

## BIOLOGIA GENERALE

---

### 2) FISILOGIA CELLULARE

Prima di parlare degli organuli cellulari contenuti nella matrice citoplasmatica, quali i mitocondri, e della loro complessa attività, è bene dedicare dello spazio e del tempo alla considerazione dei fenomeni energetici che si verificano nel corso del metabolismo cellulare.

Con il termine di metabolismo possiamo indicare tutte le trasformazioni chimiche che si attuano nella cellula: ad un'attività demolitrice (catabolismo) vedremo che si affianca un'attività sintetizzante (anabolismo), in un ciclo che si svolge incessantemente. Ma per lo svolgimento completo di ogni via metabolica è necessario che la cellula possa usufruire di energia che, prodotta dalla cellula stessa a partire dalla demolizione dei materiali nutritivi, viene immagazzinata sotto forma d'energia chimica, e liberata ogni qual volta se ne presenti la necessità. La produzione di energia è resa possibile dai fenomeni di ossido-riduzione. Due quindi sono le tappe fondamentali delle trasformazioni energetiche cellulari: 1) la *liberazione dell'energia*; 2) la *conservazione dell'energia*.

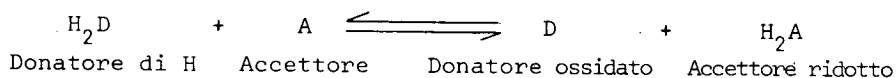
1) Come si è detto le reazioni di ossido-riduzione sono le responsabili della liberazione d'energia.

Con i termini di ossidazione e riduzione si indicano delle reazioni che avvengono con scambio d'elettroni ( $e^-$ ): ogni molecola, di qualunque sostanza si tratti, è formata da tanti atomi; ogni atomo a sua volta è costituito da un nucleo centrale con un certo numero di cariche positive, e da una serie di elettroni (par

ticelle cariche negativamente, tante quanto sono le cariche positive del nucleo) che ruotano intorno al nucleo. Questi elettroni, in casi particolari, possono abbandonare la molecola a cui appartengono e trasferirsi ad altri atomi o molecole in grado di accettarli.

Perciò, quando un composto cede elettroni, si dice che viene *ossidato* (e la reazione si chiama *ossidazione*); il composto che invece riceve gli elettroni viene *ridotto* (e la reazione prende il nome di *riduzione*). I due processi si svolgono sempre contemporaneamente. In molte reazioni cellulari di ossido-riduzione non si ha solamente un trasferimento di elettroni, ma anche di atomi di idrogeno (H); l'atomo di idrogeno è costituito da un nucleo con una sola carica positiva (protone o idrogenione,  $H^+$ ) e da un elettrone negativo ( $e^-$ ) che ruota intorno al nucleo. L'atomo di idrogeno ha molta tendenza a dissociarsi, a scindersi cioè in  $H^+$  ed  $e^-$ ; perciò, quando, nel corso delle reazioni, si libera dello idrogeno, lo troveremo nella sua forma dissociata ed in particolare parleremo di trasferimento di  $e^-$ , che sono i veri responsabili delle variazioni di energia, tenendo però presente che, nei suoi movimenti, ogni elettrone è accompagnato dal suo protone. Il donatore di elettroni e idrogenioni ( $H^+$ ) rappresenta la sostanza riducente e viene definito come *donatore di idrogeno*; la sostanza che riceve gli idrogenioni e gli elettroni rappresenta l'ossidante e prende il nome di *accettore di idrogeno*.

Schematicamente si può così rappresentare la reazione di ossido-riduzione:



Reazioni di questo tipo si possono ripetere in serie successive e, quando nella cellula è presente l'ossigeno, esso rappresenta l'ultimo accettore di idrogeno ed elettroni, e l'acqua, che così si forma, rappresenta il prodotto terminale delle reazioni.

La sequenza dei trasferimenti di elettroni da un composto all'altro è determinata dall'esistenza, per ogni composto, di un *potenziale di ossido-riduzione*, che è la misura della tendenza ad assumere o a cedere elettroni di quel dato composto: il trasferimento di elettroni segue sempre un gradiente di potenziale.

Per ogni sostanza implicata nelle reazioni cellulari sono

stati misurati i potenziali di ossido-riduzione; nella letteratura biologica si è convenuto di dare segno negativo ai potenziali di ossido-riduzione di quelle sostanze che più facilmente cedono elettroni allo scopo di sottolinearne l'attività riducente.

Perciò quanto più elevata sarà la capacità riducente di un composto, tanto più negativo sarà il suo potenziale; e le sostanze con un potenziale fortemente negativo saranno in grado di ridurre (cioè di cedere  $e^-$ ) quelle provviste di negatività inferiore. Sempre per convenzione, si è attribuito agli agenti ossidanti (in grado cioè di assumere  $e^-$ ) un potenziale positivo: quanto più facilmente un composto acquista elettroni, tanto più grande sarà il suo potenziale; tutti i composti con un potenziale positivo elevato sono in grado di ossidare quelli con un potenziale più basso.

Vediamo ora di seguire più da vicino le vie dei processi cellulari di ossido-riduzione: quando gli elettroni si muovono da sostanze con un potenziale di ossido-riduzione negativo a sostanze con potenziale positivo si ha un netto salto di potenziale (misurato in Volts), cioè la liberazione di una certa quantità di energia che può essere trasformata in lavoro. Infatti la definizione più comune del termine "Energia" è di *capacità a compiere un lavoro*; a noi, fra i tipi di energia, interessa l'energia potenziale contenuta nelle sostanze alimentari: come si vedrà in seguito, nel capitolo dedicato al metabolismo glicidico, le cellule vegetali catturano l'energia della luce solare trasformandola in energia chimica potenziale contenuta nei carboidrati e in altre sostanze (lipidi e protidi) che da essi possono derivare.

Gli animali, e quindi l'uomo (incapaci di utilizzare direttamente l'energia solare), utilizzano invece come sorgente di energia le sostanze alimentari (di origine animale o vegetale), e dalla loro demolizione traggono perciò l'energia necessaria per le loro attività vitali. Le cellule però non potrebbero utilizzare l'energia di glicidi, protidi e lipidi (cioè delle sostanze alimentari), se questa venisse liberata in un solo stadio: potrebbero accumularne, e quindi usarne, solo una piccola parte e perciò si avrebbe uno scarsissimo rendimento. Invece esse procedono alla demolizione dei principi alimentari attraverso numerosi passaggi, in modo da frazionare la liberazione di energia e di permetterne così l'utilizzazione, trasformandola in legami fosforici ad alto livello energetico.

Seguiamo ora il destino nella cellula di queste sostanze alimentari prendendo come esempio uno zucchero (il glucosio) ed osserviamo il destino dell'energia che da esso si libera.

In una prima fase del processo di demolizione (fase anaerobica che si svolge in assenza di  $O_2$ ), il glucosio viene fosforilato, accetta cioè due molecole di acido fosforico ( $H_3PO_4$ ), e si scinde successivamente in 2 molecole di *triosofosfato* (zucchero a 3 atomi di carbonio unito a una molecola di  $H_3PO_4$ ), ognuna delle quali viene trasformata ad acido *piruvico* ( $CH_3-CO-COOH$ ). Inizia ora la seconda fase del processo che si svolge in presenza di  $O_2$  (fase aerobica), ed esclusivamente nei mitocondri della cellula, mentre la fase anaerobia era di localizzazione citoplasmatica. L'acido piruvico, convogliato nei mitocondri, libera energia in una serie di reazioni che si svolgono in successione: dapprima viene decarbossilato (privato cioè del gruppo  $COOH$  che origina anidride carbonica e idrogeno) e poi legato al coenzima A a costituire l'acetil -CoA; l'idrogeno che si libera da queste reazioni, ionizzato in  $H^+$  ed  $e^-$ , viene trasferito al NAD (nicotinamide-adenina-dinucleotide) che viene ridotto secondo la reazione  $NAD + 2H \rightleftharpoons NADH + H^+$  (I riduzione). L'acetil-CoA è un composto intermedio fondamentale, comune anche al metabolismo lipidico e protidico: il coenzima A rappresenta il trasportatore che opera il trasferimento agli accettori metabolici del ciclo di Krebs (o ciclo degli acidi tricarbossilici) (Figura 1).

Le reazioni del ciclo di Krebs sono regolate da una complessa batteria enzimatica. Ogni acetil-coenzima A che entra nel ciclo passa attraverso una serie di tappe, la prima delle quali consiste in una reazione di coniugazione con un composto a 4 atomi di carbonio (l'acido ossalacetico) per formare un composto a 6 atomi di C (l'acido citrico) che viene subito trasformato in acido isocitrico. Dall'acido isocitrico, con perdita di una molecola di  $CO_2$ , si forma l'acido  $\alpha$ -chetoglutarico: anche in questa reazione si liberano 2 elettroni (con i relativi  $H^+$ ) che vengono captati da un "accettore di elettroni", in questo caso un'altra molecola di NAD (II riduzione). Dall'acido  $\alpha$ -chetoglutarico, con la perdita di un'altra molecola di  $CO_2$ , si forma l'acido succinico (a 4 atomi di C), con cessione di un'altra coppia di elettroni che vengono captati anch'essi dal NAD (III riduzione). E' importante ricordare che ogni volta che le molecole di NAD ricevono elettroni (ed  $H^+$ ) li cedono subito ad altri composti, come vedremo in seguito e rimangono quindi

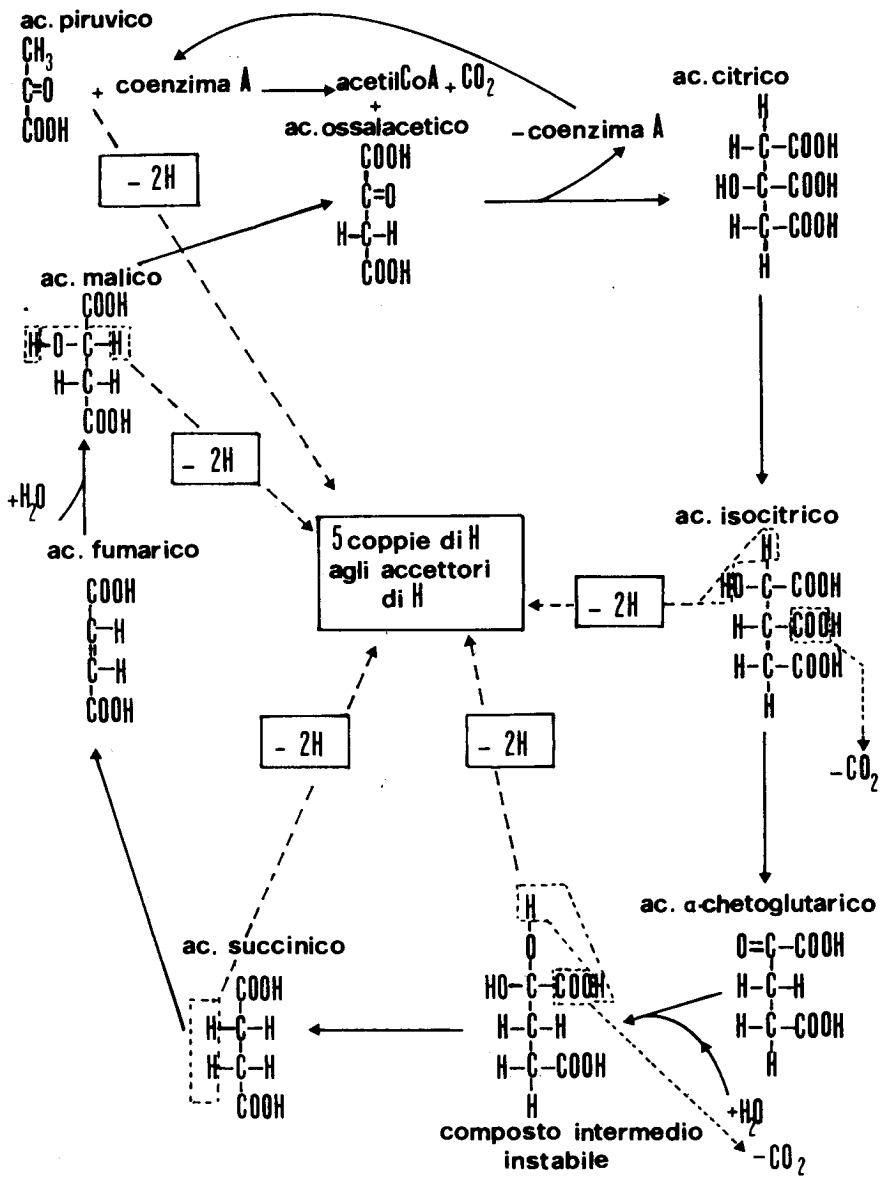


Figura 1

di nella forma ossidata,pronte a riceverne altri.

Dall'acido succinico si genera l'acido malico, attraverso la formazione intermedia di acido fumarico; per la produzione di acido fumarico, l'acido succinico perde 2 elettroni che questa volta vengono captati da un nuovo accettore di elettroni, il FAD (è una flavoproteina, e precisamente è il favin-adenina-dinucleotide), che passa nella forma ridotta  $FADH + H^+$  (IV riduzione). Infine l'acido malico, con perdita di un'altra coppia di elettroni accettati dal NAD (V riduzione), rigenera l'acido ossalacetico per mezzo del quale il ciclo di Krebs può continuare, sempre che vi sia a disposizione acetil-CoA. Perciò una sola molecola di acido ossalacetico può partecipare alla demolizione di un numero infinito di molecole di acetil-CoA, visto che viene rigenerata alla fine di ogni ciclo. Nel corso del ciclo si è visto che si sono formate due molecole di  $CO_2$ , mentre gli atomi di idrogeno (ionizzati in  $H^+$  ed  $e^-$ ) venivano captati dagli accettori di elettroni (NAD e FAD).

Le attività che si svolgono nella matrice mitocondriale (ciclo di Krebs) portano come si è visto alla liberazione di 5 coppie di atomi di H (dissociati in  $e^-$  e  $H^+$ ), 4 conservate dal  $NADH + H^+$  (nicotinamide-adenina-dinucleotide ridotto) e 1 dal  $FADH + H^+$  (favin-adenina-dinucleotide ridotto) (Figura 2); questi elet

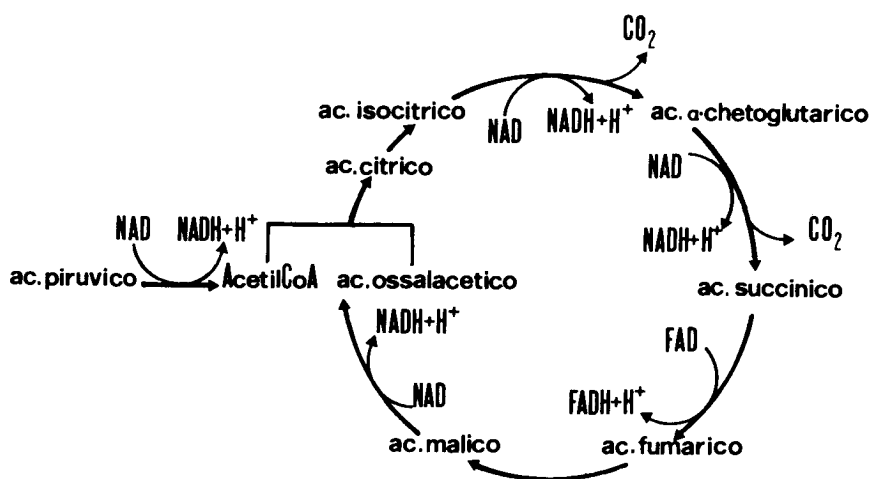


Figura 2

troni vengono trasferiti, con i relativi  $H^+$ , agli enzimi della *catena respiratoria*. La catena respiratoria, o *catena di trasporto degli elettroni*, è la via comune per mezzo della quale gli elettroni, e quindi gli  $H^+$ , vengono portati al loro naturale accettore, ossia l'ossigeno molecolare ( $O_2$ ), per formare acqua. La catena respiratoria (Fig. 3) può essere considerata come una serie di gradini su ognuno dei quali si trova un composto capace di accettare elettroni da un composto più in alto e di trasferirli a uno posto più in basso.

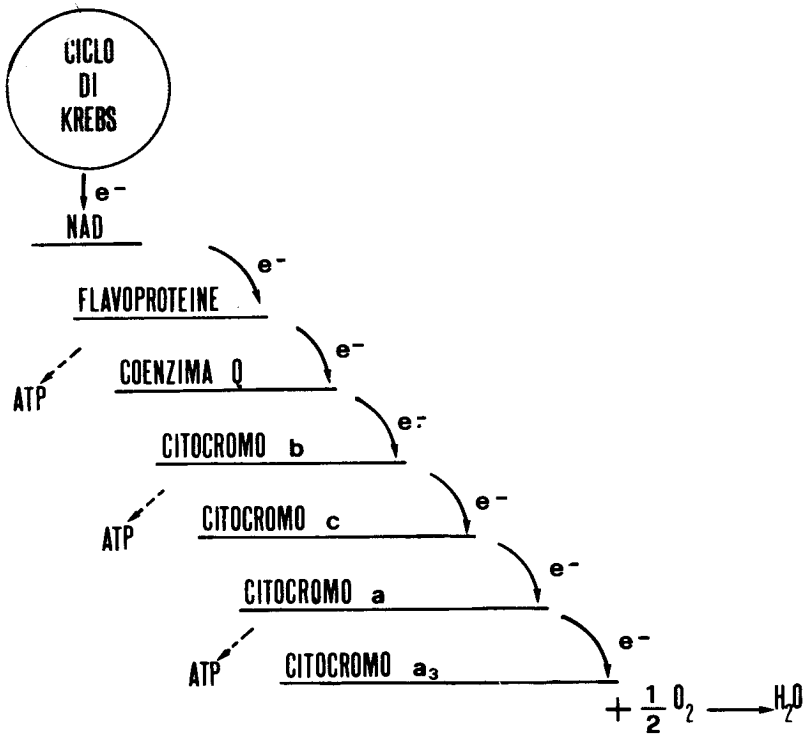


Figura 3

In che modo il NAD può (alla forma ridotta di  $NADH + H^+$ ) trasferire ad una flavoproteina gli elettroni che ha accettato? Perché, a sua volta, la flavoproteina che ha accettato tali elettroni li può cedere attraverso la tappa rappresentata dal coenzima Q a un certo numero di citocromi che, a loro volta li posso-

no trasferire all'ossigeno?

La catena degli enzimi trasportatori di elettroni, così come è stata indicata, è definita in base ai potenziali di ossido-riduzione di ciascun enzima e, proprio sulla scorta di tali potenziali, si può dare un'interpretazione di questi fenomeni. Ogni enzima infatti possiede un potenziale d'ossido-riduzione caratteristico per cui si viene a costituire una "serie elettrodinamica biologica" in cui ogni componente può ossidare quello che lo precede e ridurre quello che lo segue. I potenziali dei componenti della catena respiratoria sono esposti nella Tabella I:

TABELLA I

NAD	- 0,317 V
FAD (o flavoproteina)	- 0,219 V
Coenzima Q	0,00 V
Citocromo b	+ 0,04 V
Citocromo c	+ 0,26 V
Citocromo a	+ 0,29 V
O <sub>2</sub>	+ 0,815 V

Il potenziale del citocromo a<sub>3</sub> non è ancora stato determinato con precisione.

Il NAD, allo stato ridotto di NADH + H<sup>+</sup>, possedendo un potenziale più negativo rispetto al FAD, può trasferire su di esso gli elettroni (e gli H<sup>+</sup>), riducendolo e tornando allo stato ossidato; analogamente si procede negli altri "passaggi" della catena respiratoria, per ognuno dei quali si realizza una differenza di potenziale e quindi si sviluppa una piccola quantità d'energia; complessivamente, in tutto il processo, per ogni coppia di e<sup>-</sup> trasferita si passa da un potenziale di -0,317 V a un potenziale di +0,815 V. Il vantaggio di una tale produzione a tappe di energia è importante; consideriamo infatti che per ogni mole di glucosio che viene demolita a CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O si ha una liberazione d'energia pari a 686.000 cal. Una tale quantità di energia non potrebbe venir utilizzata "in toto" dalla cellula; viceversa, le piccole variazioni energetiche che fra un "gradino" e l'altro della catena respiratoria possono venire più facilmente sfruttate. In particolare, la caduta di potenziale in 3 punti della catena, come si vede dalla Figura 3, è più che sufficiente per liberare una quantità di energia atta a



rendere possibile la sintesi  $ADP + P \rightarrow ATP$ .

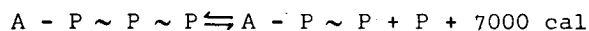
2) Siamo così giunti al momento in cui una parte dell'energia che si produce all'interno della cellula dalla demolizione del glucosio viene immagazzinata e conservata sotto forma di composti organici fosforilati.

Consideriamo ora i composti destinati alla conservazione di energia: abbiamo già avuto occasione di parlare a più riprese dell'acido adenosintrifosforico che interviene ogni qualvolta nella cellula si abbiano delle richieste energetiche. Esistono nelle cellule alcune particolari sostanze che, funzionando come veri e propri "accumulatori" di energia, possono raccogliere l'energia liberata dal metabolismo delle sostanze alimentari e utilizzarla per compiere attività diverse: la più importante di queste sostanze è l'ATP, seguita dal creatinfosfato (soprattutto nelle fibrocellule muscolari) e dell'argininfosfato (negli invertebrati).

La molecola dell'ATP è costituita da una base (adenina) + 1 molecola di ribosio + 3 molecole di acido fosforico; adenina e ribosio formano il composto adenosina (A) per cui, indicando ogni radicale fosforico con la lettera P, si può giungere alla seguente schematizzazione della molecola:



dove il simbolo  $\sim$  rappresenta un legame ad alta energia (Figura 4). Il distacco della molecola terminale di acido fosforico comporta la produzione di circa 7000 calorie:



Ogni volta che la reazione procede da sinistra a destra si originano *processi endoenergetici*, che si possono attuare grazie alla liberazione dell'energia, che viene così variamente utilizzata; il procedere da destra a sinistra è favorito dai *processi esoenenergetici*, culminanti cioè nell'accumulo, in molecole di ATP, dell'energia derivata dalla demolizione delle sostanze organiche.

L'ATP ha perciò un significato predominante nell'attività fisiologica degli organismi viventi: i legami fosforici ad alta energia dell'ATP sono la principale forma di energia direttamente utilizzabile da tutti i tessuti. Generalmente però la quantità di ATP è piuttosto piccola, soprattutto in rapporto all'intensità del

ricambio energetico proprio di alcuni tessuti; tale quantità, che difficilmente può essere aumentata, costituisce una specie di corredo preconstituito ed, essendo l'ATP continuamente sottoposto ad usura, è indispensabile che esso venga continuamente resintetizzato.

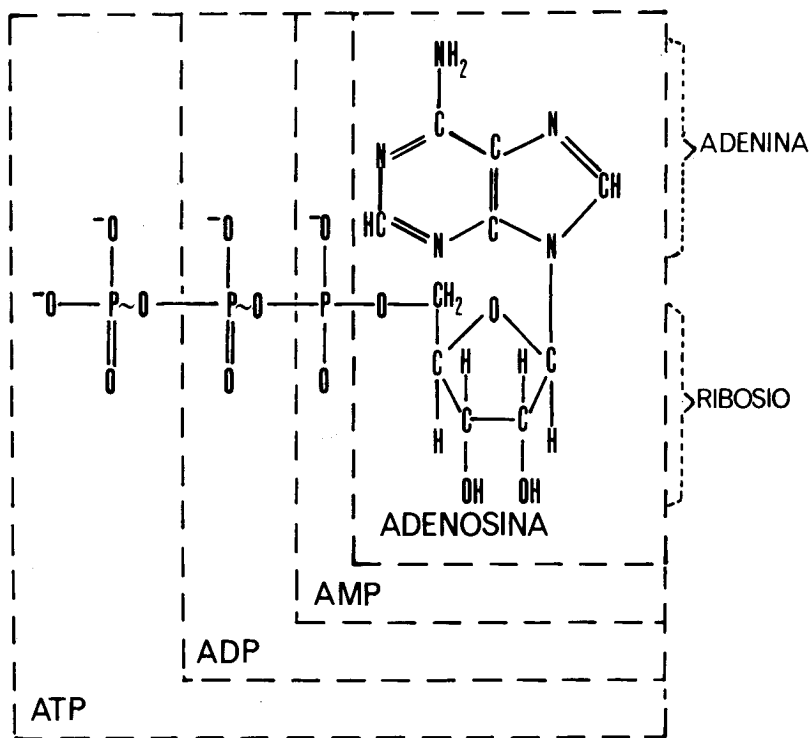


Figura 4

Poichè l'ATP ha un intenso ricambio energetico, esiste un altro accumulatore di energia, il *creatinfosfato* (o fosfocreatina), che funge da dinamico depositario di legami fosforici altamente energetici, atti a realizzare una pronta resintesi di ATP, come indicato nella Figura 5: la fosfocreatina infatti può scindersi nel gruppo fosfato e in creatina in una reazione accoppiata con la conversione di ADP in ATP.

La dizione "legami fosforici altamente energetici" attribuita ai legami terminali di fosforo dell'ATP non è molto esatta in quanto porta a sottintendere che l'energia sia "nel" legame e che

si liberi quando questo si rompe. Usando rigorosamente i termini, per "energia di legame" si intende invece l'energia richiesta per rompere il legame fra due atomi. Perciò il termine "legame altamente energetico" non indica che l'energia sia effettivamente localizzata nei legami chimici esistenti nelle molecole dell'ATP fra un atomo di fosforo e un atomo di ossigeno come tali, ma precisa che esiste una differenza di contenuto energetico fra la molecola dell'ATP e quella dell'ADP, o fra quella dell'ADP e quella dell'AMP.

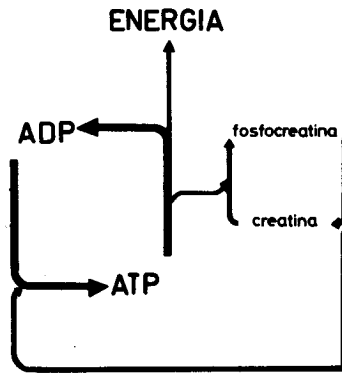


Figura 5

Perciò, per una valutazione pratica, non si attuano misurazioni assolute di energia, ma si esprime solo la variazione di energia dallo stato di ATP a quello di ADP: infatti l'ADP e il radicale fosforico derivati dall'idrolisi dell'ATP possiedono molta meno energia di quanta non ne possedessero uniti nella molecola di ATP; tale variazione energetica corrisponde ad una liberazione di 7,2 kcal per mole di ATP.

Si costituisce così un sistema assai vantaggioso per l'immagazzinamento e la distribuzione dell'energia all'interno della cellula: a spese infatti dei legami ad alto livello energetico si svolgono tutti i diversi tipi di lavoro cellulare, fra cui ricordiamo:

a) lavoro osmotico: sotto il nome di lavoro osmotico si comprendono diverse attività cellulari quali: il mantenimento delle differenze di concentrazione ioniche tra la cellula e i liquidi extracellulari, la produzione e la secrezione di composti particolari (ormoni, enzimi, anticorpi), l'assorbimento di molecole utilizzate per

le diverse sintesi cellulari.

b) Lavoro meccanico: l'esempio più manifesto di questo tipo di lavoro è la contrazione muscolare, anche se energia meccanica viene sviluppata nel corso della divisione cellulare, della secrezione e dei movimenti compiuti dagli organismi unicellulari.

c) Lavoro chimico: è quello che serve per sintetizzare le sostanze proprie di ogni cellula che ad essa servono per accrescersi, moltiplicarsi e reintegrare i propri organuli.

d) Trasmissione dell'impulso nervoso.

e) Bioluminescenza.

f) Divisione cellulare.

Si stabilisce perciò un continuo "flusso energetico" come indicato dalla Figura 6, in quanto l'ATP, trasferendo la propria carica energetica verso reazioni che possono svolgere qualunque tipo di lavoro cellulare, si scinde in ADP (adenosindifosfato) e ac. fosforico nuovamente pronti a ricominciare il ciclo.

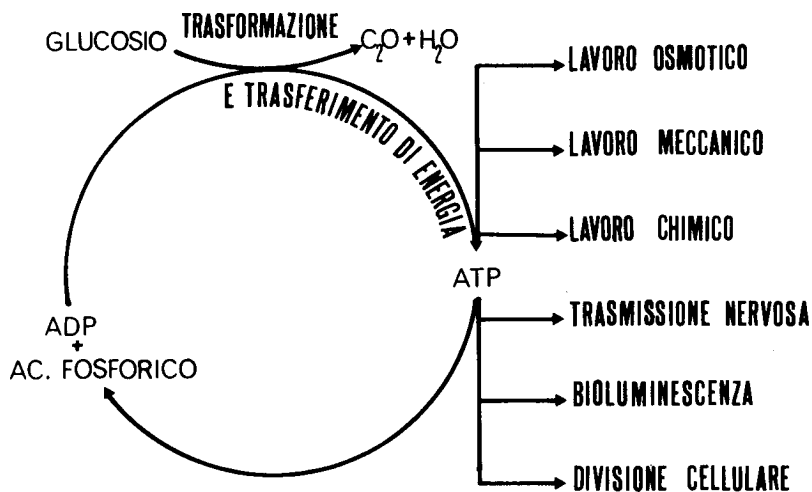


Figura 6

Riprendiamo ora la consueta trattazione degli organuli cellulari, dopo queste premesse che ci saranno utilissime per la comprensione di molte attività cellulari.

### 2.2.2. *Matrice citoplasmatica* o citoplasma fondamentale

La parte più importante del citoplasma è la *matrice citoplasmatica*, anche se la più complessa organizzazione strutturale spetta alle membrane del sistema vacuolare, considerato nei paragrafi precedenti. Essa infatti è il vero mezzo interno della cellula e, contenendo organuli, quali ribosomi e mitocondri, e molecole di glicogeno, di proteine, e di altri composti, costituisce la sede dei processi biosintetici più importanti per la vita cellulare, essendo inoltre provvista degli enzimi necessari per la produzione di energia. La matrice citoplasmatica determina anche le proprietà colloidali della cellula ed è sede di numerose differenziazioni cellulari, quali ad esempio le miofibrille e i microtubuli.

Per quanto riguarda la sua costituzione chimico-fisica, si pensa oggi che il citoplasma fondamentale presenti una complessa organizzazione basata su una impalcatura di lunghe catene macromolecolari, inframmezzate da aggregati di molecole, il tutto unito da una serie di legami trasferibili. Approfondite indagini sulla sua organizzazione ultramicroscopica hanno dimostrato poi che la maggior parte del suo contenuto proteico è rappresentata da proteine globulari, che, in caso di particolari attività cellulari, possono formare strutture fibrillari. Torneremo a parlare più diffusamente delle proteine della matrice citoplasmatica nelle prossime pagine.

Prima di considerare gli organuli cellulari compresi nella matrice è opportuno un accenno sui metodi d'indagine relativi a tali organuli, metodi utilizzabili, del resto, anche per i componenti delle membrane e per i nuclei: è ovvio che osservazioni di tipo strettamente morfologico, su materiale morto e fissato sul vetrino, non consentono di precisare completamente il significato delle strutture intercellulari. Uno studio più approfondito è invece possibile su materiale fresco, quando le diverse porzioni in esame siano state isolate dal resto dei componenti cellulari. Si ricorre così alla *centrifugazione differenziale* o *frazionamento cellulare* che permette di raccogliere le diverse frazioni cellulari. Il campione in esame (un frammento di tessuto) viene frantumato meccanicamente fino ad ottenerne un omogenato: le singole cellule perdono così la loro individualità e si ottiene una sospensione di tutti gli organuli cellulari. L'omogenato (mes

so in provetta con una soluzione fisiologica) viene poi sottoposto a centrifugazione con tempi e velocità di rotazione differenti: si separeranno diverse frazioni in cui, a seconda del peso e della densità, si sedimentano le particelle. In questo modo si può effettuare lo studio separato del nucleo, del nucleolo, dei mitocondri, dei ribosomi e infine della frazione solubile in cui si trovano proteine, acidi nucleici e le altre macromolecole (Figura 7).

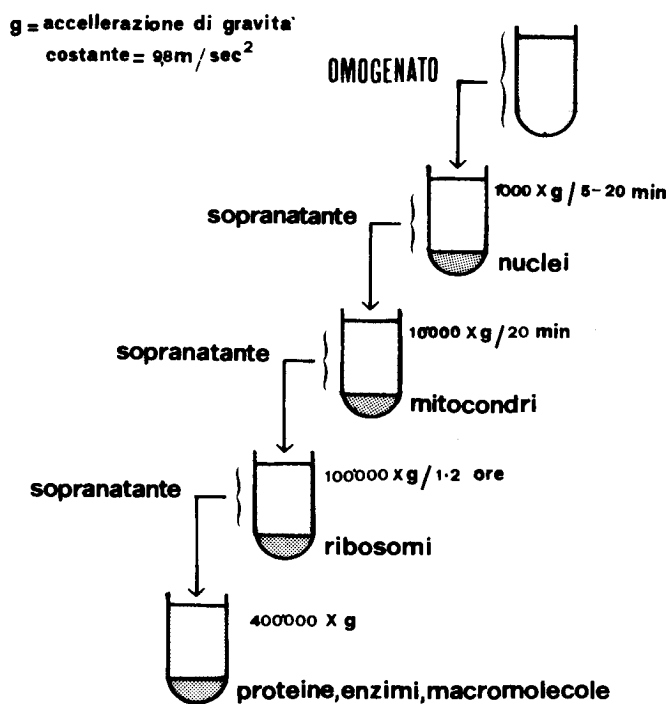


Figura 7

A) *I mitocondri*

L'attività e il valore dei mitocondri sono stati messi in evidenza quando fu possibile isolarli con la centrifugazione differenziata, e studiarne le proprietà biochimiche. Le indagini precedenti infatti ne avevano chiarito solo la morfologia e la

distribuzione, pur fornendo varie indicazioni sulle loro relazioni con alcuni processi biosintetici; la microscopia elettronica, in seguito, ne ha precisato l'ultrastruttura che è ben correlabile con i dati biochimici. Si è così finalmente chiarito il loro significato di centrali energetiche della cellula.

I mitocondri sono distribuiti abbastanza uniformemente nell'interno del corpo cellulare; in esso possono spostarsi da una parte all'altra ed essere soggetti a movimenti di "agitazione". Lo studio della composizione chimica ha rivelato un'elevata quantità di fosfolipidi, protidi, vitamine, ioni fondamentali, quali  $K^+$ ,  $Mg^{++}$ ,  $Na^+$ , e  $Ca^{++}$ : è stato anche calcolato che i fosfolipidi e le proteine mitocondriali, in alcune particolari cellule, possono rappresentare addirittura rispettivamente il 33% e il 27% del contenuto cellulare totale di questi composti.

I mitocondri, visti al microscopio ottico, hanno generalmente una forma granulosa o filamentosa e dimensioni variabili (da  $0,2 \mu$  a  $7 \mu$ ); la morfologia è comunque costante in cellule affini o svolgenti la stessa funzione. Il loro numero varia a seconda del tipo cellulare e delle condizioni funzionali; generalmente sono distribuiti in modo omogeneo nel citoplasma, anche se, in alcuni casi patologici, si accumulano intorno al nucleo o alla periferia del corpo cellulare. Presentano un'organizzazione membranosa, osservata al microscopio elettronico, di elevata complessità (Figura 8): sono infatti circondati da 2 membrane, ciascuna con la tipica costituzione trilaminare della membrana fondamentale (v. Biologia generale 2.1.1.), separate da uno spazio di  $60-80 \text{ \AA}$  detto *camera esterna*. La membrana interna forma delle ripiegature (*creste mitocondriali*) rivolte verso la cavità del mitocondrio (*camera interna*) che contiene un materiale, moderatamente denso e finemente granuloso, detto *matrice mitocondriale*; le creste mitocondriali, pur sporgendo abbondantemente verso la cavità interna e formando dei veri e propri setti, non ne interrompono comunque la continuità; in linea generale esse si presentano disposte trasversalmente rispetto all'asse maggiore del mitocondrio.

Come si è detto, le membrane, ognuna di  $60 \text{ \AA}$  circa di spessore, presentano la struttura trilaminare dovuta all'alternanza di strati lipidici e proteici. Nei preparati ultramicroscopici la membrana interna e le sue creste appaiono ricoperte da particelle globulari di  $80-100 \text{ \AA}$  collegate da un peduncolo alla mem-

brana; sono le cosiddette "particelle elementari" o "particelle  $F_1$ " costituite da un particolare enzima, l'ATP sintetasi, capace di operare la sintesi dell'acido adenosintrifosforico.

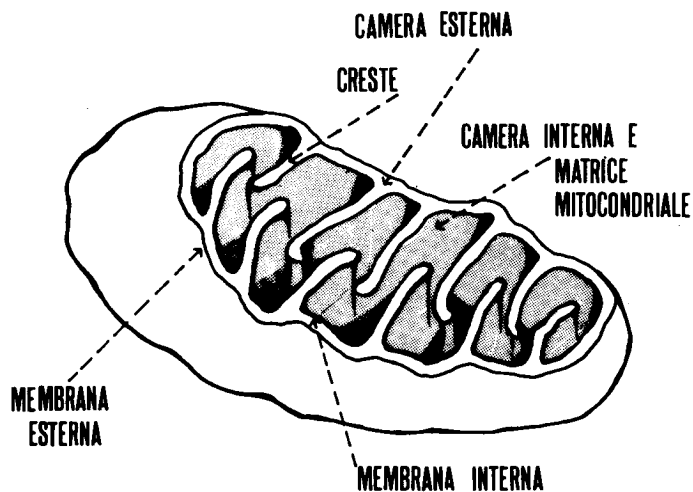


Figura 8

Nello spessore della membrana interna sono anche presenti in serie ordinata gli enzimi della catena respiratoria (Figura 9).

Differenze fra i mitocondri si possono stabilire soprattutto in relazione al numero, alla disposizione e alla forma (semplice o ramificata) delle creste: talvolta le creste sono numerosissime e occupano tutta quanta la cavità interna lasciando solo sottili spazi liberi.

Esiste una relazione fra il numero delle creste e l'attività ossidativa delle cellule: esse infatti sono particolarmente abbondanti nei mitocondri di cellule muscolari, sedi di importanti processi ossidativi. È anche stata notata una differente dilatazione dello spazio interno delle creste, spazio di competenza della camera esterna del mitocondrio; il suo maggior o minor volume si mette in rapporto con una particolare funzione secretoria della cellula: in tali casi infatti i mitocondri, oltre la



loro specifica attività nelle ossidazioni cellulari, partecipano attivamente alla sintesi di ormoni di natura soprattutto steroidea.

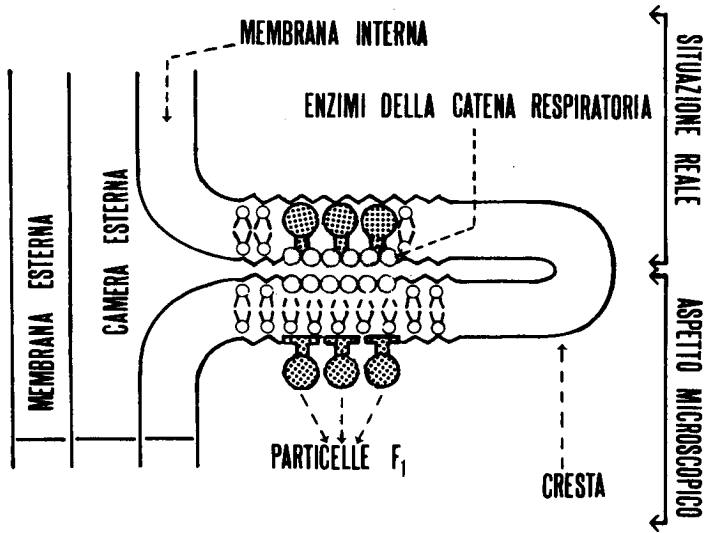


Figura 9

Nella matrice mitocondriale sono stati identificati dei filamenti costituiti da acido desossiribonucleico e piccole particelle, un po' più piccole dei ribosomi citoplasmatici, contenenti acido ribonucleico. L'RNA e il DNA dei mitocondri costituiscono un sistema genetico, autonomo, distinto da quello nucleare, che interviene nella sintesi di proteine necessarie per la produzione del materiale costitutivo dei mitocondri, controllandone così lo accrescimento e la proliferazione. Il DNA mitocondriale, pur presentando una molecola a struttura simile a quella del DNA nucleare, ne differisce per alcune proprietà chimico-fisiche; inoltre esso, non è in grado di fornire l'informazione per la sintesi di tutte le proteine e gli enzimi presenti nel mitocondrio, rendendo comunque indispensabile l'intervento del DNA nucleare. Per quanto riguarda l'RNA, è stato notato che anche i piccoli ribosomi mitocondriali sono in grado di partecipare al meccanismo della sintesi proteica; evidentemente queste piccole formazioni

possiedono tutta l'apparecchiatura necessaria per questa funzione, come la si trova nel citoplasma.

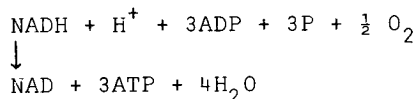
Per quanto riguarda il significato funzionale dei mitocondri, esso è così intimamente legato alla loro struttura da non poterne essere scisso: oggi è noto che il principale significato dei mitocondri è quello di funzionare come una centrale mobile che fornisce l'energia necessaria alle numerose reazioni chimiche, alle attività meccaniche ed ai meccanismi di trasporto attivo della cellula.

In questa sede precisiamo ancora una volta che il catabolismo cellulare fino all'acido piruvico si svolge nel citoplasma, mentre il ciclo di Krebs viene regolato da enzimi localizzati nella matrice mitocondriale. Gli enzimi della catena respiratoria sono situati nella porzione esterna della membrana mitocondriale interna, a livello delle creste (Figura 9).

Per rendere possibile la sintesi di ATP nei mitocondri è necessario però che essa sia sincronizzata con la liberazione di energia per mezzo del trasporto di elettroni, secondo le modalità sopra descritte: ed infatti nelle creste mitocondriali, questa volta nella porzione *interna* della membrana interna troviamo le molecole degli enzimi sintetizzanti ATP, localizzate nei punti in cui la variazione energetica possa garantire la sintesi.

Il complesso degli enzimi della catena respiratoria e della sintesi di ATP prende il nome di *unità respiratoria* mitocondriale, idonea a trasportare elettroni in accoppiamento alla produzione di ATP (fosforilazione): particolare importanza riveste lo enzima che catalizza l'unione dei due distinti processi, l'*ATP sintetasi*, che è contenuta nelle particelle  $F_1$  già nominate in precedenza: esse nei preparati si osservano all'esterno delle creste, ma probabilmente nella reale disposizione si trovano inserite nella membrana interna.

Il processo fosforilativo che si attua mediante l'intervento dell'energia liberata dalla catena respiratoria si può sintetizzare:



l'energia viene così conservata nelle molecole di ATP sintetizzate.

I mitocondri pertanto sono la sede della *fosforilazione ossidativa*, ossia del processo per cui in presenza di ossigeno e di fosfato inorganico, l'ADP viene rapidamente trasformato in ATP; in questo modo l'energia chimica presente nella configurazione molecolare dei prodotti di metabolizzazione degli alimenti viene trasformata in energia di legame (legami fosforici altamente energetici dell'ATP).

Relativamente all'origine dei mitocondri si sono formulate diverse teorie: essi possono derivare dal frazionamento dei mitocondri presenti nella cellula che si divide; nel corso della mitosi infatti si è visto che i mitocondri si distribuiscono nelle cellule figlie e che aumentano di numero nell'interfase. Secondo altri autori invece ci può essere formazione di mitocondri a partire da ripiegature delle membrane del reticolo endoplasmatico o delle membrane plasmatica e nucleare; oppure, infine, essi si possono formare ex novo per aggregazione di proteine e lipidi.

#### B) *Ribosomi*

Osservazioni chimiche e morfologiche hanno dato una precisa individualità al concetto di ribosoma, inteso come particella submicroscopica, libera nella matrice citoplasmatica o associata a membrane.

L'impiego della centrifugazione frazionata ha permesso di isolarli e definirne, oltre la forma, anche la composizione e le proprietà sintetiche. Da un punto di vista fisiologico i ribosomi rappresentano gli apparati usati dalla cellula per la sintesi proteica e risultano essere composti da proteine e acido ribonucleico, detto RNA ribosomiale. E' questo il III tipo di RNA che è impiegato nella sintesi delle proteine attive, come si è già detto dell'RNA solubile e dell'RNA messaggero (v. Biochimica 2.2).

Nelle diverse cellule in cui sono stati isolati, i ribosomi presentano una notevole affinità di dimensioni, struttura e composizione: è molto facile isolarli nelle cellule in cui sono liberi (cellule di lievito, reticolociti), mentre nelle cellule ad organizzazione più elevata, soprattutto cellule secernenti, in cui sono per lo più associati alle membrane del reticolo, è necessario procedere prima alla solubilizzazione della membrana.

Il ribosoma si presenta come un corpicciolo oblungo di circa  $250 \times 150 \text{ \AA}$ ; si può mettere in evidenza in esso una sottile

fessura che lo divide in 2 subunità, una più grande dell'altra.

Con il microscopio elettronico si è chiarita la disposizione delle due subunità rispetto alla membrana a cui si aggregano; la porzione che vi aderisce è infatti quella maggiore, mentre la fessura è parallela alla membrana stessa. Si pensa che ogni subunità contenga un filamento di acido ribonucleico fortemente ripiegato a cui aderiscono le diverse proteine; l'RNA sarebbe disposto sulla superficie delle subunità e la proteina all'interno. Il contenuto proteico dei ribosomi è molto complesso: sono state identificate addirittura 50 diverse proteine; alcune di esse sono specifiche per ciascuna delle subunità del ribosoma e alcune sono addirittura indispensabili per l'attività sintetica del ribosoma.

Per la coesione delle subunità occorre la presenza di Mg (magnesio): è stato osservato che variando la concentrazione di Mg, all'interno della cellula, intorno al valore standard, due ribosomi si possono unire formando un *dimero* (se la concentrazione è più alta), oppure (se la concentrazione si è abbassata) un singolo ribosoma può scindersi nelle due subunità di cui è composto (Figura 10).

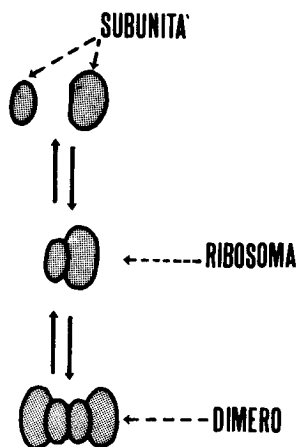


Figura 10

Al microscopio elettronico si è anche osservato che i ribosomi tendono ad associarsi e a formare, secondo determinate figure,

dei *poliribosomi*; il legame che tiene uniti fra loro questi ribosomi è rappresentato dall'RNA messaggero e, proprio in questa sede, avviene la traduzione dell'informazione genetica per la sintesi proteica. In questi poliribosomi la distanza fra centro e centro dei singoli ribosomi è di circa  $340 \text{ \AA}$  e la lunghezza totale del filamento di RNA di circa  $1500 \text{ \AA}$  (Figura 11).

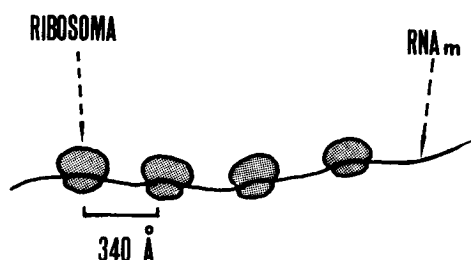


Figura 11

Il ribosoma perciò si attacca ad un determinato punto della molecola dell'RNA<sub>m</sub>, scorre lungo di essa e se ne separa assieme alla intera catena polipeptidica della proteina neoformata, dopo aver indirizzato tutte le molteplici interazioni che hanno luogo fra le innumerevoli molecole impegnate nella sintesi. I poliribosomi sono comunque i veri congegni, costruiti con la massima precisione e con pezzi ben assortiti, in cui si compie la cattura e la traduzione dell'RNA<sub>m</sub> che contiene il messaggio genetico. Fino a poco tempo fa infatti si riteneva che i ribosomi fossero strutture inerti a cui si legavano le varie specie molecolari impegnate nella sintesi proteica. Oggi invece si è visto che le due subunità del ribosoma possono esistere indipendenti, aggregarsi durante il processo sintetico, e quindi scindersi nuovamente. In questo modo le subunità si possono anche scambiare fra di loro.

Come si è detto i ribosomi possono trovarsi liberi nel citoplasma fondamentale o associati alle membrane del reticolo; questa differente localizzazione rispecchia il diverso destino delle proteine sintetizzate. Nel caso, infatti, di ribosomi liberi le proteine prodotte sono destinate ad essere usate dalla cellula; nel caso di ribosomi attaccati alle membrane le proteine sarebbero in

vece destinate ad essere riversate all'esterno. L'attacco dei ri bosomi alle membrane avviene, come si è visto, mediante la subunità maggiore; si è ipotizzato che la catena polipeptidica neoformata si possa insinuare a livello del solco che separa le due subunità ribosomiche e si infili poi in una specie di tunnel, sca vato nella subunità maggiore, che sarebbe in comunicazione con le cavità delle cisterne del reticolo (Figura 12).

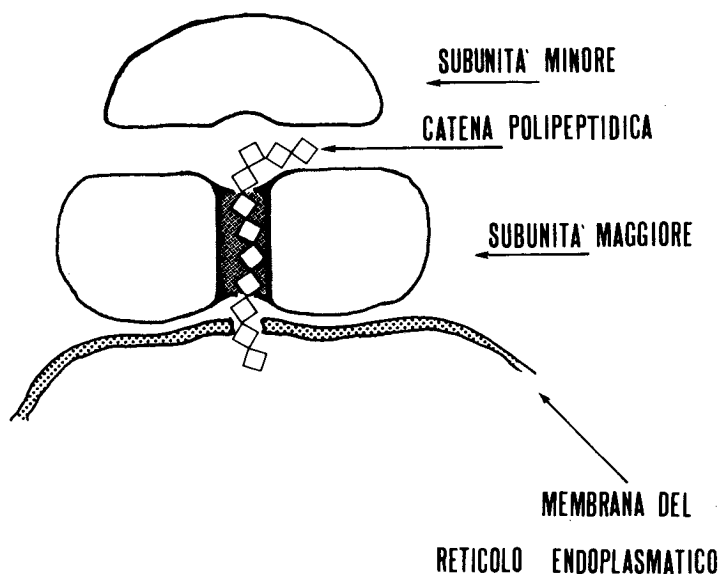


Figura 12

### C) *Glicogeno*

E' un composto molto importante nella biologia della cellula, in cui è messo in evidenza sotto forma di piccolissimi granuli. E' il più importante dei polisaccaridi di origine animale e la sua molecola è costituita da numerose molecole di glucosio le gate fra loro a formare una catena altamente ramificata.

Il glicogeno rappresenta la tipica riserva energetica dell'organismo che ad esso attinge ogni qualvolta se ne presenti la necessità; si accumula soprattutto nelle cellule del fegato e nelle fibrocellule muscolari. Fra il glicogeno epatico e quello muscolare esiste una profonda differenza, relativa al significato e al destino biologico, come si dirà in seguito nel capitolo di Biochi

mica. Quando si verifici un improvviso abbassamento della quantità di glicogeno muscolare, quello epatico viene mobilizzato e libera perciò glucosio che, giunto nelle fibrocellule muscolari per via sanguigna, viene utilizzato per una nuova sintesi di glicogeno muscolare.

#### D) *Enzimi*

Per la capacità di svolgere numerose funzioni la cellula può essere considerata come un minuscolo laboratorio chimico, in cui la gran mole di lavoro viene svolta e controllata ad opera degli enzimi.

Come si è detto (Biochimica 1.2.3) gli enzimi sono catalizzatori biologici che accelerano le reazioni chimiche all'interno della cellula; il loro appropriato funzionamento dipende da una ricca varietà di meccanismi di controllo della loro attività; essi richiedono infatti una precisa concentrazione di ioni  $H^+$  (pH ottimale), una ben determinata temperatura, e concentrazioni del substrato, e degli enzimi stessi, ben regolate. Alcuni enzimi poi si trovano nella cellula in forma inattiva e perciò necessitano di una reazione chimica per essere convertiti nella corrispondente forma attiva; in alcuni casi la sintesi di enzimi dipende dagli ormoni, e il loro funzionamento dipende dalla localizzazione, o meno, nelle sedi opportune e dalla possibile esistenza di inibitori specifici.

Mentre alcuni enzimi sono ubiquitari, altri sono tipici del mondo animale o del mondo vegetale e, in particolare, si possono notare, a seconda delle specie, grandi variazioni del complesso enzimatico cellulare. Negli organismi superiori si può persino parlare d'organi deputati alla produzione di un determinato enzima: è il caso, ad esempio, del pepsinogeno, presente solo nelle cellule della mucosa gastrica, e del tripsinogeno presente solo nelle cellule pancreatiche. Nell'ambito della singola cellula gli enzimi non si trovano distribuiti uniformemente, ma localizzati in ben precise strutture cellulari: così si può parlare di un sistema enzimatico dei nuclei (enzimi del metabolismo nucleosidico), dei mitocondri (enzimi del ciclo di Krebs, della catena respiratoria) e del citoplasma fondamentale (enzimi della glicolisi anaerobia e dell'attivazione degli aminoacidi). Questi ultimi vengono isolati dalla *frazione solubile*: essa contiene le proteine solubili e gli enzimi presenti nella matrice citoplasmatica, che

rappresentano il 20-25% del contenuto proteico totale della cellula.

Gli enzimi della *glicolisi anaerobia* catalizzano la degradazione del glucosio in diverse molecole più piccole di acido lattico, in un processo che, in assenza di ossigeno, porta alla liberazione di una certa quantità d'energia; esso si svolge attraverso un sistema ordinato di reazioni enzimatiche in cui il prodotto di una reazione serve da substrato per la reazione successiva.

Gli enzimi dell'attivazione degli aminoacidi sono i responsabili del legame che, nelle fasi iniziali della sintesi proteica, si stabilisce fra un aminoacido e una molecola di RNAs; per ogni aminoacido esiste infatti un enzima specifico che ne attiva il gruppo carbossilico stimolando la sua unione con un appropriato gruppo chimico della catena dell'RNAs. L'enzima attivante deve possedere due punti di attività; infatti, uno serve per riconoscere l'aminoacido e l'altro per riconoscere l'RNAs specifico per quell'aminoacido.

Come si è detto gli enzimi sono proteine e perciò, qualunque ne sia il destino e la sede, il problema della loro sintesi si identifica con quello della biogenesi delle proteine cellulari (v. Biochimica 2.2.).

#### E) *Proteine*

Si è già accennato al fatto che nella frazione solubile, oltre agli enzimi, sono presenti anche altre proteine; esse sono evidentemente quelle che, sintetizzate dalla cellula, rimangono incorporate in essa ed accumulate nella matrice citoplasmatica. Queste proteine, oltre al vero e proprio mantenimento cellulare, contribuiscono anche alla costituzione della tessitura molecolare fondamentale della cellula: sono cioè le proteine strutturali che si organizzano nelle strutture fibrillari extra- ed intracellulari (fibrille muscolari e nervose, fibre collagene ed elastiche del connettivo, microtubuli).

Con il termine di microtubuli si tende ora a definire, in generale, ogni tipo di struttura prima indicata semplicemente come fibrillare: ai microtubuli si può attribuire un importante significato in alcuni processi, quali la divisione cellulare, il trasporto endocellulare e forse la contrattilità, in senso lato, del citoplasma.



Si presentano come strutture cilindriche, a decorso rettilineo, con una parete esterna scura e una zona centrale trasparente; sono particolarmente evidenti durante lo sviluppo dell'aster e del fuso che formano l'apparato mitotico della cellula (Biologia generale 2.1.3/D).