

# ENZIMI

# REAZIONI CHIMICHE

Perché una reazione chimica avvenga devono essere soddisfatte tre condizioni:

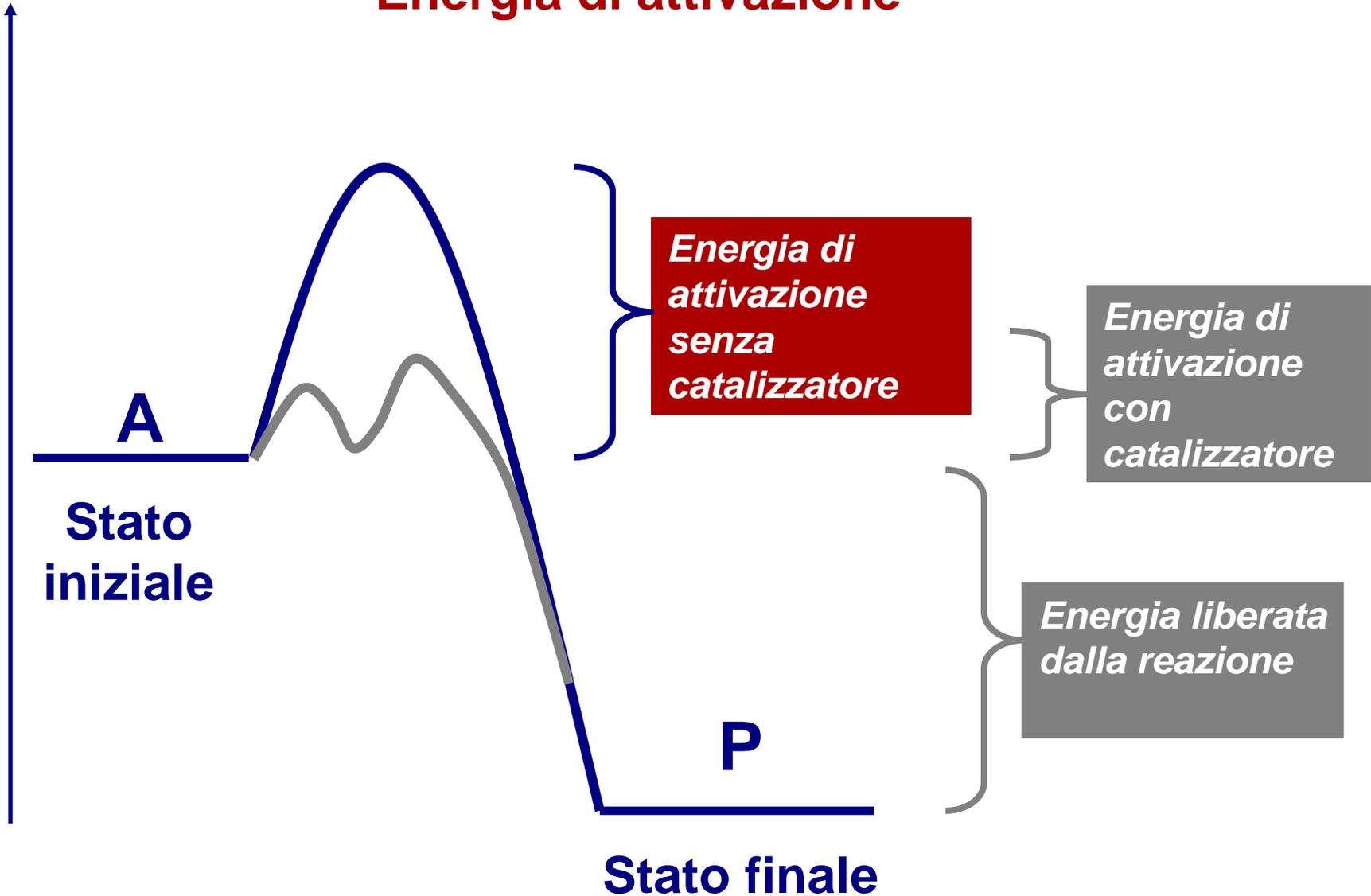
- I reagenti (substrati) devono entrare in collisione
- Le collisione tra le molecole dei reagenti devono avvenire con un orientamento corretto
- I reagenti devono avere una energia sufficiente che viene chiamata **ENERGIA di ATTIVAZIONE**

# 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

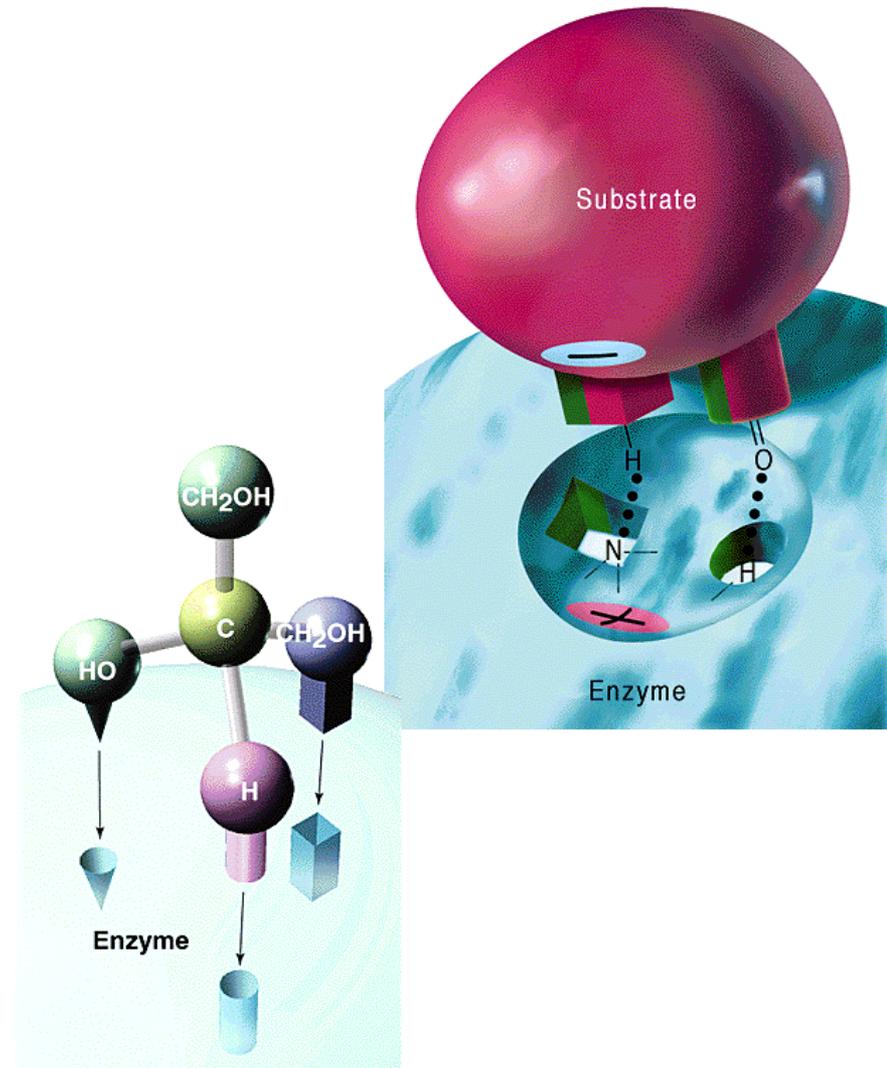
Energia di attivazione



# 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

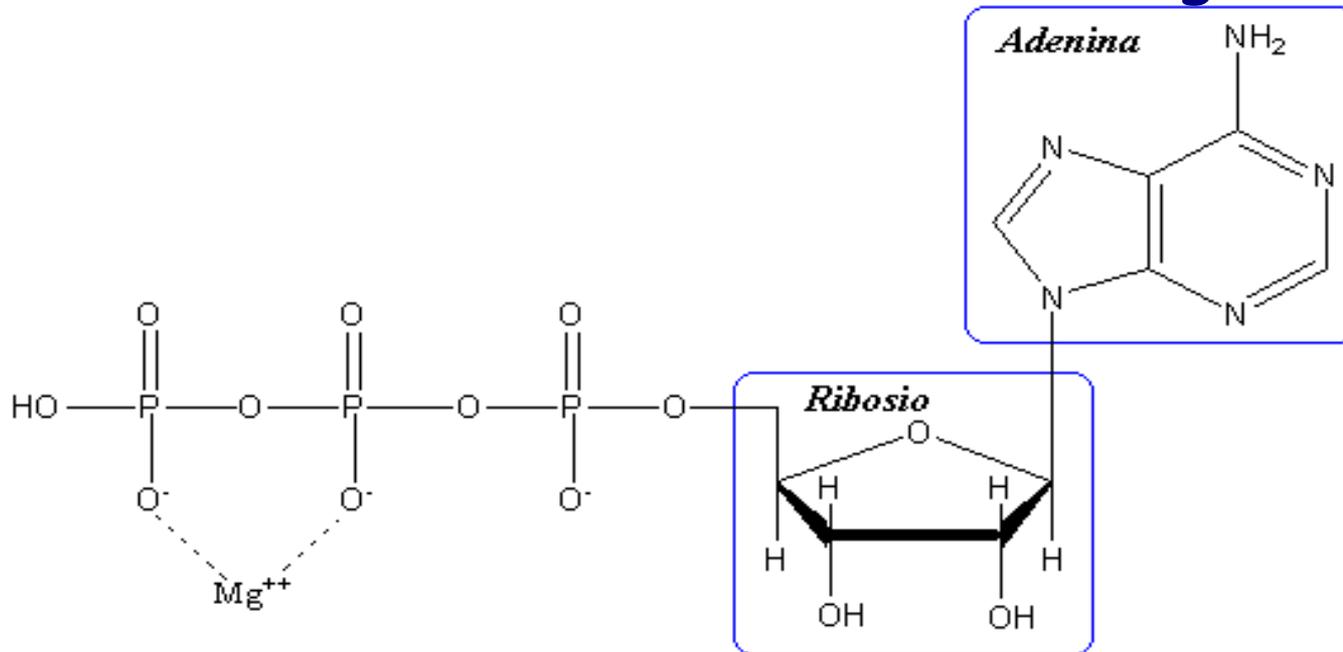
- **Coenzimi:** piccole molecole organiche, spesso derivate da vitamine, che mediano il legame tra enzima e substrato
- **Ioni metallici:** esempio Fe, Zn, Cu, Mn, stabilizzano la proteina e possono funzionare come accettori o donatori di elettroni

# 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

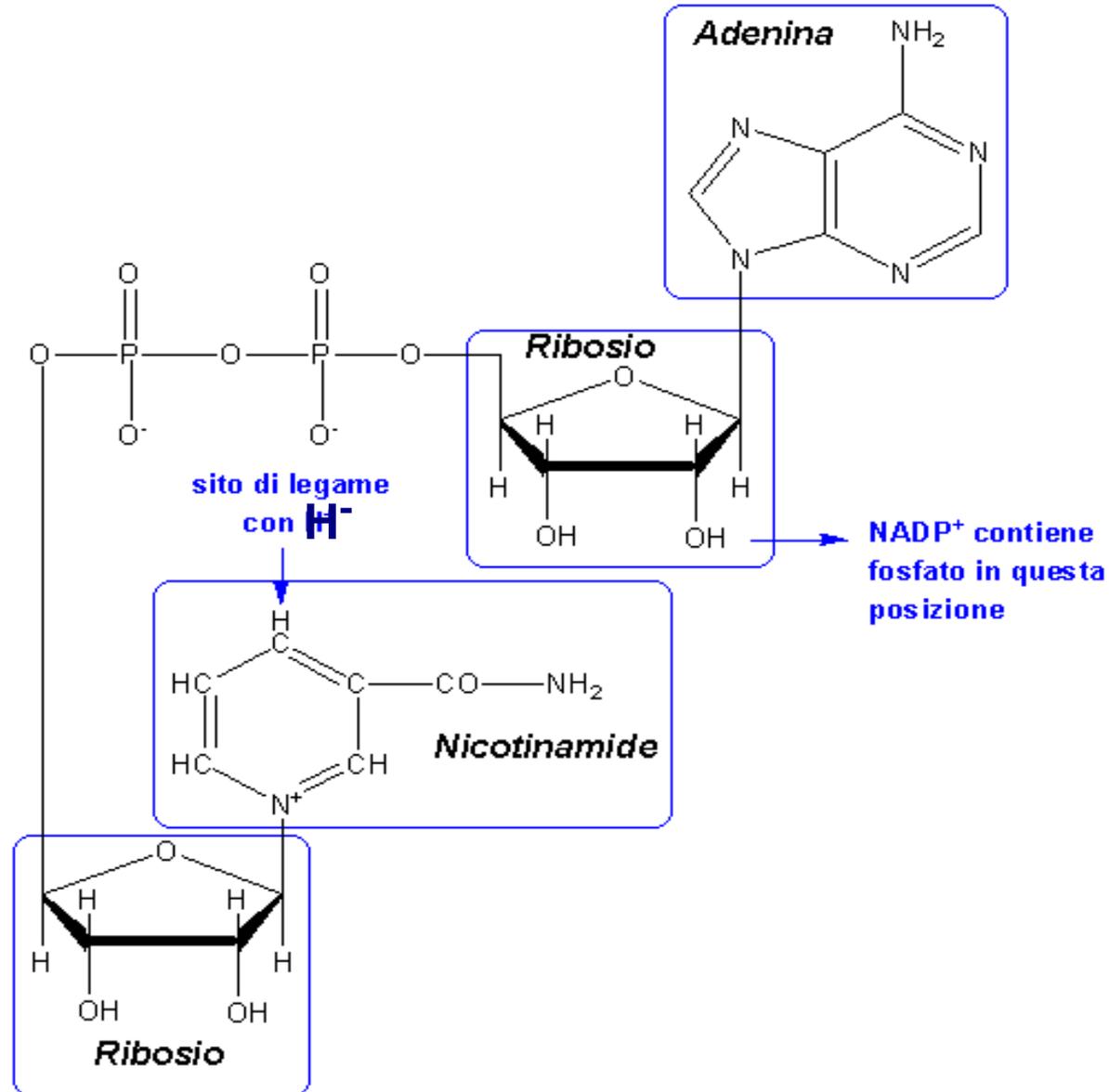


## Nicotinamide Adenina Dinucleotide (NAD<sup>+</sup>)

- **Coenzima di deidrogenasi**
- **Derivato da niacina**
- **Trasferisce un H<sup>-</sup>:**

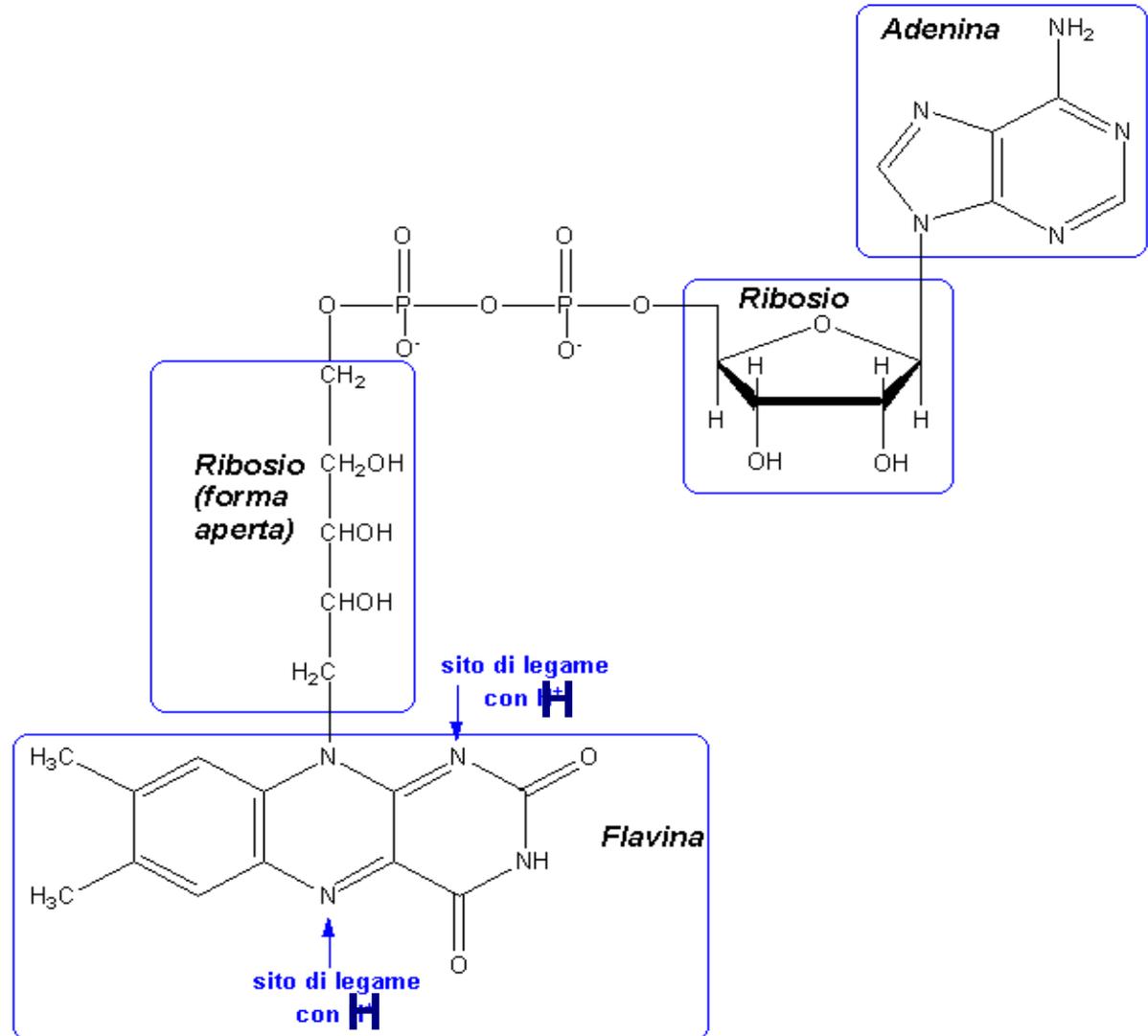
**Es: lattato + NAD<sup>+</sup> ⇌  
piruvato + NADH + H<sup>+</sup>**

- **Esiste una forma fosforilata NADP<sup>+</sup>**



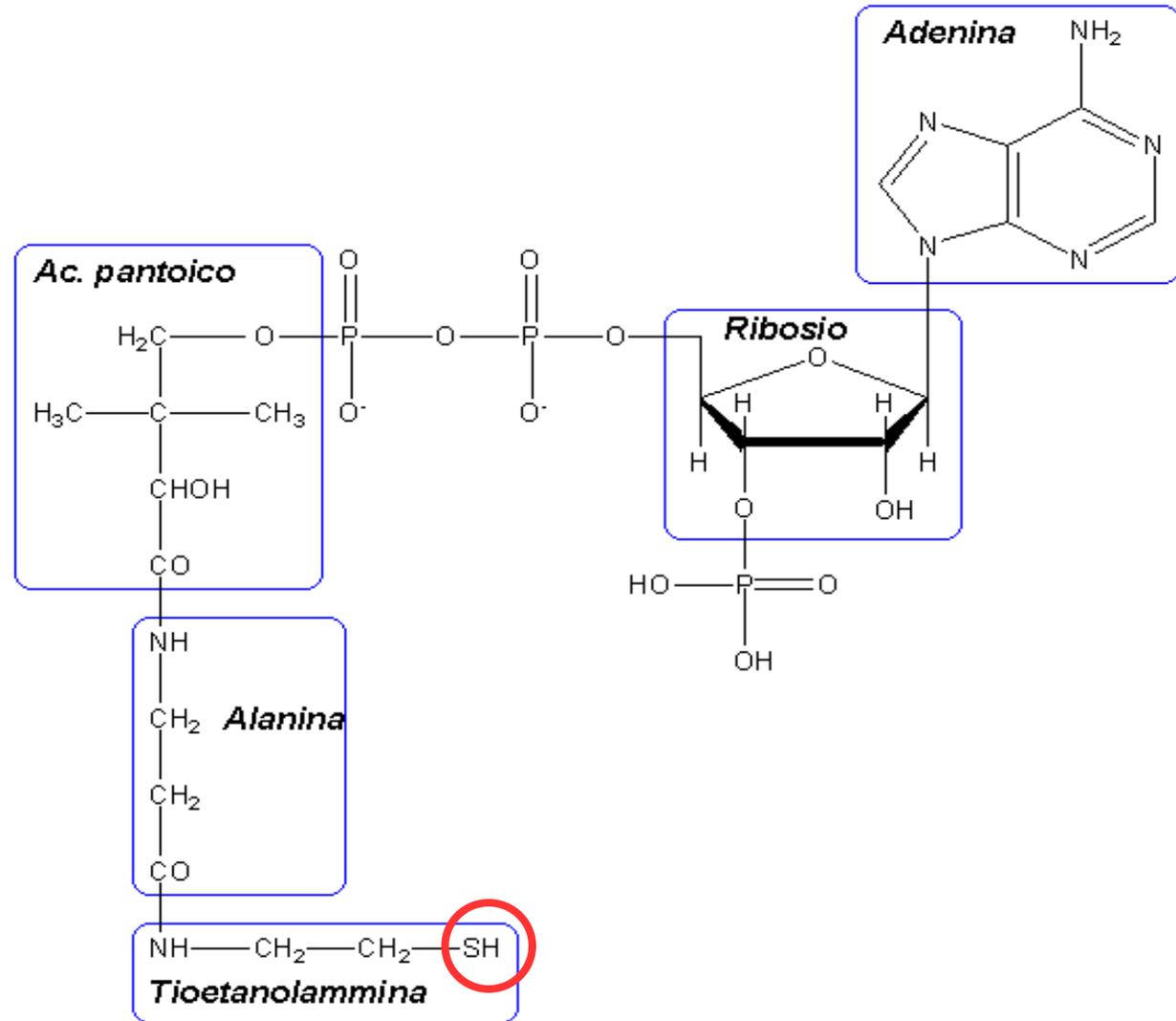
# Flavina adenina dinucleotide (FAD)

- **Coenzima di deidrogenasi**
- **Derivato da riboflavina (vit. B<sub>2</sub>)**
- **Trasferisce due atomi di idrogeno da/a substrati**
- **Esempio: Succinato + FAD  $\rightleftharpoons$  Fumarato + FADH<sub>2</sub>**



# 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

# Modulazione dell'attività dell'enzima

➤ **pH**

➤ **Temperatura**

➤ **Concentrazione del substrato**

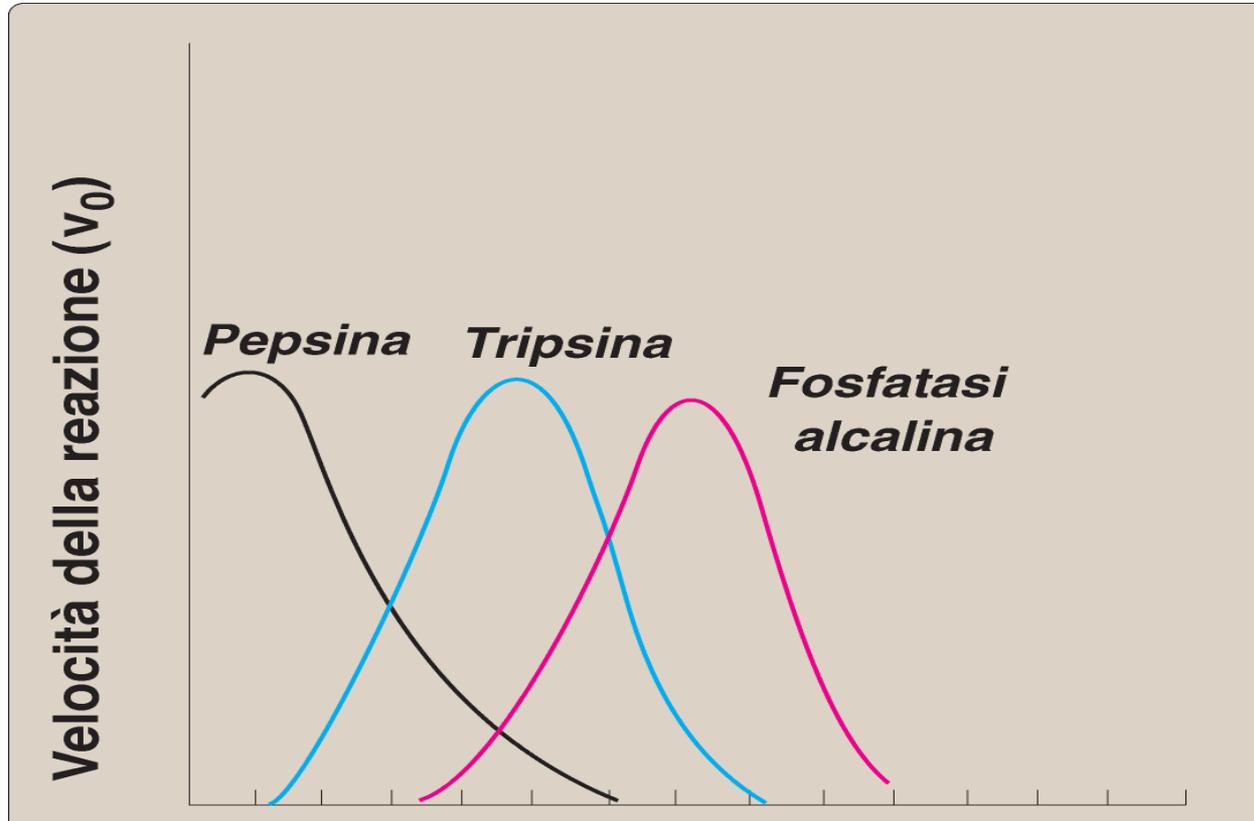
➤ **Inibizione reversibile ed irreversibile:**

- **Competitiva**
- **Non-competitiva**

➤ **Modificazioni allosteriche**

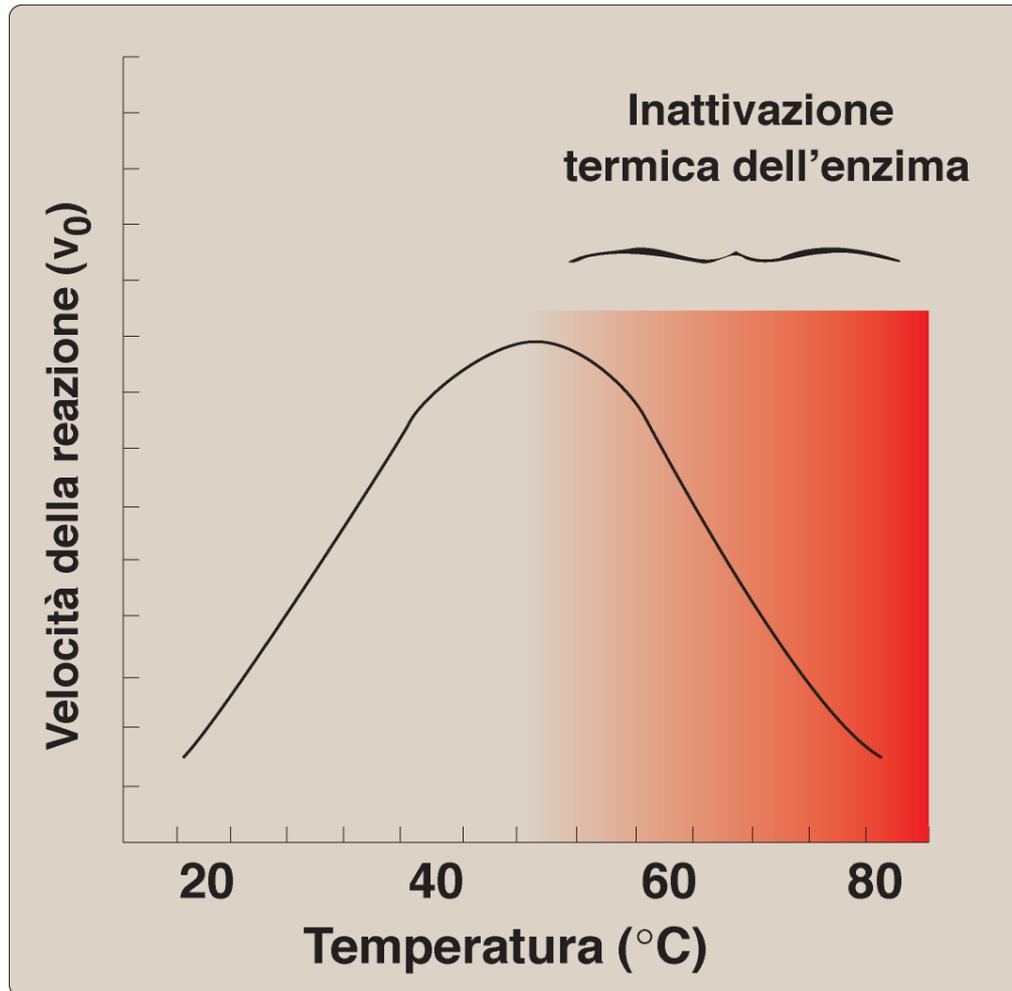
➤ **Modificazioni covalenti**

# pH e attività enzimatica



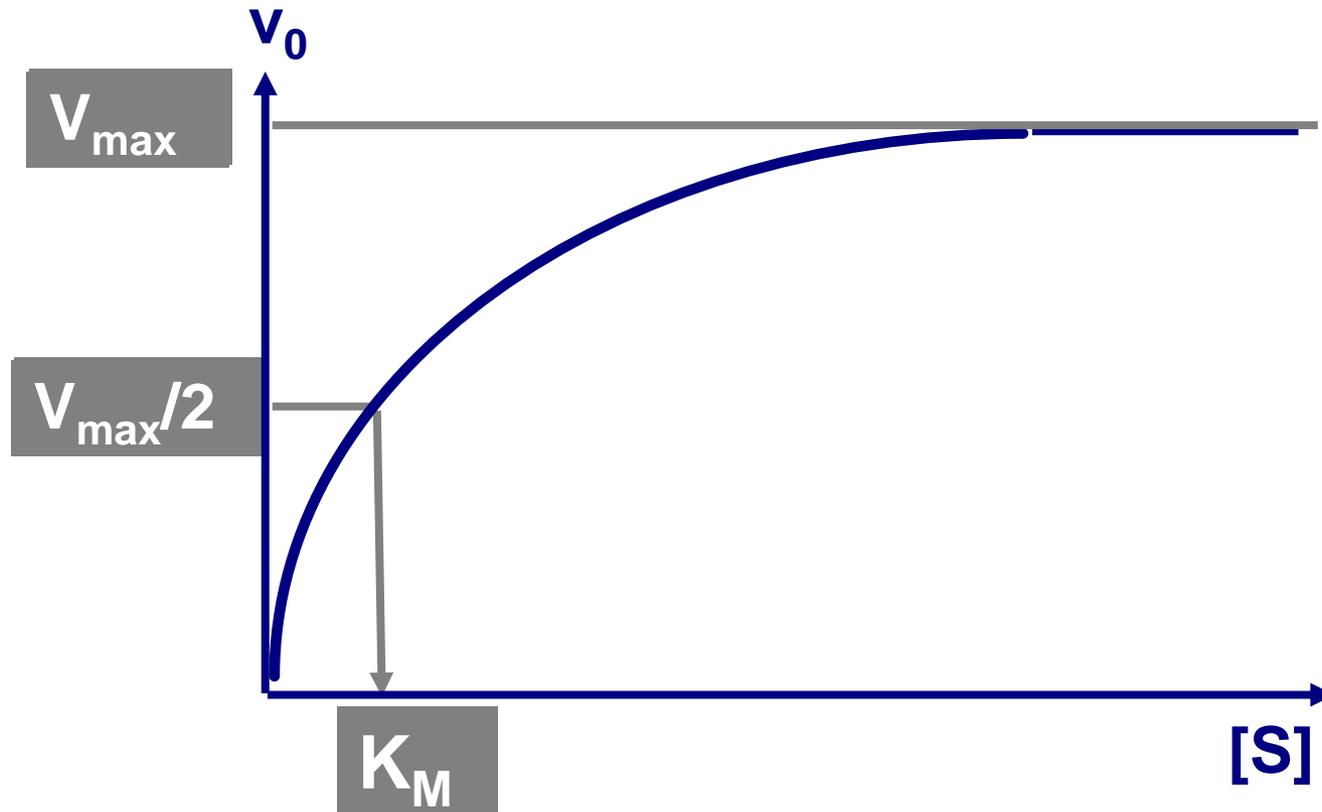
pH

# Temperatura e attività enzimatica



➤ Per ogni enzima esiste una temperatura ottimale

# Correlazione tra la velocità iniziale di una reazione e la concentrazione del substrato



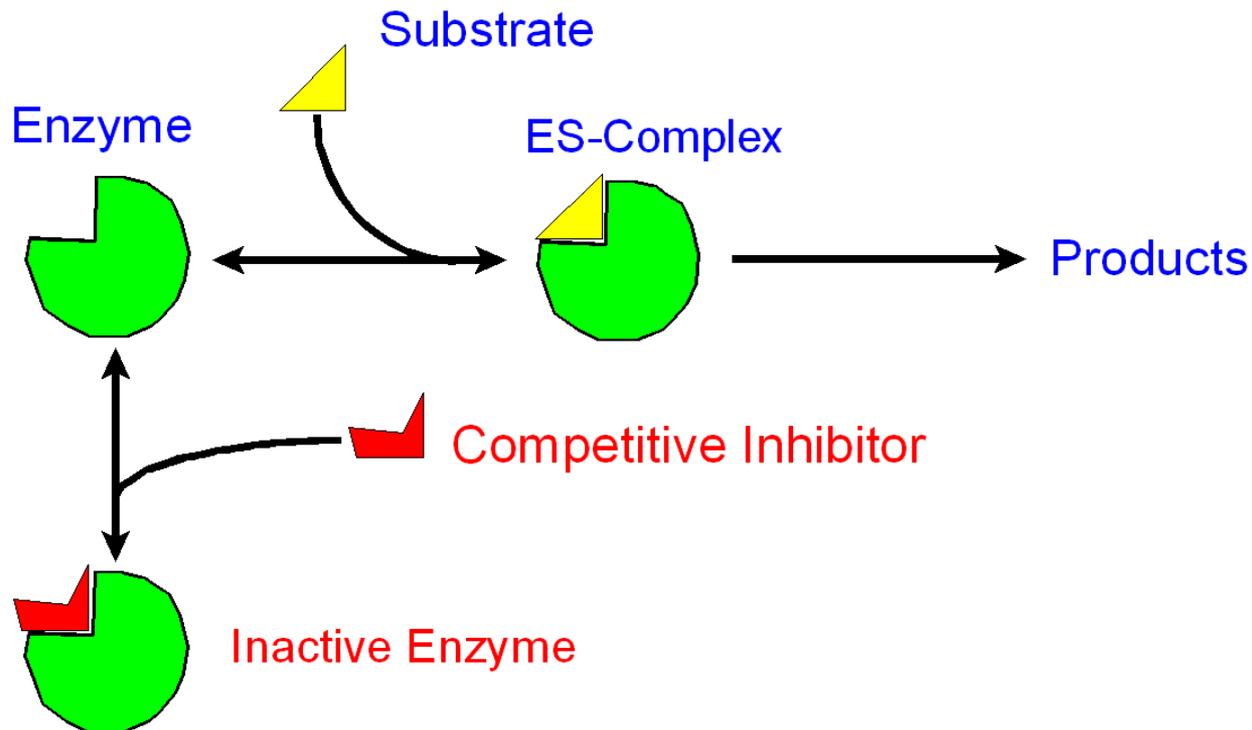
La velocità tende ad un valore massimo che viene raggiunto a concentrazioni di substrato tali da saturare tutte le molecole di enzima presenti

# INIBIZIONE COMPETITIVA

## reversibile

L' **inibitore competitivo** e' strutturalmente simile al substrato

L' **inibitore competitivo** si lega nel sito attivo al posto del substrato



# Inibizione enzimatica competitiva

Esempio di terapia medica basata sull'inibizione competitiva:

- Avvelenamento da metanolo:

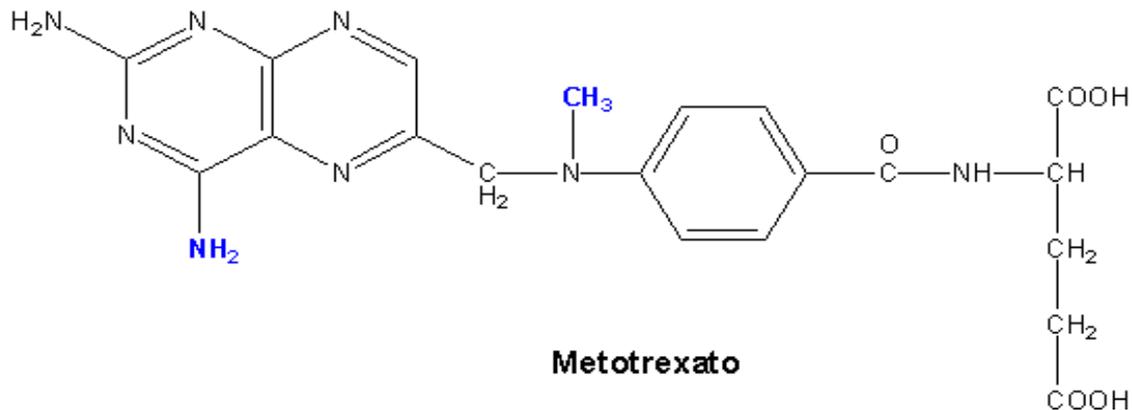
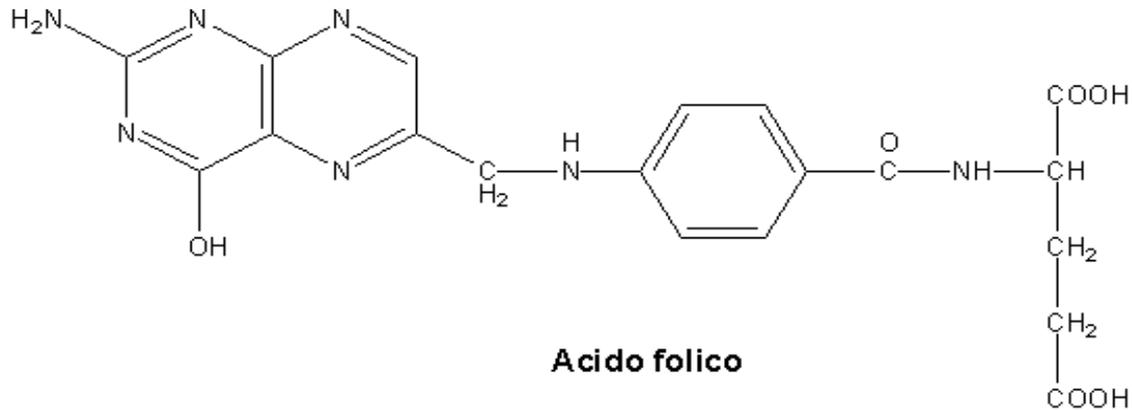


Infusione intravenosa di :

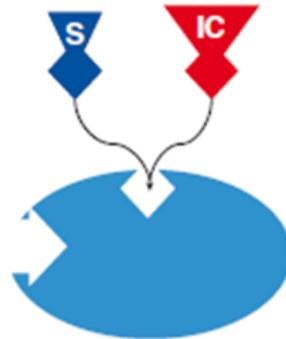


# Esempi di inibizione enzimatica competitiva

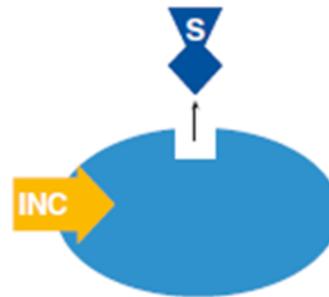
**Metotrexato o antifolato, antileucemico che rallenta la biosintesi di purine e pirimidine**



**Inibitore  
competitivo**



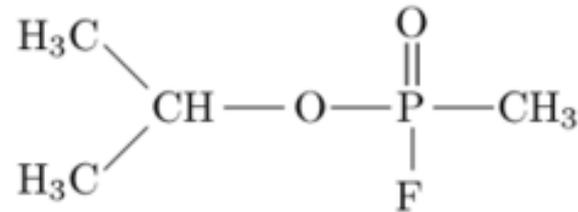
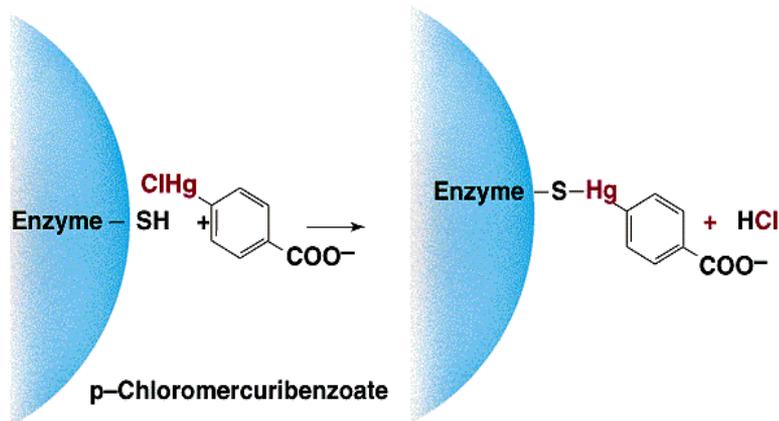
**Inibitore  
non competitivo**



**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.

## Esempi di inibizione irreversibile

- 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)



DIPF

# Farmaci come inibitori enzimatici clinicamente utili

Alcuni esempi:

- **Inibitori della Cyclooxygenase** come antiinfiammatori, particolarmente utili es nella terapia artrite (aspirina; ibuprofen)
- **Inibitori di HMG-CoA Reductase** per il trattamento della ipercolesterolemia (atorvastatin; pravastatin)
- **Inibitori dell' Angiotensin Converting Enzyme (ACE)** per il controllo della pressione arteriosa, terapia malattie cardiovascolari e dell'insufficienza renale cronica (captopril; ramipril)

# ATTIVAZIONE ENZIMATICA IRREVERSIBILE COVALENTE

Alcuni enzimi vengono attivati irreversibilmente per proteolisi limitata specifica (attivazione degli zimogeni):

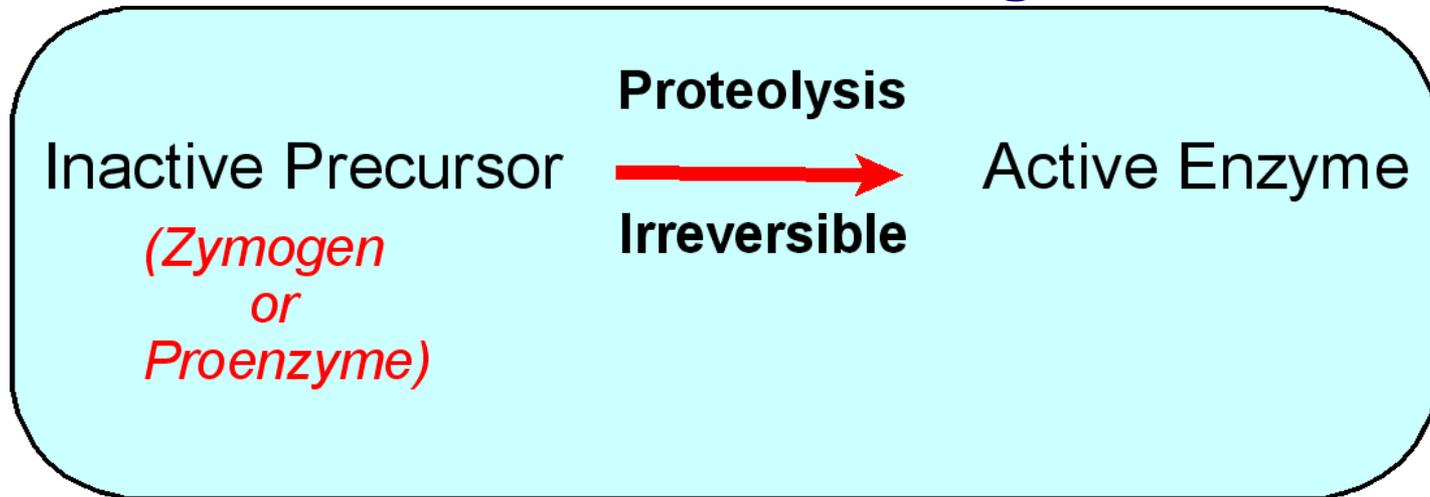
- TRIPSINOGENO → TRIPSINA
- CHIMOTRIPSINOGENO → CHIMOTRIPSINA
- PEPSINOGENO → PEPSINA
- ENZIMI DELLA COAGULAZIONE DEL SANGUE

Anche altre proteine non enzimatiche possono essere rese funzionali per proteolisi limitata:

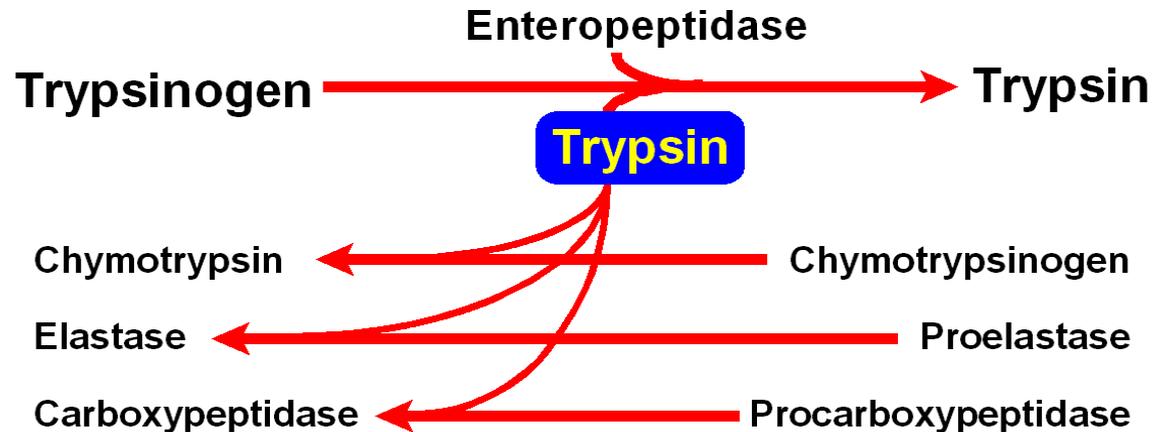
- PROCOLLAGENE → COLLAGENE
- PROINSULINA → INSULINA

# Regolazione dell'attività enzimatica mediante proteolisi

## Attivazione di zimogeni

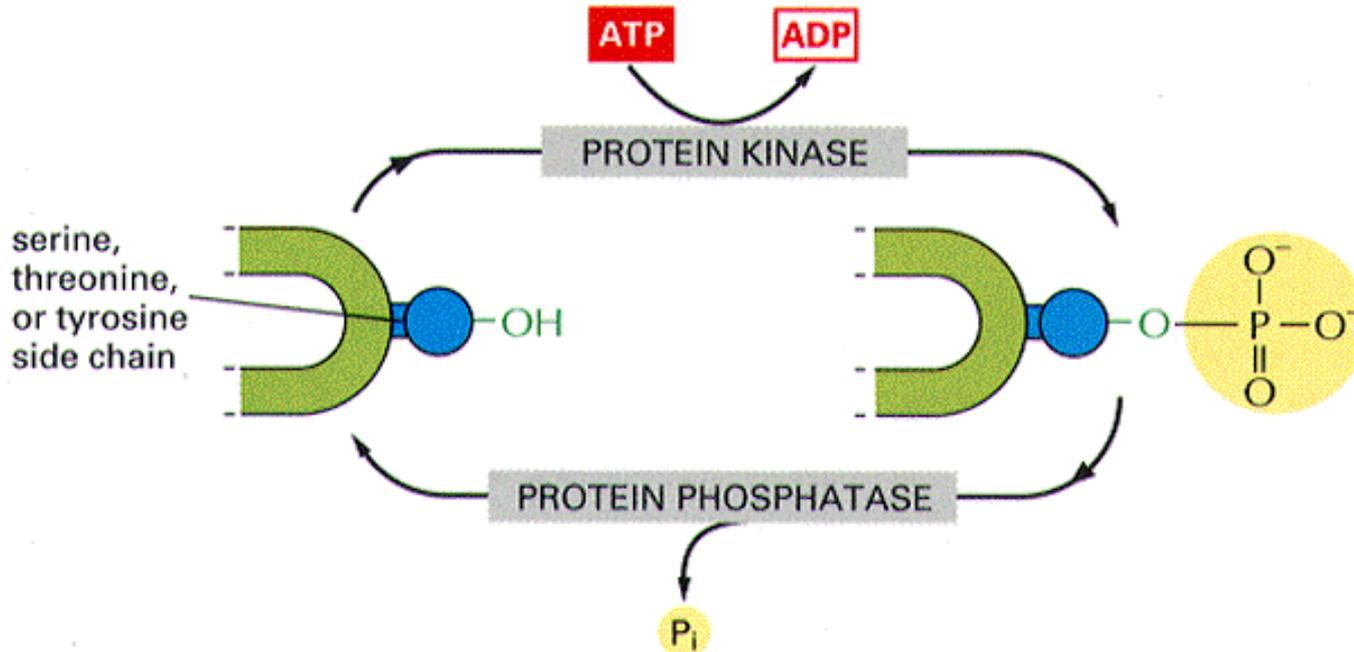


### Esempio:



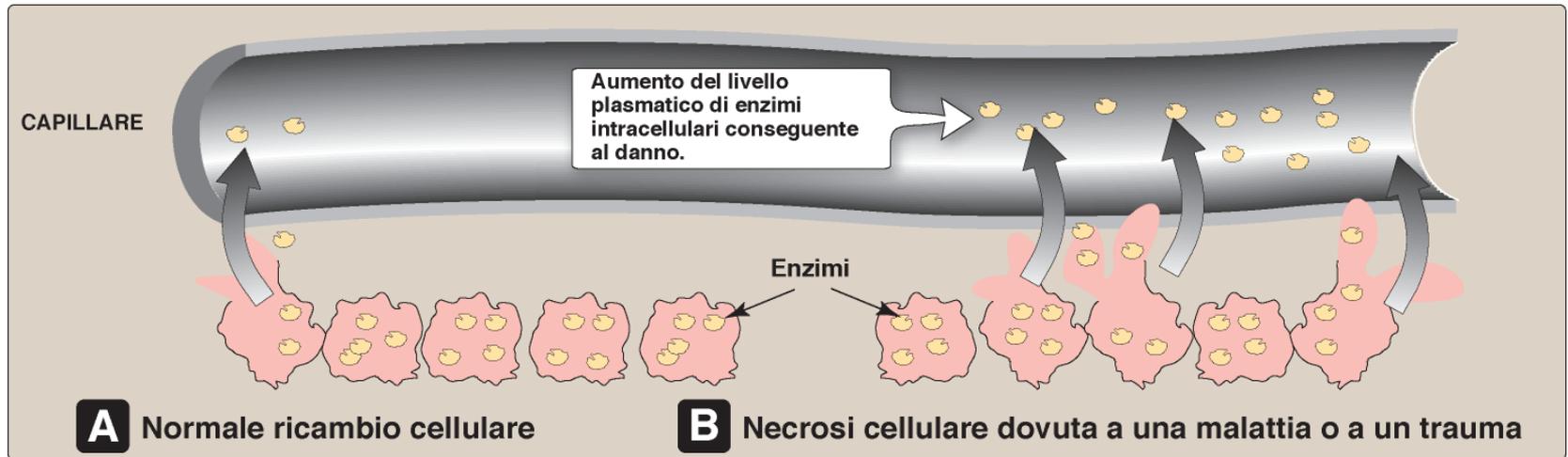
# Regolazione dell'attività enzimatica: **Modificazione degli enzimi mediante Fosforilazione**

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



# 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 alla lesione di quel tessuto.



**Importanza diagnostica**

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

## Esempio: Infarto miocardico

