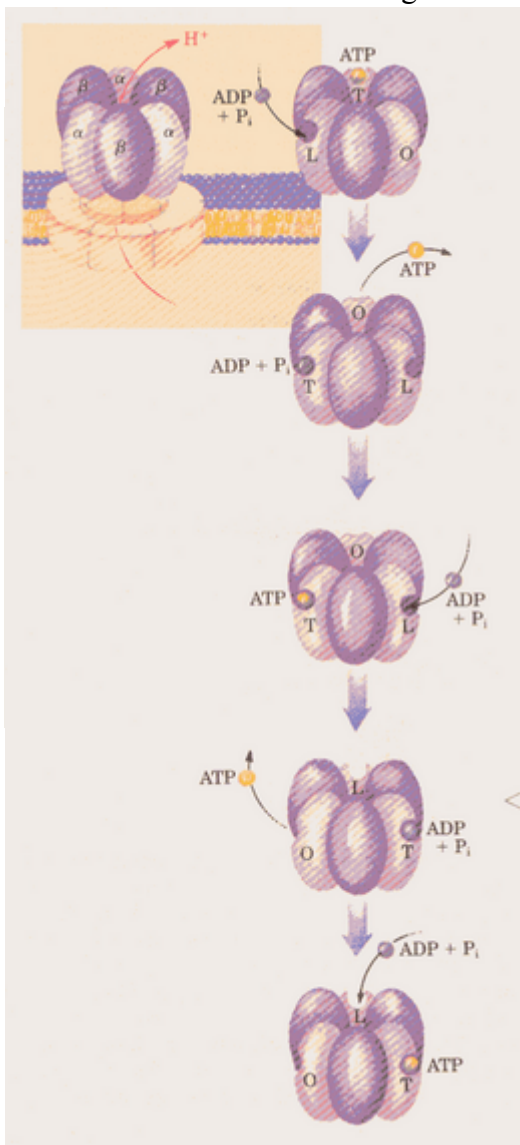
*Gli elettroni presenti sul NADH o su altri substrati ossidabili passano attraverso una catena di trasportatori (citocromi, ecc.) disposti in modo asimmetrico nella membrana.*

*Il flusso di elettroni è accompagnato da una traslocazione di protoni attraverso la membrana mitocondriale producendo un gradiente chimico ( $\Delta pH$ ) ed elettrico ( $\Delta \psi$ ).*

*La membrana mitocondriale interna è impermeabile ai protoni e per rientrare questi devono attraversare i canali proteici specifici del complesso  $F_0$ ; la forma motrice protonica che spinge i protoni verso la matrice fornisce l'energia per la sintesi di ATP, catalizzata dal complesso  $F_1$  associato ad  $F_0$ .*

*La membrana mitocondriale interna separa due*

compartimenti a pH diversi, con differenze quindi sia nella concentrazione di  $H^+$  ( $\Delta pH$ ) sia nella distribuzione delle cariche che genera un potenziale elettrico ( $\Delta \psi$ ).



Queste differenze generano la forza motrice protonica ( $\Delta G$ ) che può essere calcolata come è mostrato nella figura sotto riportata.

### Meccanismi molecolari della formazione di ATP.

Anche se è ormai chiaro che il gradiente transmembrana di protoni fornisce l'energia per la sintesi di ATP, non è stato ancora identificato come questa energia venga trasmessa all'ATP sintasi.

Ogni complesso  $F_1$  ha una composizione in subunità del tipo  $\alpha_3 \beta_3 \gamma \delta \epsilon$ ; il sito che lega saldamente l'ATP, apparentemente identico al sito catalitico, si trova sulla subunità  $\beta$  o forse nell'interfaccia tra le subunità  $\beta$  e  $\alpha$ . Ogni complesso  $F_1$  ha tre siti che possono sintetizzare ATP, che interagiscono con  $F_0$  mediante le singole coppie delle subunità  $\gamma, \delta, \epsilon$ ; in base ai dati cinetici dettagliati e a studi di legame delle reazioni catalizzate dal complesso  $F_0F_1$ , Paul Boyer suggerì un meccanismo come quello riportato in figura.

*Modello proposto per il meccanismo d'azione dell'ATP sintasi. L'enzima possiede tre siti di legame dei nucleotidi adeninici tra loro equivalenti, presenti a livello delle*

*interfacce tra le coppie di subunità  $\alpha$  e  $\beta$ ; in un dato momento, uno dei tre siti è nella conformazione T (legame forte), un altro è nella conformazione L (legame debole) e il terzo è nella conformazione O (legame molto debole).*

*All'inizio di un ciclo catalitico, il sito T è occupato da una molecola di ATP, mentre il sito L lega debolmente ADP e  $P_i$ .*

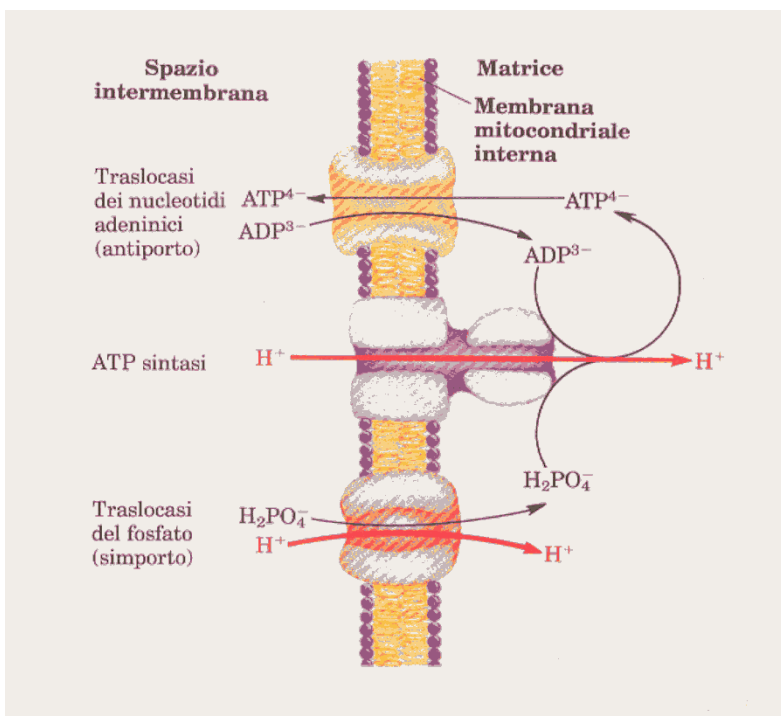
*La forza motrice protonica determina, forse mediante il flusso dei protoni attraverso il canale  $F_0$ , una modificazione conformazionale dell'enzima  $F_1$  in cui il sito T si converte in un sito O, con conseguente dissociazione dell'ATP e il sito L si converte in un sito T, dove ADP e  $P_i$  si condensano per formare ATP.*

*Il sito O diventa un sito L e lega anche se debolmente ADP e  $P_i$ ; per definire le proprietà di questo enzima è necessario quindi che si completi almeno un certo numero di cicli catalitici.*

*L'ATP non può essere rilasciato da un sito se ad un altro sito non vi sono legati ADP e  $P_i$ .*

La funzione principale di trasferimento degli elettroni nei mitocondri è quello di fornire energia per la sintesi di ATP durante la fosforilazione ossidativa, e questa energia può servire anche a favorire diversi processi di trasporto che sono essenziali per la fosforilazione ossidativa.

I sistemi di trasporto nella membrana mitocondriale interna sono descritti nella figura sotto riportata.



*L'ATP-ADP traslocasi è un antiporto; la stessa proteina trasporta l'ADP nella matrice e l'ATP all'esterno.*

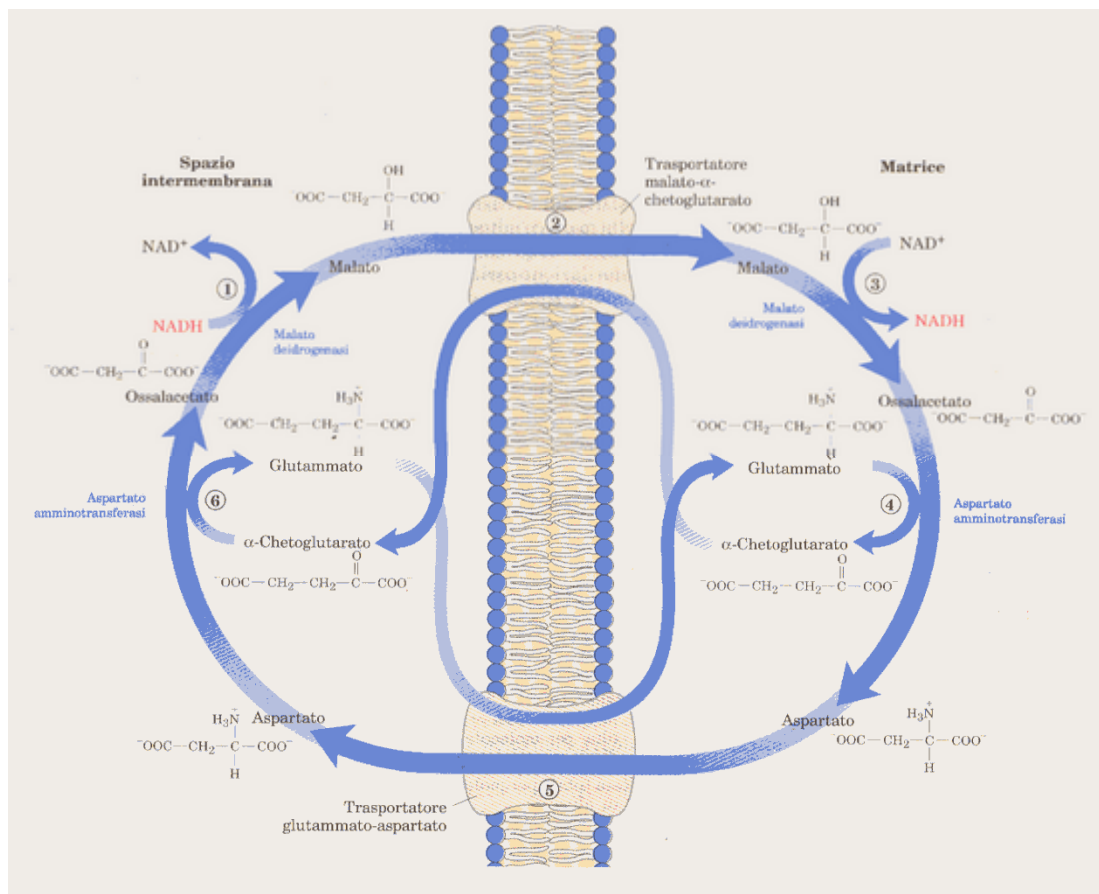
*Il trasporto, sostituendo una molecola di  $ATP^{4-}$  con una di  $ADP^{3-}$ , risulta in un efflusso di cariche negative, favorito dal fatto che la matrice è più negativa rispetto all'esterno.*

*A pH 7,  $P_i$  è presente sia sotto forma di  $HPO_4^{2-}$  che di  $H_2PO_4^-$ ; il sistema di trasporto che trasferisce  $P_i$  nella matrice è specifico per la forma  $H_2PO_4^-$ .*

*Durante l'azione di questo simporto di  $H_2PO_4^-$  e di  $H^+$  non vi è un flusso di cariche netto, ma la bassa concentrazione di protoni nella matrice favorisce il passaggio degli ioni.*

*Quindi la forza motrice protonica fornisce l'energia necessaria alla sintesi di ATP da parte dell'ATP sintasi, ma coopera anche a trasportare i substrati (ADP e  $P_i$ ) e nella matrice e i prodotti (ATP) fuori dai mitocondri.*

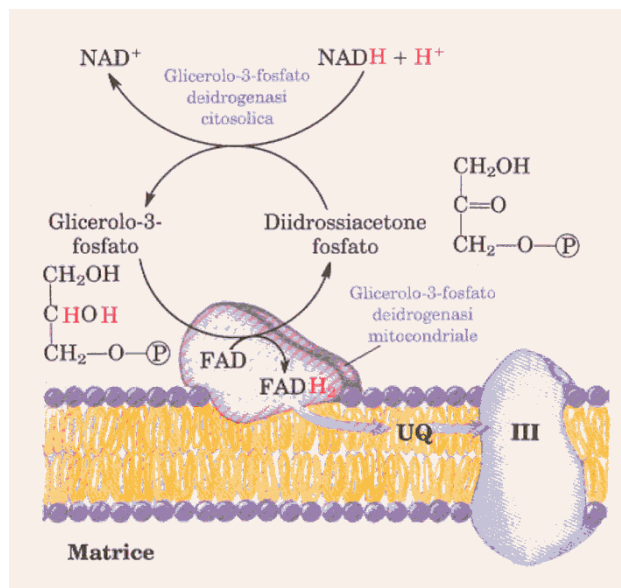
La NADH deidrogenasi della membrana mitocondriale interna delle cellule animali accetta elettroni solo da NADH presente nella matrice; dato che la membrana interna non è permeabile al NADH citosolico, speciali sistemi navetta (shuttle) trasportano gli equivalenti riducenti dal NADH citosolico all'interno dei mitocondri mediante una via indiretta, come illustrato nella figura sotto riportata.



**Spiegazione della figura sopra riportata.**

- 1): il NADH citosolico (spazio intermembrana) passa i suoi equivalenti riducenti all'ossalacetato, formando malato.
- 2): il malato viene trasportato all'interno attraverso la membrana del trasportatore malato- $\alpha$ -chetoglutarato.
- 3): nella matrice il malato trasferisce i suoi equivalenti riducenti al NAD<sup>+</sup>; il NADH così generato viene poi riossidato dalla catena respiratoria mitocondriale; l'ossalacetato, il prodotto di ossidazione del malato, non può ritornare direttamente nel citosol e quindi viene prima transaminato ad aspartato.
- 4): che può uscire dai mitocondri attraverso il trasportatore glutammato-aspartato.
- 5): ossalacetato viene rigenerato nel citosol.
- 6): il ciclo è così completato.

Nel muscolo scheletrico e nel cervello opera un altro tipo di sistema navetta, chiamato **shuttle del glicerolo-3-fosfato**, come illustrato nella figura sotto riportata.



*Il diossiacetone fosfato nel citosol accetta due equivalenti riducenti dal NADH citosolico in una reazione catalizzata dalla glicerolo-3-fosfato deidrogenasi, anche essa citosolica.*

*Un isozima della glicerolo-3-fosfato deidrogenasi legato alla faccia esterna della membrana mitocondriale interna trasferisce poi due equivalenti riducenti del glicerolo-3-fosfato presenti nello spazio intermembrana, all'ubichinone.*

*Da notare che questo shuttle non coinvolge sistemi di trasporto attraverso la membrana.*



## Regolazione della produzione di ATP.

Le principali vie cataboliche (glicolisi, ciclo dell'acido citrico, ossidazione degli acidi grassi e degli amminoacidi e fosforilazione ossidativa) sono interconnesse e concertate da meccanismi di regolazione che consentono loro di funzionare insieme in maniera economica e autoregolata per produrre ATP e precursori biosintetici.

Concentrazioni elevate di ATP (oppure basse di ADP e AMP) producono un rallentamento nella glicolisi, nell'ossidazione del piruvato e dell'ossidazione dell'acetato attraverso il ciclo dell'acido citrico e la fosforilazione ossidativa.

Le quattro vie tendono ad accelerare la loro velocità quando vi è un aumento dell'utilizzazione di ATP e quindi delle concentrazioni di ADP, AMP,  $P_i$ ; l'azione del citrato nell'inibire la glicolisi, si coordina con quella dei nucleotidi adeninici.

Inoltre un aumento dei livelli di NADH e di acetil-CoA porta all'inibizione dell'ossidazione del piruvato ad acetil-CoA e un rapporto  $(NADH)/(NAD^+)$  molto elevato è un segnale negativo per le deidrogenasi del ciclo dell'acido citrico.

Vi è un'eccezione alla regola generale che dice che la respirazione rallenta quando il rifornimento di ATP nella cellula è sufficiente; nella maggior parte degli animali, compreso l'uomo, i neonati hanno un tipo di tessuto adiposo chiamato grasso bruno, in cui l'ossidazione delle sostanze nutrienti non viene utilizzata per produrre ATP, ma per generare calore che serve a mantenere il corpo ad una temperatura costante.

Nella figura sotto riportata sono illustrati i meccanismi della glicolisi, dell'ossidazione del piruvato, del ciclo dell'acido citrico e della fosforilazione ossidativa innescati dalle concentrazioni di ATP, ADP, AMP e NADH.

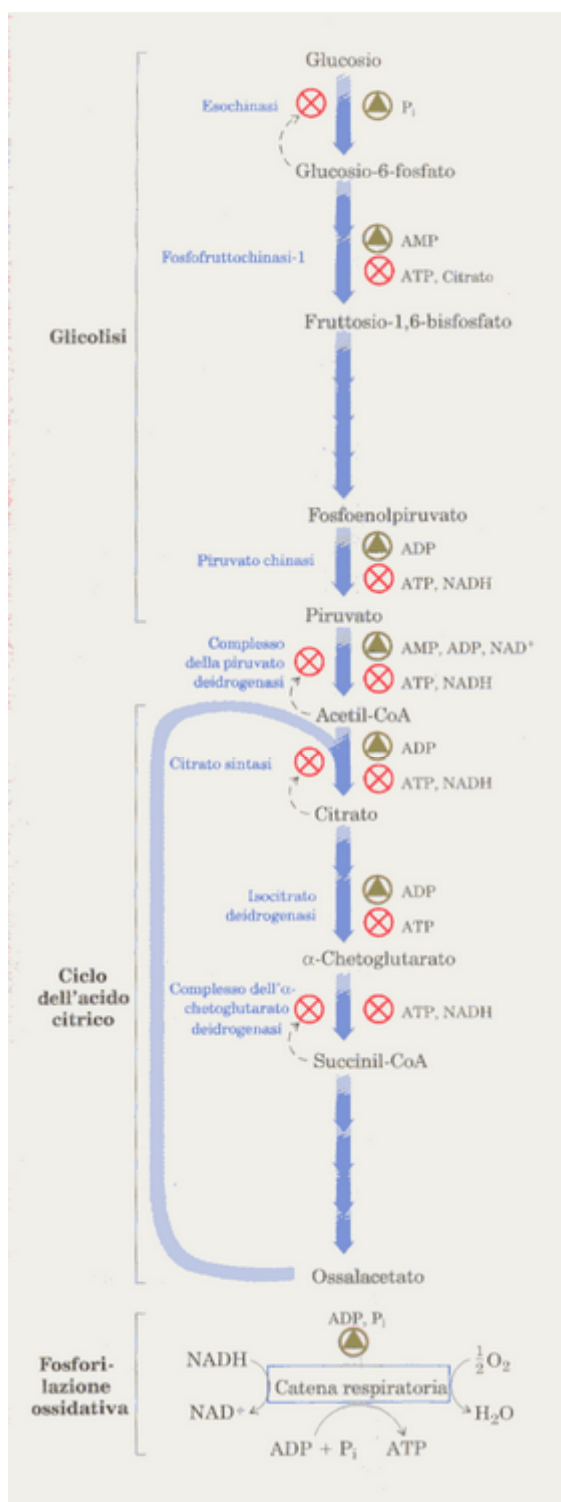
**In molti tipi di cellule tumorali, la coordinazione crociata descritta sembra essere difettosa: la glicolisi procede ad una velocità più elevata di quella che sarebbe richiesta dal ciclo dell'acido citrico.**

**Le cellule tumorali utilizzano molto più glucosio di quelle normali, ma non ossidano l'eccesso di piruvato prodotto dalla glicolisi, anche in presenza di ossigeno.**

**Per riossidare il NADH citosolico, la maggior parte del piruvato viene ridotto a lattato che poi esce da queste cellule e ritorna nel sangue.**

**Inoltre alcune di queste cellule tumorali esprimono in grandi quantità un isoenzima dell'esochinasi che aderisce alla faccia esterna della membrana mitocondriale interna e diventa insensibile all'inibizione da prodotto.**

**Questo enzima può monopolizzare tutto l'ATP prodotto dalla cellula, usato per sintetizzare il glucosio-6-fosfato e forzando la cellula a far funzionare la glicolisi in modo continuo.**





### *Mutazione nei geni e causa di malattie.*

**Sono molte le mutazioni nel DNA mitocondriale che causano una malattia nota come neuropatia ottica ereditaria di Leber (LHON).**

**Questa rara malattia genetica colpisce il sistema nervoso centrale compresi i nervi ottici, determina la perdita della visione bilaterale ed ha un esito molto rapido nei giovani.**

**La sostituzione di una singola base nel gene mitocondriale ND4 porta all'incorporazione, nella proteina del complesso IU, un residuo di His al posto del residuo di Arg; i mitocondri colpiti da questa mutazione sono in parte incapaci di trasferire elettroni dal NADH al coenzima Q.**

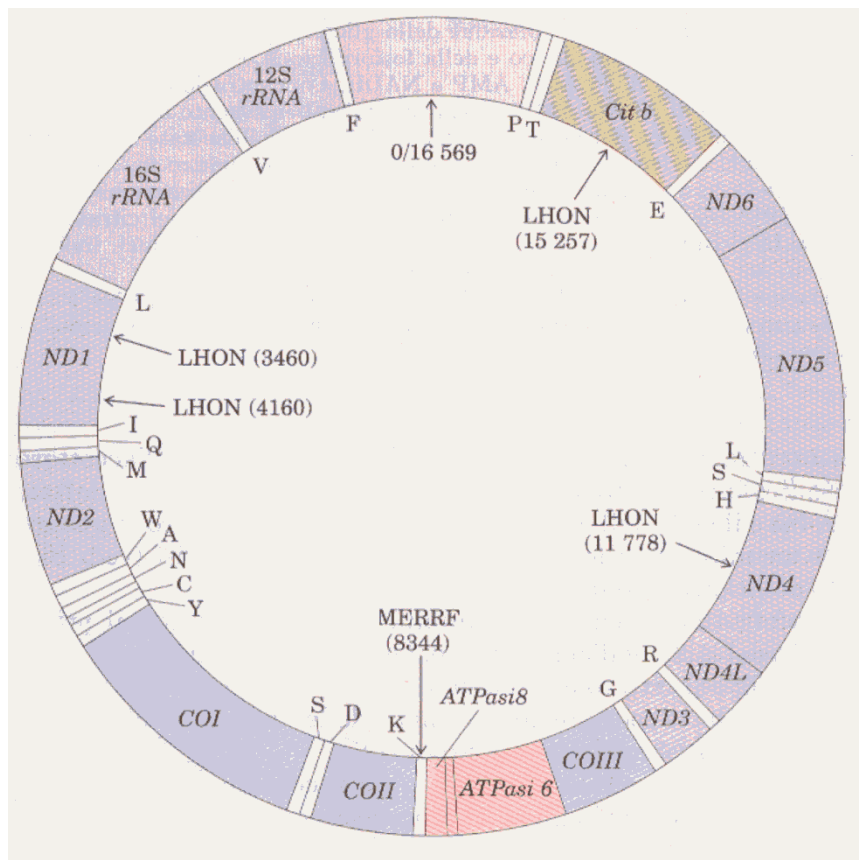
**Anche se questi mitocondri sono capaci di produrre ATP trasferendo elettroni all'ossigeno, non sembrano sufficientemente efficaci nel rifornire opportunamente il metabolismo molto rapido dei neuroni, il risultato di questa carenza è il danno del nervo ottico che porta alla cecità.**

**Un'altra malattia genetica umana, l'epilessia mioclonica e le malattie delle fibre rosse logore (MERRF) è causata da una mutazione del gene mitocondriale che codifica per un RNA transfer.**

**Questa malattia causata da scatti muscolari non controllabili è apparentemente il risultato della produzione difettosa di alcune proteine sintetizzate con l'aiuto di RNA transfer mitocondriali.**

**Le fibre del muscolo scheletrico dei pazienti affetti da MERRF hanno mitocondri di forma anormale che in qualche caso contengono strutture paracrystalline.**

Si rimette la mappa del DNA dei mitocondri umani che mostra i geni che codificano per le proteine del complesso I.



**La NADH deidrogenasi (da ND1 a ND6). Il citocromo b del complesso III (Cyt b), le subunità delle citocromo ossidasi (complesso IV) (COI a COIII) e due subunità dell' ATP sintasi (Atpasi 6 e Atpasi 8). Sono mostrati anche i geni per gli RNA ribosomiali (rRNA) e per un certo numero di RNA transfer specifici dei mitocondri.**

**Le frecce indicano posizioni in cui sono note le mutazioni della sequenza di basi che causano le patologie LHON e MERRF; i numeri tra parentesi indicano la posizione della base modificata; il nucleotide 1 è in alto.**

