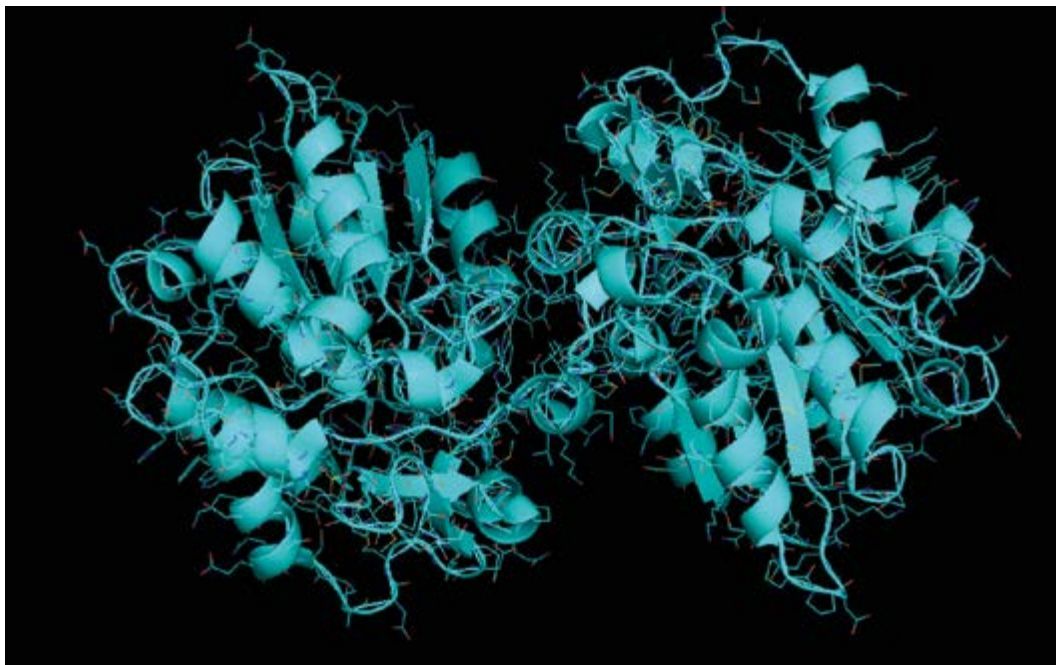


ENZIMI IN BIOLOGIA

Mario Pezzella



Gli organismi viventi producono una quantità di enzimi che cooperano al mantenimento della vita catalizzando e regolando molti processi metabolici fondamentali. In base agli studi sulla fermentazione e sulla digestione condotti nel 19° secolo Joseph Gay Lussac dimostrò che l'etanolo e la CO_2 sono i principali prodotti della decomposizione dello zucchero da parte del lievito, Jacob Berzelius osservò che un estratto di malto catalizzava l'idrolisi dell'amido in modo più efficace dell'acido solforico e Louis Pasteur affermò che il processo di fermentazione poteva avvenire solo sulle cellule viventi.

Nel 1878 il fisiologo tedesco Wilhem Kühne adottò per la prima volta il termine di enzima dal greco $\epsilon\nu\ \zeta\acute{\upsilon}\mu\omega$, nel lievito, per affermare che nel lievito vi era una sostanza che catalizzava la reazione di fermentazione.

Nel 1897 Buchner ricevette il premio Nobel per le ricerche biochimiche e la scoperta della fermentazione alcolica indipendente dalla cellula ma per opera di un estratto cellulare. Nel

1926 fu dimostrata da James Sumner la natura proteica degli enzimi e la loro purificazione mediante le metodiche di cristallizzazione aprendo la strada alla biologia strutturale con cristallografia a raggi X. La maggior parte delle nostre conoscenze è stata infatti ottenuta nella seconda metà del Novecento quando furono adottate nuove e più sofisticate tecniche di studio delle proteine.

Nel 1963 fu resa nota la sequenza amminoacidica dell'enzima ribonucleasi del pancreas bovino e, due anni dopo la struttura ai raggi X del lisozima dell'albume dell'uovo.

Gli enzimi sono catalizzatori biologici, costituiti nella quasi totalità da proteine che senza subire variazioni producono un incremento della velocità di reazione di una determinata reazione chimica abbassando la barriera di energia libera che separa i reagenti dai prodotti. Dalla osservazione che gli enzimi hanno una notevole stereospecificità di substrato catalizzando reazioni chimiche in cui distinguono l'uno dall'altro gli

enantiomeri, immagini speculari non sovrapponibili di una stessa molecola o gruppi chimici quasi identici, nel 1894 Herman Emil Fischer formulò l'ipotesi della serratura e della chiave secondo cui l'enzima (serratura) ed il substrato (chiave) possiedono una forma ad incastro con perfetta complementarità geometrica e fisica. Secondo questa ipotesi i siti di legame sono prestrutturati e nessun cambio conformazionale è dovuto al legame del substrato.

Il modello della chiave e della serratura col progredire degli studi non risultò esauriente nella spiegazione dell'esistenza dello stato di transizione che l'enzima raggiunge durante il legame con il substrato.

Detto modello è stato poi superato quando è stato evidenziato che i siti di legame del substrato sono in genere preformati e che un certo grado di adattamento indotto e cambio conformazionale dovuto al legame col substrato è sempre presente.

La specificità della catalisi enzimatica deriva dal fatto che le reazioni catalizzate avvengono in un incavo della molecola enzimatica chiamato sito attivo in cui si individuano un sito di legame costituito dagli amminoacidi che vengono a contatto con il substrato ed un sito catalitico comprendente gli amminoacidi disposti ed orientati in modo opportuno per legare i substrati e promuovere la loro trasformazione nei prodotti, essendo direttamente responsabili dell'evento catalitico vero e proprio.

Gli enzimi possiedono essi stessi una selettività geometrica per l'identità dei gruppi chimici presenti nel substrato che può variare considerevolmente specialmente quando i substrati sono svariati come nel caso degli enzimi digestivi. Per la catalisi di reazioni di ossido-riduzione e di trasferimento di gruppi chimici gli enzimi si associano a piccole molecole, chiamate cofattori, costituiti da ioni metallici (Cu^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+}) oppure molecole organiche di piccole dimensioni note come coenzimi.

È quindi chiamato oloenzima il complesso enzima-cofattore cataliticamente attivo mentre l'apoenzima è la proteina inattivata a seguito

della rimozione del cofattore. Molte vitamine sono precursori di coenzimi. Molti organismi non sono in grado di sintetizzare alcuni coenzimi o parti di essi.

Tali parti devono essere ottenute dalla dieta attraverso le vitamine. Le vitamine precursori di coenzimi sono tutte idrosolubili mentre quelle liposolubili come la vitamina A e D non sono componenti di coenzimi.

Il ruolo degli enzimi biologici consiste quindi nel ridurre l'energia libera dello stato di transizione stabilizzandolo e quindi velocizzando la reazione attraverso l'interazione tra il substrato ed il sito attivo con formazione del complesso enzima-substrato. Avvenuta la reazione, l'enzima si separa dal prodotto rimanendo disponibile per una nuova reazione di catalisi.

Gli enzimi non sono quindi consumati dalla reazione che catalizzano, né alterano l'equilibrio chimico della reazione. Questa situazione determina la caratteristica più tipica degli enzimi che è quella della specificità di reazione dal momento che riconoscono selettivamente i substrati rispetto ad altre molecole e producono risultati con altissime rese e scarsa formazione di prodotti collaterali. Alte temperature o alte concentrazioni saline riducono l'attività enzimatica mentre alte concentrazioni di substrato tendono a incrementare l'attività.

Secondo la banca dati della *ExplorEnz* della IUBMB, (*International Union of Biochemistry and Molecular Biology*) istituita presso il *Trinity College Dublin* nel 2005, nell'eseguire la classificazione funzionale e sistematica e la loro denominazione, sono state individuate, ai nostri giorni, oltre 6000 reazioni biochimiche catalizzate da enzimi suddivisi in 6 classi (tab. 1).

Dalla tabella si può rilevare che le reazioni enzimatiche conosciute più numerose sono quelle relative alla prima e seconda classe costituite da ossido riduttasi e transferasi mentre le ligasi sono le meno rappresentate. La IUB "*International Union of Biochemistry*" ha dato le basi nella classificazione degli enzimi considerando che la caratteristica più importante di un enzima è il suo potere catalitico fornendo in-

Tabella 1**CLASSE DI ENZIMI. REAZIONI CATALIZZATE**

	Class 1 (Oxidoreducta)	Class 2 (Transferases)	Class 3 (Hydrolases)	Class 4 (Lyases)	Class 5 (Isomerases)	Class 6 (Ligases)	All Classes
Current:	1570	1662	1296	591	256	185	5560
Transferred:	220	70	281	66	9	5	651
Deleted:	78	70	105	31	8	7	299
Total	1868	1802	1682	688	273	197	6510

Tabella 2**NOMENCLATURA DEGLI ENZIMI****NOMENCLATURA DEGLI ENZIMI****REAZIONI CATALIZZATE**

Ossidoriduttasi

Reazioni di ossidoriduzione

Transferasi

Transferimento di gruppi funzionali

Idrolasi

Reazioni di idrolisi

Liasi

Reazioni di eliminazione con formazione di doppi legami

Isomerasi

Isomerizzazioni

Ligasi

Formazione di legami accoppiata all'idrolisi di ATP

formazioni sulla reazione catalizzata e non sulla sua struttura (tab. 2).

Anche se la più parte dei catalizzatori biologici sono proteine sono da citare i ribozimi. Nel 1980 Thomas R. Cech dimostrò che anche l'RNA era chiaramente coinvolto in un processo catalitico e per tale scoperta nel 1989 ebbe il premio Nobel. Sono note molecole ad attività inibente della capacità catalitica come molti farmaci e veleni ed anche molecole attivatrici degli enzimi in grado di aumentarne l'attività.

Gli inibitori sono spesso utilizzati come farmaci, ma possono agire anche come veri e propri veleni essendo la differenza tra farmaco e veleno esclusivamente una questione di dose del composto. La maggior parte dei farmaci, infatti, se somministrati ad alte dosi può risultare tossica, come già Teofrasto Paracelso evidenziò nel XVI secolo. Nei suoi dieci libri degli Archidoxa. Paracelso sviluppò un'alchimia basata sulla ricerca di elisir utili alla salute dell'uomo e osservò che "In tutte le cose c'è un veleno, e

senza un veleno non c'è nulla".

Il principio della dose è lo stesso per cui gli antibiotici e gli altri agenti anti-infezione sono veleni per il patogeno e non per l'organismo umano. Un esempio di inibitore utilizzato come farmaco è l'aspirina, che inibisce l'attività delle ciclossigenasi COX-1 e COX-2 che producono le prostaglandine mediatori della infiammazione. Una caratteristica molto importante degli enzimi è quella di catalizzare i singoli passi della via metabolica in cui il prodotto di ogni reazione intermedia diventa substrato per l'enzima successivo.

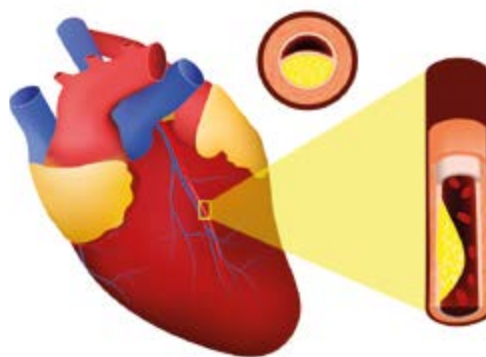
Nel siero è possibile mettere in evidenza diverse attività enzimatiche per cui gli enzimi sono correntemente utilizzati come indicatori diagnostici per l'accertamento di lesioni e/o alterazioni della funzionalità di organi. Alcuni enzimi sierici svolgono le loro attività biologiche direttamente nel plasma come quelli della coagulazione del sangue mentre altri agiscono nei liquidi organici come gli enzimi pancreatici, amilasi e lipasi, prodotti da ghiandole a secrezione esterna comunque rilevabili in circolo.

La maggior parte degli enzimi sono riscontrabili nel siero a concentrazioni molto basse a causa dell'efficienza dei sistemi di membrana. Le variazioni dell'attività sierica degli enzimi di origine cellulare costituiscono il fondamento della diagnostica enzimatica.

Tra i più importanti enzimi che rivestono interesse clinico sono da citare i livelli sierici della (CK2) creatinfosfochinasi e (LDH1) latticodeidrogenasi nell'infarto del miocardio. In presenza di necrosi delle cellule muscolari, già nelle prime 24 ore dall'evento, la CK2 raggiunge il suo picco seguito a breve ore dal picco dell'LDH1.

L'enzima lattico deidrogenasi (LAD) è

INFARTO DEL MIOCARDIO



ubiquitario e diffuso nei più svariati organi e tessuti. L'aspartatoaminotransferasi (AST) è un enzima legato ai mitocondri mentre l'alanina-aminotransferasi (ALT) è libero nella frazione citoplasmatica degli epatociti in cui si trova in quantità più alta che negli altri tessuti e quindi aumenta significativamente nel siero in caso di lesioni epatiche. L'enzima γ -glutamyl-transpeptidasi (γ -GT) è una glicoproteina legata alle membrane plasmatiche il cui livello nel sangue aumenta fortemente negli alcolisti perché l'alcool ne induce una elevata produzione da parte del fegato mentre l'enzima alcool deidrogenasi (ADH) consente una valutazione precisa del tasso alcolemico nel sangue. Un'altra funzione di fondamentale importanza svolta dagli enzimi è legata ai processi digestivi.

Grazie all'azione di particolari enzimi della digestione come le proteasi che agiscono sulle proteine riducendole in amminoacidi e le amilasi che agiscono sugli amidi riducendoli in maltosio, determinate macromolecole vengono ridotte in unità più semplici facilmente assorbibili a livello intestinale. ■

Presso la Bios S.p.A. di Roma in Via D. Chelini 39 si eseguono quotidianamente tutti gli esami di Chimica Clinica.

Per informazioni e prenotazioni: CUP 06 809641