



Lezione 01 — Ripasso di enzimologia generale

Sommario

Prima di affrontare la diagnostica enzimatica vera e propria, questa lezione ripassa i fondamenti di enzimologia generale su cui si baserà tutto il corso. Il concetto cardine è la distinzione tra termodinamica e cinetica: la termodinamica stabilisce se e quanto una reazione può procedere ($\Delta G'^{\circ}$, energia libera di reazione), la cinetica stabilisce quanto rapidamente ciò avviene ($\Delta G^{\ddagger}$, energia di attivazione). Un enzima agisce esclusivamente sulla cinetica — abbassa la barriera energetica da superare — senza mai alterare la posizione di equilibrio della reazione: accelera il raggiungimento dell'equilibrio, non lo sposta.

Su questa base si innesta la distinzione, cruciale per tutta la diagnostica di laboratorio, tra massa proteica e attività enzimatica: un dosaggio clinico misura sempre la seconda, mai la prima. Un enzima denaturato dal calore è ancora presente come proteina ma ha attività nulla, e nel referto compare come assente.

La lezione ripercorre poi la cinetica di Michaelis-Menten (K_m e V_{max} , i due parametri su cui si fonda la logica di ogni dosaggio enzimatico) e i tre meccanismi di inibizione reversibile (competitiva, noncompetitiva, incompetitiva), distinguibili dal loro effetto su K_m e V_{max} . Chiude con il ponte verso la diagnostica clinica: l'enzima come biomarcatore, il fenomeno dell'iperenzimemia e i suoi quattro meccanismi, una prima anticipazione degli isoenzimi (LDH, CK) e — punto identitario del corso — la specificità di specie in medicina veterinaria, dove uno stesso enzima può avere significato diagnostico completamente diverso da una specie all'altra.

1. Natura e struttura del catalizzatore biologico

1.1 Definizione di enzima

Un enzima è, nella stragrande maggioranza dei casi, una proteina dotata di attività catalitica, capace di accelerare una specifica reazione chimica senza alterarne l'equilibrio termodinamico. Il termine “attività enzimatica” descrive proprio questa proprietà catalitica — non una quantità di proteina. Esistono eccezioni: i ribozimi, RNA dotati di attività catalitica (introni self-splicing, il ribosoma stesso nella formazione del legame peptidico), ma la quasi totalità degli enzimi di interesse diagnostico è di natura proteica.

Il potere catalitico di un enzima è impressionante in termini quantitativi: si parla di accelerazioni anche di 10^{17} volte rispetto alla reazione non catalizzata, con esempi comuni nell'ordine di 10^{14} . Una reazione che senza enzima impiegherebbe centinaia di migliaia di anni per procedere in modo apprezzabile può avvenire in frazioni di secondo con il catalizzatore giusto.

Da ricordare per l'esame: la distinzione tra “quantità di proteina” e “attività catalitica” è cruciale per la diagnostica — un dosaggio enzimatico clinico misura sempre l'attività, mai la massa proteica direttamente. Un enzima denaturato ma ancora presente come massa proteica ha attività zero, e nel referto di laboratorio non compare come niente.



1.2 Specificità e sito attivo

La specificità non è un dettaglio accessorio: il sito attivo è una regione tridimensionale complementare al substrato, non un semplice punto di contatto casuale. Questa complementarità è codificata dalla sequenza amminoacidica e tradotta nella conformazione tridimensionale nativa della proteina — è la proprietà che rende un enzima utilizzabile come reagente diagnostico selettivo: permette di dosare selettivamente il glucosio o l'urea nel plasma senza doverli prima separare chimicamente da centinaia di altre molecole, un vantaggio analitico enorme rispetto ai metodi chimici classici.

La specificità non è mai assoluta al 100%: esistono gradi di specificità, da “assoluta” (un solo substrato) a “relativa” (una famiglia di substrati simili) — un concetto che tornerà utile per capire come alcuni farmaci o tossici interferiscono con enzimi che non sono il loro bersaglio primario.

1.3 I livelli di struttura come supporto dell'informazione

L'attività catalitica dipende dal mantenimento dell'integrità strutturale: struttura secondaria (eliche e foglietti locali), terziaria (ripiegamento tridimensionale completo, definisce forma e sito attivo) e quaternaria (assemblaggio di più subunità, rilevante per molti isoenzimi). Questa disposizione tridimensionale, la struttura nativa, è ciò che si può chiamare l'informazione dell'enzima.

Una mutazione puntiforme che altera anche un solo amminoacido nel sito attivo — o in una posizione che ne stabilizza la geometria a distanza — può ridurre drasticamente l'attività catalitica senza cambiare la quantità di proteina presente: è la base molecolare di molti deficit enzimatici congeniti. Lo stesso vale per una causa non genetica ma ambientale, la denaturazione termica: il calore eccessivo rompe i legami deboli che tengono in piedi la struttura terziaria e quaternaria (non i legami covalenti della sequenza), distruggendo la conformazione nativa. È per questo che un campione di sangue lasciato a temperatura ambiente troppo a lungo, o esposto a calore durante il trasporto, può dare risultati di attività enzimatica falsamente bassi: la proteina è ancora tutta lì, ma ha perso la forma che le serve per funzionare.

2. Meccanismo d'azione e termodinamica della catalisi

2.1 Termodinamica vs cinetica

L'enzima è un fenomeno cinetico, non termodinamico. In una reazione chimica qualsiasi, i reagenti si trasformano in prodotti rompendo e riformando legami; lo stato a più alta energia attraversato prima di riorganizzarsi in prodotti è lo **stato di transizione**, una condizione di equilibrio instabile che esiste solo per un istante brevissimo. Il $\Delta G'^{\circ}$ è la differenza di energia libera tra reagenti e prodotti (termodinamica: stabilisce se e quanto la reazione procede); l'energia di attivazione $\Delta G^{\ddagger}$ è la differenza tra reagenti e stato di transizione (cinetica: stabilisce quanto rapidamente).

L'enzima abbassa la barriera cinetica $\Delta G^{\ddagger}$, accelerando la reazione — ma il $\Delta G'^{\circ}$ resta identico: né la stabilità termodinamica né il punto di equilibrio cambiano. Un'immagine utile: l'enzima è come una galleria scavata in una montagna, non un elicottero. Riduce il dislivello



da superare ma non cambia l'altitudine di partenza né quella di arrivo. Chi arriva a destinazione arriva comunque alla stessa quota — semplicemente prima. La relazione tra $\Delta G^\ddagger$ e velocità di reazione non è lineare ma esponenziale: anche una riduzione moderata della barriera di attivazione produce un aumento di velocità molto grande, il motivo matematico di fondo dietro le accelerazioni di 10^{14} - 10^{17} volte.

2.2 Metastabilità cinetica

Esempio classico: il glucosio esposto all'aria è termodinamicamente instabile (la sua ossidazione è fortemente favorita) ma cineticamente stabilissimo, perché la reazione senza catalizzatore è troppo lenta per essere osservabile a temperatura ambiente. Allo stesso modo, la conversione di ATP in ADP + fosfato inorganico è fortemente esoergonica, eppure l'ATP resta stabile nella cellula per il tempo utile a essere usato come moneta energetica, proprio perché la sua idrolisi non catalizzata è cineticamente lentissima. Questa "metastabilità cinetica" di molte molecole — favorite a reagire ma troppo lente per farlo da sole — è ciò che rende possibile la vita: senza di essa ogni molecola termodinamicamente instabile si trasformerebbe istantaneamente, e non esisterebbe alcun controllo cellulare su quando le reazioni avvengono.

2.3 Il complesso enzima-substrato e l'adattamento indotto

Il modello "chiave-serratura" di Fischer (1894), storicamente importante, è oggi considerato superato in favore dell'**adattamento indotto** di Koshland (1958): il sito attivo si rimodella insieme al substrato, e la complementarità massima non è verso il substrato nella sua forma iniziale, ma verso lo stato di transizione — da qui deriva l'accelerazione della reazione. La sequenza minima è $E + S \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons E + P$.

Questo modello spiega meglio perché molti enzimi accettano substrati leggermente diversi tra loro (specificità relativa, non assoluta) pur mantenendo un'efficienza catalitica elevata, e perché il legame del substrato è un processo dinamico di rimodellamento reciproco. Concretamente, un enzima combina più strategie catalitiche: effetti di prossimità e orientamento (avvicinano i reagenti nella geometria corretta), stabilizzazione diretta dello stato di transizione da parte di gruppi funzionali del sito attivo, catalisi acido-base generale, e in alcuni casi catalisi covalente o da ioni metallici.

2.4 Condizioni fisiologiche e standardizzazione analitica

Le condizioni in cui lavora un enzima — acqua, 37°C, pH neutro — sarebbero considerate blande in un laboratorio chimico di sintesi, eppure bastano a far avvenire migliaia di reazioni diverse e coordinate in ogni cellula, ogni istante, perché ogni reazione ha il proprio enzima dedicato. Questo ha una conseguenza pratica diretta: se le condizioni fisiologiche sono già ottimali per l'enzima, un dosaggio di laboratorio deve riprodurle fedelmente — temperatura standardizzata (tipicamente 37°C nei metodi clinici moderni), pH tamponato, presenza di eventuali cofattori — perché qualunque scostamento altera la velocità misurata indipendentemente dalla quantità di enzima presente nel campione.



3. Cinetica di Michaelis-Menten

Questo blocco è un prerequisito esplicito del syllabus: senza K_m e V_{max} non si capisce perché un dosaggio diagnostico richiede substrato in eccesso, né perché un'inibizione può falsare una misura di laboratorio. In cinetica enzimatica si misura sempre la **velocità iniziale, V_0** , non una velocità qualsiasi durante la reazione: appena la reazione procede il substrato si consuma, il prodotto si accumula e può inibire l'enzima o favorire la reazione inversa — misurare nei primissimi istanti permette una velocità che dipende in modo pulito dalla sola concentrazione di substrato di partenza.

3.1 L'equazione e l'andamento iperbolico

L'equazione di Michaelis-Menten, $V_0 = V_{max}[S] / (K_m + [S])$, descrive la relazione tra velocità iniziale e concentrazione di substrato, a concentrazione di enzima fissata. L'andamento è iperbolico, non lineare: a basse concentrazioni di substrato la velocità cresce quasi linearmente (la reazione si comporta come di primo ordine rispetto al substrato), poi rallenta, poi diventa piatta (plateau, ordine zero rispetto al substrato) — è esattamente questa condizione di plateau che un dosaggio enzimatico clinico cerca di raggiungere e mantenere per tutta la durata della lettura.

3.2 V_{max}

V_{max} è la velocità massima, raggiunta quando il substrato è in eccesso (substrato saturante): ogni sito attivo disponibile è occupato, l'enzima lavora al massimo regime. È questa la condizione che un dosaggio diagnostico deve riprodurre: solo a V_{max} la velocità osservata dipende esclusivamente dalla concentrazione di enzima, non da quella di substrato. V_{max} è direttamente proporzionale alla concentrazione totale di enzima presente: $V_{max} = k_{cat} \times [E]_{tot}$. Il k_{cat} , o costante catalitica (numero di turnover), rappresenta il numero massimo di molecole di substrato che un singolo sito attivo può convertire in prodotto per unità di tempo quando è saturo — enzimi diversi hanno k_{cat} molto diversi tra loro, per cui due enzimi alla stessa concentrazione molare possono produrre segnali di attività molto diversi in un dosaggio.

Da ricordare per l'esame: $V_{max} = k_{cat} \times [E]_{tot}$ — è la relazione che giustifica perché un dosaggio a substrato saturante misura la quantità di enzima e non quella di substrato.

3.3 K_m

K_m è la concentrazione di substrato alla quale $V_0 = V_{max}/2$: un parametro della coppia enzima-substrato specifica, non una costante universale dell'enzima da solo. K_m basso significa alta affinità (basta poco substrato per arrivare a metà della velocità massima); K_m alto significa bassa affinità. Isoenzimi diversi dello stesso enzima spesso hanno K_m diverse per lo stesso substrato pur catalizzando la stessa reazione: questo permette a tessuti diversi di "tarare" la propria risposta metabolica alle concentrazioni di substrato tipiche del proprio ambiente cellulare. Un K_m basso, vicino alla concentrazione fisiologica del substrato, indica che l'enzima lavora già vicino alla sua velocità massima nelle normali condizioni cellulari; un K_m alto dà all'enzima un ampio margine dinamico, capace di rispondere con un aumento di velocità quasi proporzionale a un aumento di substrato.



4. Meccanismi di inibizione enzimatica

Tre meccanismi di legame reversibile, distinguibili dal loro effetto su K_m e V_{max} — non dal nome che gli si dà.

4.1 Inibizione competitiva

L'inibitore compete con il substrato per il sito attivo, spesso per somiglianza strutturale con il substrato vero. Con più substrato l'inibitore perde: per questo l'effetto si supera aumentando $[S]$. K_m apparente aumenta (serve più substrato per raggiungere metà di V_{max}), ma V_{max} resta raggiungibile — solo più lontano. Sul grafico dei doppi reciproci di Lineweaver-Burk ($1/V_0$ in funzione di $1/[S]$), l'inibizione competitiva produce rette che condividono la stessa intercetta sull'asse verticale $1/V_0$ (perché V_{max} non cambia) ma con pendenza diversa: le rette con e senza inibitore si incrociano esattamente sull'asse delle ordinate.

Applicazione farmacologica diretta: molti farmaci sono progettati come inibitori competitivi — le **statine sulla HMG-CoA reduttasi** ne sono l'esempio più noto — proprio perché il loro effetto è dose-dipendente e in linea di principio reversibile aumentando il substrato endogeno.

4.2 Inibizione noncompetitiva (pura e mista)

L'inibitore si lega a un sito diverso da quello attivo, su E o su ES indifferentemente. Nel caso puro, $K_I = K_I'$ (stessa affinità per l'enzima libero e per il complesso ES): K_m resta invariata e V_{max} diminuisce, senza possibilità di recupero aumentando $[S]$. Sul grafico di Lineweaver-Burk le rette con e senza inibitore si incrociano esattamente sull'asse delle ascisse ($1/[S]$), nel punto $-1/K_m$. Nel caso misto ($K_I \neq K_I'$), l'inibitore preferisce una delle due forme, cambiano sia K_m sia V_{max} apparenti, e le rette si incrociano fuori dagli assi.

Esempio farmacologico reale: la **nevirapina**, inibitore non-nucleosidico della trascrittasi inversa di HIV-1, si lega a una tasca idrofobica allosterica a circa 10 Å dal sito catalitico, in modo indipendente dalla presenza di substrato — quindi con la stessa affinità per l'enzima libero e per il complesso ES (caso puro). Non impedisce l'ingresso dei substrati nel sito attivo, ma distorce la geometria della triade catalitica di aspartati, bloccando il passo chimico di trasferimento: l'enzima lega tutto normalmente, ma non catalizza più.

4.3 Inibizione incompetitiva (o incompetitiva)

L'inibitore si lega esclusivamente al complesso enzima-substrato (ES), mai all'enzima libero: il substrato deve legarsi per primo. K_m apparente e V_{max} apparente diminuiscono entrambe, nella stessa proporzione: l'effetto non si supera aumentando il substrato, anzi può paradossalmente peggiorare. Per il principio di Le Chatelier applicato all'equilibrio $E + S \rightleftharpoons ES$, sottraendo continuamente ES l'equilibrio si sposta verso la formazione di altro ES, dando un'apparente maggiore affinità (K_m diminuita) pur essendo l'enzima nel complesso molto meno efficiente. Sul grafico di Lineweaver-Burk questa è la firma più facile da riconoscere: poiché K_m e V_{max} diminuiscono nella stessa proporzione, il rapporto K_m/V_{max} (la pendenza) resta invariato — le rette risultano **parallele**, senza mai incrociarsi.

Esempio reale: la **L-fenilalanina** inibisce in modo incompetitivo l'isoenzima placentare (e, in misura minore, quello intestinale) della fosfatasi alcalina, lasciando praticamente inalterate le



isoforme ossea ed epatica — uno dei metodi classici di inibizione differenziale per distinguere isoenzimi della stessa fosfatasi alcalina nello stesso campione.

Da ricordare per l'esame: incompetitiva/acompetitiva lega SOLO ES, K_m e V_{max} diminuiscono insieme, unica delle tre forme con rette parallele nel Lineweaver-Burk (nessuna intersezione). Sono tre categorie principali, non quattro: competitiva, noncompetitiva (pura o mista), incompetitiva/acompetitiva — “acompetitiva” e “incompetitiva” sono sinonimi, non un quarto caso.

4.4 Tabella di sintesi e rilevanza clinica

Tipo	Sito di legame	K_m apparente	V_{max} apparente	Superabile con eccesso di substrato
Competitiva	Solo E (sito attivo)	Aumenta	Invariata	Sì
Noncompetitiva pura	E e ES (sito allosterico)	Invariata	Diminuisce	No
Incompetitiva/a competitiva	Solo ES	Diminuisce	Diminuisce	No

L'inibizione ha una doppia rilevanza clinica: come tossicologia (farmaci, veleni e insetticidi organofosforici, ripresi con la colinesterasi in Lezione 05) e come strumento analitico per distinguere isoenzimi nello stesso campione (tema di Lezione 03) — l'inibizione selettiva, chimica, termica o immunologica, di un solo isoenzima permette di ri-dosare il campione e ottenere per differenza l'attività della sola forma residua. Esiste anche un terzo fenomeno da conoscere: il substrato stesso, a concentrazioni molto elevate, può comportarsi da inibitore del proprio enzima (inibizione da eccesso di substrato) — un saggio mal progettato, con substrato troppo concentrato, può paradossalmente sottostimare l'attività enzimatica reale.

5. Regolazione metabolica e coordinazione cellulare

Gli enzimi definiscono e regolano l'intricata rete di reazioni chimiche di un sistema vivente, facendo avvenire nel posto e al momento opportuno ciò che serve alla cellula — è la premessa concettuale di tutta la diagnostica enzimatica. Questa coordinazione spazio-temporale ha due traduzioni cliniche dirette: la localizzazione tissutale (quale organo produce prevalentemente quell'enzima) e la finestra temporale di rilascio (quando un enzima compare, raggiunge il picco e scompare dal plasma dopo un danno — informazione che permette di stimare da quanto tempo è avvenuto un evento).

5.1 I tre livelli di regolazione

La cellula controlla l'attività enzimatica attraverso tre canali distinti: - **Allosteria:** legame di un effettore a un sito diverso da quello attivo, che modula rapidamente conformazione e attività.



Molti enzimi allosterici sono costituiti da più subunità che comunicano tra loro, e il legame a una subunità può modificare l'affinità delle altre (cooperatività) — questo produce una curva sigmoideale a “S”, non la classica iperbole di Michaelis-Menten. - **Modificazioni covalenti:** fosforilazione e altre modifiche reversibili che attivano o inattivano l'enzima in tempi brevi. Esempio classico: la glicogeno fosforilasi, attivata dalla fosforilazione, e la glicogeno sintasi, inattivata dalla stessa modifica — lo stesso segnale chimico accende un enzima e ne spegne un altro. - **Espressione genica:** controllo di quanto enzima viene sintetizzato — più lento, ma capace di cambiare stabilmente la quantità totale disponibile (induzione). Questo meccanismo spiegherà, in Lezione 05, perché la γ -glutamyltransferasi (γ GT) aumenta con l'assunzione cronica di alcol o farmaci induttori senza che vi sia danno epatocellulare in corso.

Non tutte le variazioni di attività enzimatica plasmatica indicano danno cellulare: un punto che l'esame tende a testare mettendo in trappola chi associa automaticamente “enzima alto” a “cellule che muoiono”.

5.2 L'enzima come processore di informazione

La citazione di Seth Lloyd — “per fare c'è bisogno di energia, per sapere cosa fare c'è bisogno di informazione” — riassume la logica del corso: l'enzima fornisce l'energia, abbassando $\Delta G^\ddagger$, e insieme l'informazione strutturale che stabilisce dove, quando e a quale velocità una reazione avviene. Da qui in avanti l'enzima nel plasma è anche un segnale, non solo un catalizzatore: la stessa struttura studiata come base della funzione catalitica diventa la base per interpretare la sua comparsa, assenza o quantità nel sangue in chiave diagnostica.

6. Introduzione alla diagnostica clinica veterinaria

6.1 L'enzima come biomarcatore e l'iperenzimemia

Un enzima intracellulare che compare nel plasma, o un'attività enzimatica plasmatica che cambia, è un segnale indiretto di danno o di alterata funzione d'organo — non un semplice dato biochimico. In condizioni fisiologiche gli enzimi intracellulari sono presenti nel plasma solo a concentrazioni basali molto ridotte; un aumento significativo (**iperenzimemia**) segnala quasi invariabilmente un'alterazione a carico delle cellule che li contengono, tramite quattro possibili meccanismi:

1. **Necrosi cellulare:** rottura completa delle membrane, rilascio massivo di contenuto intracellulare.
2. **Aumentata permeabilità di membrana:** danno solo parziale, fuoriuscita selettiva di alcune molecole.
3. **Aumentata sintesi/induzione:** più enzima prodotto (es. γ GT indotta da alcol o farmaci), senza che la cellula stia morendo.
4. **Ridotta clearance:** diminuzione dell'eliminazione fisiologica dell'enzima, non un aumento di produzione.

Un singolo valore elevato, specie se di modesta entità, va sempre interpretato nel contesto clinico e mai come dato isolato: la distribuzione dei valori enzimatici plasmatici — specialmente in alcune specie come il cavallo — tende a essere fortemente asimmetrica, con



una “zona grigia” ampia di valori solo lievemente sopra il range di riferimento osservabile anche in soggetti clinicamente sani.

6.2 Anticipazione sugli isoenzimi

La stessa reazione può essere catalizzata da forme molecolari diverse dello stesso enzima — gli isoenzimi — espresse in modo tessuto-specifico; la forma molecolare rilevata nel plasma comincia a dire da quale organo l'enzima proviene. Due esempi anticipano i temi delle lezioni successive: la **lattato deidrogenasi (LDH)**, tetramero costruito da subunità H e M che combinandosi generano cinque isoenzimi (LDH-1 = H₄, tipico di cuore/rene/eritrociti, fino a LDH-5 = M₄, tipico del fegato); e la **creatina chinasi (CK)**, dimero con subunità M e B che danno tre combinazioni — CK-MM (muscolo scheletrico), CK-MB (cuore), CK-BB (encefalo).

6.3 Specificità veterinaria e variabilità di specie

Punto identitario del corso: non si tratta di enzimologia clinica umana con qualche nota veterinaria a margine, ma di un campo dove la variabilità di specie è essa stessa materia di studio. Non esiste un valore di riferimento “universale” per un enzima, ma sempre valori specie-specifici. L'esempio più netto: l'**alanina aminotransferasi (ALT)** è marcatore epatico affidabile nel cane e nel gatto, dove è prevalentemente specifica per il fegato, ma è in pratica un enzima muscolare nel cavallo, dove non ha alcun significato diagnostico epatico. Lo stesso vale per l'**ALP** tra cane e gatto: stessa sigla, stesso enzima, interpretazione clinica diversa a seconda della specie. Il cavallo mostra inoltre fisiologicamente attività di **CK e AST** più alte e più variabili che nelle altre specie, al punto che alcuni cavalli clinicamente sani superano valori che in un cane sarebbero già patologici — da qui la regola pratica di non basare mai una diagnosi di danno epatico o muscolare nel cavallo su un solo valore enzimatico isolato. Il gatto, all'opposto, ha attività di **γGT** plasmatica quasi indosabile in condizioni normali, per cui anche un piccolo aumento assume un peso diagnostico diverso.

6.4 Applicazioni biotecnologiche

Gli stessi principi di catalisi e specificità sono alla base di tre campi applicativi: **reagenti diagnostici** (la specificità enzimatica alla base dei dosaggi spettrofotometrici accoppiati), **ingegneria enzimatica** (modifica mirata di enzimi naturali per ottimizzarne stabilità e selettività industriale/diagnostica) e **terapie enzimatiche sostitutive** (laddove l'enzima manca, invece di essere in eccesso) — esempio concreto: l'alglucosidasi alfa, usata nella malattia di Pompe (deficit di alfa-glucosidasi acida lisosomiale).

7. Punti chiave

Quattro punti su cui si fonda tutto il resto del corso:

1. L'enzima agisce sulla cinetica, mai sulla termodinamica — abbassa $\Delta G^\ddagger$, non altera $\Delta G'^\circ$.
2. K_m e V_{max} descrivono affinità e velocità massima — la logica di ogni dosaggio parte da qui.
3. L'enzima è un processore di informazione — struttura e regolazione decidono dove, quando, quanto.



4. Da qui in avanti, l'enzima nel plasma è un biomarcatore, non solo un catalizzatore.

Questi punti non sono indipendenti tra loro: il punto due (cinetica) è lo strumento matematico che rende operativo il punto quattro (biomarcatore) — senza K_m e V_{max} non esisterebbe un modo rigoroso per progettare il dosaggio che trasforma un enzima da concetto biochimico a numero clinicamente interpretabile.

Glossario tecnico essenziale

Termine / Sigla	Definizione
[S]	Concentrazione del substrato.
[E] _{tot}	Concentrazione totale dell'enzima.
V_0	Velocità iniziale di reazione, misurata per evitare consumo di substrato/accumulo di prodotto.
V_{max}	Velocità massima a substrato saturante; $V_{max} = k_{cat} \times [E]_{tot}$.
K_m	Costante di Michaelis; [S] a cui $V_0 = V_{max}/2$; indice inverso di affinità enzima-substrato.
k_{cat}	Costante catalitica (numero di turnover): molecole di substrato convertite per sito attivo per unità di tempo a saturazione.
ΔG°	Energia libera standard di reazione; termodinamica, fissa la posizione di equilibrio.
$\Delta G^\ddagger$	Energia di attivazione; cinetica, fissa la velocità di reazione.
Stato transizione di	Configurazione molecolare a massima energia instabile lungo il percorso di reazione.
Adattamento indotto	Modello di Koshland: il sito attivo si rimodella dinamicamente attorno al substrato.
Isoenzimi	Forme molecolari diverse dello stesso enzima, stessa reazione, espressione tessuto-specifica.



Basi di Diagnostica di Laboratorio

Prof. Sergio Oddi

Termine / Sigla	Definizione
Iperenzimemia	Aumento dell'attività enzimatica plasmatica rispetto al range di riferimento.
Inibizione competitiva	Lega solo E; $K_m \uparrow$, V_{max} invariata; superabile con eccesso di substrato.
Inibizione noncompetitiva	Lega E e ES; $V_{max} \downarrow$ (pura: K_m invariata; mista: $K_m \uparrow$ o $K_m \downarrow$); non superabile con eccesso di substrato..
Inibizione incompetitiva/ac ompetitiva	Lega solo ES; $K_m \downarrow$ e $V_{max} \downarrow$ nella stessa proporzione; non superabile con eccesso di substrato.

Materiali didattici a uso
personale degli studenti del corso
— © Prof. Sergio Oddi, Università
degli Studi di Teramo. Vietata la
riproduzione, la diffusione e la
condivisione, anche parziale, con
qualsiasi mezzo.