

## **VITA ED EQUILIBRIO CHIMICO-FISICO**

Martino Rizzotti

*Dipartimento di Biologia, Università di Padova*

*Via Bassi 58 B, 35131 Padova*

*e-mail rizzotti@bio.unipd.it*

### **Introduzione: la cellula tende a qualche equilibrio?**

Volendo discutere la situazione chimico-fisica degli organismi viventi conviene riferirsi esclusivamente al sistema vivente più semplice e cioè alla cellula, anziché ad insiemi complessi di cellule che intrattengono una molteplicità di contatti specifici: infatti ogni complicazione non fa che rendere i problemi più difficili invece che aiutare ad isolarne gli aspetti essenziali. Anzi, per fissare le idee conviene pensare alla vita nei termini esemplificati da una singola cellula batterica e cercare di capire che cosa la distingua, nei suoi tratti chimico-fisici fondamentali, dai tanti oggetti non vitali del cosmo. Si assume, naturalmente, che tutte le cellule possiedano qualche tratto chimico-fisico fondamentale in comune, ma si tratta di un'assunzione tutt'altro che audace in quanto l'unità della biosfera terrestre, anche sotto questo profilo, non è più in discussione da tempo.

In ambito chimico-fisico, però, qualcuno vede la termodinamica come "il paradigma fondante della biologia" (Galzigna, 1998, p. 143), mentre altri asseriscono che tale branca scientifica è "troppo generale per dire qualche cosa di interesse specifico per la biologia" (Mahner e Bunge, 1997, p. 360). Non mi sembra però che la sua generalità le impedisca in linea di principio di individuare le proprietà termodinamiche specifiche della vita, se ci sono. Comunque la caratterizzazione termodinamica della vita è stata a lungo controversa soprattutto perché vari studiosi ritenevano che la cellula violasse il secondo principio della termodinamica in quanto aumentava l'ordine della materia assimilata. In realtà l'aumento di ordine avviene a spese del disordine prodotto nell'ambiente che circonda la cellula stessa.

Questa conclusione è stata suggellata da Schrödinger (1944, p. 7) e non viene più messa in discussione (vedi, per esempio, Ageno, 1986, p. 127).

Tuttavia si ha l'impressione che i problemi non siano scomparsi. Infatti all'affermazione che la cellula è un sistema aperto si accompagna spesso quella che è un sistema lontano dall'equilibrio. Ora, se è un sistema aperto (figura 1) non è definibile per essa una situazione di equilibrio né raggiunto né da raggiungere. Ci si riferisce naturalmente all'equilibrio chimico-fisico, cioè allo stato nel quale nessuna reazione chimica è favorita in quanto tale situazione coincide con quella di minima energia. In effetti possono avere luogo reazioni chimiche anche in un sistema all'equilibrio, ma se per esempio abbiamo a che fare con una reazione di isomerizzazione fra le molecole A e B, che potrebbero essere l'acido enolpiruvico e l'acido chetopiruvico (figura 2), tante sono le molecole A che si trasformano in B quante le molecole B che si trasformano in A. L'equilibrio chimico-fisico può ben essere dinamico, anziché statico, purché le reazioni che vi avvengono non comportino variazioni di energia per il sistema. E' noto che la situazione di equilibrio (peraltro convenzionale, vedi i paragrafi 3 e 8) è prevista solo per i sistemi isolati, per cui le due affermazioni di cui sopra sono incongruenti: o il sistema è aperto o per esso è definibile un equilibrio.

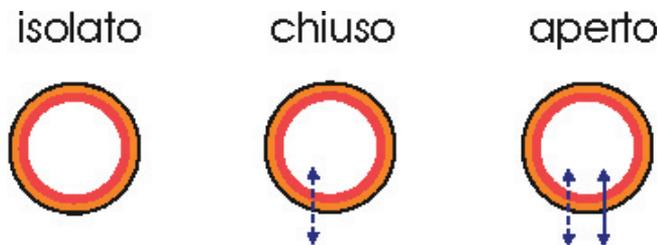


Figura 1. I sistemi termodinamici isolato (a sinistra), chiuso (al centro) e aperto (a destra). Un sistema isolato non ha scambi con l'ambiente, un sistema chiuso scambia energia e lavoro (---), un sistema aperto anche massa (—); non è rappresentato il sistema adiabatico che scambia solo lavoro (Galzigna, 1996). In un sistema aperto l'energia può essere scambiata anche tramite la massa; per esempio cellule un po' particolari possono assumere od espellere ATP (Rizzotti, 2000). La linea nera indica il confine fra cellula ed ambiente; quella grigio-scuro la membrana plasmatica (senza considerare le sue invaginazioni) e quella grigio-chiaro le strutture organiche (per lo più di natura polisaccaridica) annesse ad essa verso l'esterno.

Le incongruenze rivelano spesso qualche imbarazzo concettuale. Qui ne possono nascere per il fatto ben noto che le cellule non sono sistemi aperti banali. I comuni sistemi naturali considerati aperti possono perfino essere sede di reazioni nucleari, come le stelle, ma per il resto scambiano massa ed energia con l'ambiente nel modo più diretto; così fanno, in effetti, i corpi che popolano il cosmo compresi quelli naturali non viventi che popolano il nostro pianeta. Si comportano diversamente, invece, alcuni corpi artificiali (Rizzotti, 1984, in contrasto con Negrotti, 2000) quali i motori, che sono appositamente progettati per scambiare massa ed energia secondo modalità indirette determinate dai loro vincoli strutturali. Alcuni motori sono considerati sistemi chiusi, come quelli a molla o elettrici, e scambiano solo energia e lavoro, ma sempre secondo modalità prestabilite e sostanzialmente indipendenti dall'ambiente entro ampi limiti. Altri sono considerati sistemi aperti, per esempio i motori a scoppio, i quali sono pure sede, come le cellule, di reazioni chimiche, con la differenza notevole che le cellule non sono macchine termiche in quanto non ricavano lavoro da gradienti di temperatura. Inoltre non subiscono, almeno su breve scala temporale, significative variazioni di volume o di pressione. Sono semmai più simili alle pile chimiche. In ogni caso le cellule sono una sorta di motori naturali, ma, rispetto ai motori artificiali, sono organizzate in modo tale da effettuare autonomamente gli scambi con l'ambiente; sono, insomma, degli automi chimici isotermi.

In effetti la vita cellulare implica notoriamente la presenza di reazioni chimiche: in questo consiste il metabolismo. Senza reazioni chimiche non c'è vita, o c'è al massimo qualche forma di vita sospesa. D'altra parte le reazioni non possono essere semplicemente quelle che hanno luogo in un sistema chimico all'equilibrio. Nelle cellule vive la concentrazione delle molecole A può rimanere a lungo costante nel tempo, però quelle molecole compaiono a partire da molecole diverse da quelle cui danno origine. Per evitare confusioni con il caso precedente è opportuno in questo caso non parlare di equilibrio dinamico, bensì di stato stazionario (Omodeo, 1977, p. 84; Galzigna, 1996, p. 115). Anche quest'espressione può essere considerata poco appropriata perché non si tratta di uno "stato" inteso come condizione omogenea di stasi in senso chimico-fisico, bensì di un insieme di processi organizzati (e orientati) in termini spazio-temporali (Ho, 1993, p. 23). Comunque nel cosiddetto stato stazionario si verificano situazioni che simulano quelle dell'equilibrio, cioè la costanza di concentrazione di molecole che subiscono una interconversione. Per

esempio l'acido enolpiruvico viene continuamente liberato al termine della glicolisi e si trasforma subito in acido chetopiruvico, il quale viene a sua volta prelevato dal ciclo degli acidi tricarbossilici mediante la sua reazione con il coenzima A. Tuttavia in questo caso le concentrazioni delle due forme (tautomeri) dell'acido piruvico sono diverse da quelle dell'equilibrio, che sono determinate unicamente dalle rispettive energie nelle condizioni date. Infatti al fattore energetico si aggiunge quello cinetico dovuto alla velocità di ingresso dell'acido enolpiruvico prodotto dalla glicolisi e alla velocità di uscita dell'acido chetopiruvico in seguito al suo consumo da parte del ciclo degli acidi tricarbossilici. La questione è ancora più complicata, per la verità, perché l'acido piruvico può anche derivare dalla degradazione di alcuni amminoacidi, e naturalmente anche queste reazioni contribuiscono alla sua concentrazione nello stato stazionario. Questa può pure differire ampiamente da un tipo cellulare ad un altro o da una fase metabolica ad un'altra all'interno della medesima cellula.

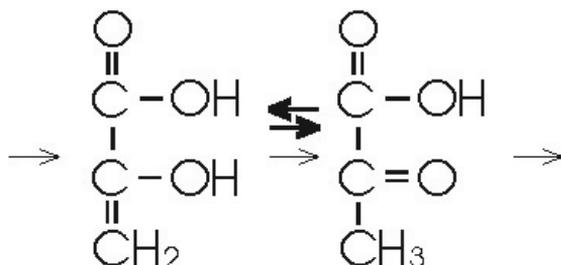


Figura 2. Interconversione tra le forme enolica e chetonica (tautomeri) dell'acido piruvico. La doppia freccia grossa si riferisce all'equilibrio, mentre le frecce sottili unidirezionali si riferiscono allo stato stazionario del metabolismo.

Anche la concentrazione cellulare dell'ATP è il risultato dello stato stazionario: esso si trasforma continuamente in ADP e viene riformato continuamente a partire da esso. Si tratta di una situazione più complicata di quella dell'acido piruvico in quanto siamo in presenza di un ciclo che comunque, come nel caso dell'acido piruvico, dipende da altre reazioni, le quali assicurano pure un continuo apporto e una continua dissipazione di energia. Qui la differenza rispetto all'equilibrio è clamorosa. Infatti se lasciassimo ATP e ADP in soluzione acquosa a pH neutro non assisteremmo affatto allo stabilirsi di un equilibrio fra le due molecole con concentrazioni

vagamente simili a quelle delle cellule vive. Per esempio nelle cellule dell'arcinota specie batterica *Escherichia coli* l'ATP ha una concentrazione 7,90 mM e l'ADP 1,04 mM (Lehninger ed altri, 1994, p. 405), mentre abbandonando queste due specie chimiche a sé stesse in una provetta (considerandola isolata) si assisterebbe alla lenta trasformazione di tutto l'ATP in ADP. A rigore l'ATP non scomparirebbe proprio completamente: ne rimarrebbe all'equilibrio una bassissima concentrazione. Per esempio nei mitocondri di fegato di ratto le concentrazioni di ATP e ADP sono, rispettivamente, 10 e 0,01 mM, mentre è stato calcolato che all'equilibrio esse sarebbero 0,000001 e 10 mM (Nicholls, 1982). Insomma la situazione convenzionale di minima energia (vedi paragrafi 3 e 8), a parità di altre condizioni, non è quella che prevede un rapporto di concentrazione fra ATP e ADP vicino allo stato stazionario delle cellule, dove il primo composto supera il secondo, bensì quella che si stabilisce dopo l'idrolisi quasi completa dell'ATP in ADP.

Comunque l'ATP e l'ADP delle cellule vive tendono pure essi ad andare incontro all'idrolisi dissipando energia, senonché il fenomeno non è affidato soltanto alle energie di reazione, ma anche alle cinetiche, come si è detto, ed è noto che le cinetiche cellulari sono regolate fundamentalmente dal corredo enzimatico. Fra le innumerevoli reazioni esoergoniche possibili avvengono quasi esclusivamente quelle catalizzate da enzimi. La conversione dell'acido enolpiruvico in acido chetopiruvico è una delle poche eccezioni. Per questo lo stato stazionario della cellula non ci dice praticamente nulla sulle concentrazioni delle varie molecole che si avrebbero in assenza di enzimi. Oltretutto gli enzimi stessi sono molecole e partecipano pure essi al metabolismo come substrati e come prodotti di sistemi enzimatici. In tutta questa fenomenologia metabolica, dunque, non c'è traccia di equilibri chimico-fisici.

Per intravedere un equilibrio non si può che isolare il sistema, il che significa far cessare ogni suo scambio con l'ambiente. In effetti la cellula è necessariamente aperta agli scambi con l'ambiente se si vuole salvaguardare in essa i processi vitali. Ma nessun sistema è aperto, chiuso o isolato per necessità: siamo noi a stabilire dove e come delimitarlo (figura 1). Questo vale tanto per le cellule quanto per i motori e per qualunque altro sistema fisico. Di fatto i sistemi classici della termodinamica potrebbero essere realizzabili solo idealmente. Per esempio un sistema fisico rigorosamente isolato non può esistere nell'universo attuale perché tutti sono esposti ad essere colpiti prima o poi da un quanto elettromagnetico o da una

particella. In ogni caso la cessazione degli scambi significativi della cellula con l'ambiente può effettivamente essere imposta, almeno idealmente. Tale cessazione induce a sua volta la cessazione del metabolismo e quindi della vita. Questo equivale a dire che la situazione di equilibrio chimico-fisico implica l'assenza di processi vitali. Caratterizzare la vita cellulare mediante la morte può sembrare paradossale; il fatto è che non determinando la situazione di equilibrio non si può determinare neppure la distanza energetica che separa la cellula, una volta isolata, da esso.

Negli accenni al problema di capire qual'è la situazione di equilibrio chimico-fisico della cellula sono stati richiamati di volta in volta l'isolamento con esaurimento dell'ATP, il congelamento, la disidratazione, l'ossidazione, la riduzione e l'idrolisi. Queste diverse soluzioni saranno discusse di seguito senza peraltro citare le fonti che le suggeriscono perché si tratta di passi spesso oscuri e vaghi che esigerebbero lunghe interpretazioni. Ritengo più produttivo passare direttamente a discutere le soluzioni ricavate da tale lavoro di interpretazione.

### **Isolamento termodinamico**

La connessione degli organismi con l'ambiente "è a tal punto obbligata che diventa impossibile anche solo concepire l'esistenza di un organismo isolato oppure isolabile dal proprio ambiente" (Forestiero, 2000). Questo è vero se dell'organismo o della cellula si vuole salvaguardare la vita; non lo è più se ci interessa indagare un particolare fenomeno termodinamico, indipendentemente dal fatto che sia incompatibile con la vita. L'operazione di isolamento (ideale o sperimentale) di una cellula dall'ambiente circostante è relativamente semplice. Tale isolamento dovrebbe avvenire all'esterno della membrana plasmatica e, precisamente, subito all'esterno delle strutture annesse ad essa come pareti, involucri, glicocalice (figura 1).

Forse le conseguenze di un tale trattamento non sono mai state analizzate a fondo. La Ho (1984, p. 21) dice che in tal caso "interviene la disintegrazione e subentra la morte", ma questo, per i nostri scopi, non è sufficiente. Innanzitutto alcuni processi cellulari continuano certamente per un po', non tanto per inerzia meccanica, quanto perché ci sono enzimi e substrati che, almeno per un tempo molto breve, interagiscono formando prodotti. Addirittura, se le strutture esterne alla membrana plasmatica hanno un certo spessore, continuano per un po' anche gli scambi

attraverso la stessa membrana plasmatica. In questi processi residui (che configurano una sorta di necrobiochimica dopo isolamento) può venire perfino sintetizzato ATP. Questa particolare necrobiochimica è comunque arretrata; lo dimostra il fatto che non si sa quanto possa durare l'isolamento compatibile con la ripresa dei fenomeni vitali, né si sa quale sia l'evento che determina la perdita della possibilità di riavviare il metabolismo, cioè quale sia il fenomeno critico nel determinare la morte cellulare, ammesso che sia lo stesso per tutte le cellule.

Comunque il destino dell'ATP rimane soprattutto quello di venire idrolizzato. La concentrazione di ATP varia parecchio nei diversi tipi cellulari, da 7,9 mM in *E. coli*, come già detto, a 8,05 nella cellula muscolare di ratto, a 3,38 nei globuli rossi della stessa specie, a 2,25 in quelli della nostra specie. Inoltre questa molecola è soggetta a rapido ricambio: in *E. coli* ha una vita media di pochi secondi, di un minuto o due in una cellula epatica umana. La denaturazione delle ATPasi, come delle altre proteine, ha tempi ben più lunghi, quindi l'ATP potrebbe venire idrolizzato rapidamente con la cinetica usuale senza venire ricostituito. Tuttavia ci si aspetta che gli enzimi mantengano a lungo, anche per molte ore, la loro conformazione nativa. Se è così essi conservano tutte le proprietà dipendenti da questa: non solo le proprietà catalitiche, dunque, ma anche quelle regolative. Una delle più diffuse è che la loro attività catalitica sia inibita da una bassa concentrazione di prodotto ed esaltata da un'alta concentrazione di substrato, cosicché è generalmente presente un'autoregolazione delle concentrazioni di ciascun metabolita. I diversi enzimi hanno peraltro tempi di denaturazione molto diversi, ma dal momento che tale processo determina la scomparsa contemporanea dell'effetto catalitico e di quello regolativo non influisce in modo rilevante sulla concentrazione di reagenti e prodotti su breve scala temporale. Venendo all'ATP, la sua mancata ricostituzione dovrebbe in generale inibire le ATPasi bloccando così la sua idrolisi. In effetti è dubbio che in qualche cellula, anche a vita sospesa (vedi sotto), la concentrazione di ATP cada a zero. Per la verità è una nozione della necrobiochimica che i muscoli irrigiditi nel rigor mortis sono privi di ATP, ma questo avviene nelle cellule muscolari aperte agli scambi con i liquidi biologici circostanti e potrebbe non avvenire in condizioni di isolamento.

In ogni caso le cellule condensano ATP da ADP + fosfato (usando il termine condensazione nel senso di reazione inversa a quella di idrolisi) e fanno questo in quanto dispongono di un'altra riserva energetica spendibile nella

condensazione di ATP. Finché anche quella riserva non è esaurita l'ATP non cade a zero. Quindi anche se l'ATP scompare momentaneamente, esso può venire ricostituito a partire dalla riserva energetica che ne determina la risintesi. D'altra parte tale riserva coinvolge gran parte delle molecole che si trovano in una cellula e che ne costituiscono le strutture fondamentali. La limitazione è costituita dal fatto che una cellula non può ricavare energia da tutti i suoi lipidi e da tutte le sue proteine, altrimenti scompaiono le sue membrane e i suoi enzimi ed essa non funziona più come cellula. Quindi l'esaurimento dell'ATP implica l'autodistruzione della cellula, che però è impossibilitata a procedere fino in fondo. Insomma il vago suggerimento che in una cellula isolata si raggiunga l'equilibrio con l'azzeramento dell'ATP porta ad un paradosso: oltre un certo limite di autodistruzione vengono meno le stesse strutture e gli stessi meccanismi che consentono l'autodistruzione stessa.

Comunque se nella cellula isolata tutti gli enzimi concatenati nel metabolismo rimangono inibiti perché non entrano i substrati iniziali e non escono i prodotti finali, si perviene quasi istantaneamente ad un blocco del metabolismo stesso. A questo punto alle reazioni rapide, in quanto catalizzate da enzimi, subentrano quelle lente, che possono anche essere catalizzate aspecificamente da sostanze presenti nella cellula sotto forma di proteine denaturate mescolate a piccoli metaboliti, e che non hanno necessariamente a che vedere con quelle che costituiscono il metabolismo. Probabilmente fra le prime ci sono quelle più sensibili alla temperatura, cioè quelle che portano appunto alla perdita della conformazione nativa da parte delle proteine (ossia alla loro denaturazione) perché queste hanno una bassa energia di attivazione. Nonostante la denaturazione abbia tempi molto diversi per i diversi enzimi, il blocco del metabolismo non scompare, probabilmente, perché quelli ancora attivi rimangono sensibili ai metaboliti che ne regolano il gioco delle inibizioni e delle attivazioni.

Un po' alla volta si faranno comunque sentire anche le energie di reazione vere e proprie, quelle che riguardano legami covalenti anziché legami deboli, per cui avranno luogo reazioni che comportano maggiore liberazione di energia, a cominciare dall'idrolisi dell'ATP che, nelle condizioni definite "standard", libera 30,5 kJ/mole (anche se nelle condizioni intracellulari effettive ne libera fra le 50 e le 65: Lehninger ed altri, 1994, p. 405). Questo composto in soluzione acquosa a pH neutro è piuttosto stabile a causa della sua elevata energia di attivazione, il cui massimo valore possibile si può considerare pari a quello del legame fosforo-ossigeno, cioè a 385 kJ/

mole (un po' superiore a quello dei tioesteri). Invece che in pochi secondi o minuti verrebbe idrolizzato in tempi dell'ordine dei mesi o degli anni, tenendo conto dell'attività catalitica aspecifica del materiale cellulare. Tuttavia non si raggiungerebbe un equilibrio fra ATP ed ADP, come si dice convenzionalmente per fare i conteggi utili alla comune pratica di laboratorio (con i tempi che le sono propri). Infatti in condizioni standard l'ADP, trasformandosi in AMP + fosfato, libera la stessa energia dell'ATP, ed analoga è pure l'energia di attivazione. Insomma l'idrolisi proseguirebbe interessando anche l'ADP, che viene quindi sottratto all'equilibrio termodinamico convenzionale (vedi paragrafo 8).

Energie di idrolisi analoghe all'ATP hanno altre anidridi fosforiche come i fosfageni o il pirofosfato (il quale libera 33,4 kJ/mole), nonché i tioesteri (l'acetil-coenzima A libera 31 kJ/mole). In effetti i tempi delle diverse reazioni sono estremamente differenziati, e molte reazioni potrebbero richiedere tempi lunghissimi, tanto che l'equilibrio, soprattutto se sono da idrolizzare legami carbonio-carbonio, viene raggiunto in tempi ragionevoli solo procedendo a 700°C (Bada ed altri, 1995). A titolo di esempi sparsi, a pH 7,0 la vita media del ribosio è di 73 minuti a 100°C (Larralder ed altri, 1995), quella dell'adenina di 80 anni a 37°C, quella della decarbossilazione dell'alanina è stimata in pochi minuti a 350°C (Bada ed altri, 1995). Ma interverrebbero molte altre idrolisi in quanto esse interessano praticamente tutti i polimeri, che costituiscono la maggior parte del materiale organico della cellula. Inoltre avrebbero luogo molte reazioni diverse dall'idrolisi, per lo più con alte energie liberate ed anche con alte energie di attivazione.

Per controllare meglio quale può essere il destino di una cellula isolata si può partire dalla massa in dalton di una cellula di *E. coli*, che è  $50 \times 10^{10}$  (Watson ed altri, 1987, p. 101). Dal momento che l'acqua costituisce il 70% della massa, quest'ultima è ripartito sostanzialmente fra  $15 \times 10^{10}$  dalton di polimeri e  $35 \times 10^{10}$  dalton di molecole d'acqua. Se si assume come massa molecolare media di un monomero 150 dalton (quella dell'acido glutammico è di 147), e sapendo che quella dell'acqua è 18, risulta che una cellula di *E. coli* ha  $0,1 \times 10^{10}$  monomeri e  $2,0 \times 10^{10}$  molecole d'acqua, cioè 20 molecole d'acqua per ogni monomero. Ciò significa che c'è acqua formalmente sufficiente per idrolizzare tutti i polimeri in monomeri. Rimanendo, dopo l'idrolisi in monomeri, 19 molecole d'acqua per monomero, ce ne sono formalmente a sufficienza anche per l'idrolisi completa dei singoli monomeri e dei piccoli metaboliti. Tuttavia l'idrolisi

completa potrebbe non verificarsi perché l'eccesso d'acqua non è tale, probabilmente, da spostare tutte le reazioni verso l'idrolisi. Inoltre nei batteri Gram-positivi con parete spessa come *Bacillus subtilis* le molecole d'acqua richieste per idrolizzare tutta la parete sono molte di più che in *E. coli*, in quanto gli strati di peptidoglicano sono alcune decine anziché uno soltanto. Ancora meno acqua, in proporzione, c'è nelle endospore prodotte da *B. subtilis*, dove l'involucro costituisce il 50% del peso secco, e lo stesso citoplasma è fortemente disidratato.

Comunque tutte le forme di resistenza a vita sospesa sono più o meno disidratate. Esse comprendono, oltre alle endospore, altri tipi di spore di Procarioti, oltre a spore, semi, frutti secchi, cisti, e così via di Eucarioti. Per fare qualche esempio familiare, l'acqua in peso va dal 90% nelle foglie di spinacio, all'85% nelle radici di carota al 75% nei tuberi di patata, mentre nei semi di pisello è il 13% e in quelli di ricino il 6% (Cappelletti, 1964, p. 392). In questi organi, se lasciati termodinamicamente isolati, l'idrolisi sarebbe inevitabilmente meno estesa, essendo la quantità d'acqua limitata. Per inciso l'idrolisi sarebbe anche più lenta, essendo la soluzione più viscosa proprio per la ridotta quantità d'acqua. Sussistendo differenze così pronunciate, non si può affermare che il puro isolamento conduca ad una situazione che caratterizza tutte le cellule, dal momento che emergono differenze nella situazione di equilibrio fra cellula e cellula in dipendenza della situazione in cui si trova la cellula stessa prima dell'isolamento. Il puro isolamento non si può dunque considerare un metodo che porti ad individuare un equilibrio caratteristico della vita in quanto tale, quindi comune a tutte le cellule.

Per scrupolo di completezza si può rilevare che le reazioni esoergoniche producono un aumento di temperatura del sistema isolato. L'ordine di grandezza dell'aumento è calcolabile in *E. coli* assumendo che tutte le molecole d'acqua reagiscano (cosa improbabile, come detto sopra, dato il loro eccesso limitato) liberando in media 10 kJ/mole per ciascun legame idrolizzato, cioè circa 2,4 kcal/mole. Essendo le molecole d'acqua  $2,0 \times 10^{10}$ , esse costituiscono solo  $3 \times 10^{-13}$  moli, per cui le calorie (1/1000 di kcal) liberate da esse risultano circa  $1 \times 10^{-10}$ . Tenendo presente che una cellula pesa 10-12 g e che questa massa può essere considerata tutta d'acqua (anche se lo è solo nella misura del 70%), dividendo 10-10 per 10-12 si scopre che la temperatura sale di 100°C. Se si parte dalla condizione standard di 298 K (25°C) si arriva a 398 K. In realtà una certa quota di calore se ne va nel passaggio parziale dell'acqua allo stato gassoso. Inoltre

l'aumento di temperatura determina anche un aumento di pressione da 1,00 a 1,34 atmosfere, assumendo che tutta l'acqua sia allo stato gassoso. Secondo la legge del gas ideale il volume della cellula di *E. coli* verrebbe ad essere di  $0,734 \mu\text{m}^3$ . Comunque questi conteggi servono solo a dare un'idea dei valori in gioco, ma non influiscono in misura significativa sull'equilibrio. Inoltre questo non dipende dalle vicissitudini del sistema, ma solo dalle condizioni chimico-fisiche finali. In sostanza il metodo più rapido per raggiungere l'equilibrio è quello di aumentare molto la temperatura e riportarsi alla fine lentamente a quella che avrebbe raggiunto la cellula isolata.

### **Digressione sulle strutture dissipative**

In un tentativo di caratterizzare le cellule dal punto di vista termodinamico non si può ignorare che molti autorevoli studiosi (per esempio Atkins, 1988, p. 195; Schneider e Kay, 1995; Mahner e Bunge, 1997, p. 143) le considerano delle "strutture dissipative" nel senso di Prigogine (1979; Nicolis e Prigogine, 1989). Per evitare malintesi conviene precisare subito che queste strutture sono molto particolari. Infatti tutti i sistemi macroscopici dell'universo sono di fatto sistemi dissipativi, chiusi o aperti (figura 1). Ma qui ci si sta riferendo soltanto ad un particolare tipo di sistemi dissipativi, cioè alle cosiddette strutture dissipative, appunto. E' abbastanza risaputo che si tratta di strutture quasi-periodiche che compaiono in corpi fluidi opportunamente vincolati e consistono in flussi di massa determinati da un gradiente energetico che cade all'interno di un certo intervallo di valori tipico per ogni sistema.

Che cosa si può obiettare a questa assimilazione delle cellule alle strutture dissipative (Rizzotti, 1996)? Che, in primo luogo, le cellule non sono strutture quasi-periodiche in un fluido continuo. Il loro stato fisico non è facile a definirsi, ma certamente i loro caratteri di fluido (ovviamente non gassoso, semmai liquido) sono quanto meno parziali. A differenziarle in modo netto da un liquido è in particolare la loro disomogeneità macroscopica (cioè ad un livello superiore a quello molecolare) dovuta ad elementi organizzativi relativamente stabili (peraltro lontani, sia in estensione sia in ripetitività, anche dallo stato solido cristallino). Tali elementi organizzativi possono variare nel tempo per cause interne od esterne, ma certo esistono, il che significa che molte molecole delle cellule

sono reciprocamente vincolate nello spazio nel senso che non sono soggette al semplice moto casuale di tutte le molecole di uno stato condensato definibile come liquido. Il più importante di questi elementi organizzativi è costituito dalla membrana plasmatica, che è propria di tutte le cellule (procarioti ed eucarioti), le circonda completamente e vincola così nello spazio anche le molecole diffusibili.

Come conseguenza della loro relativa stabilità organizzativa le cellule possono venire distanziate o raggruppate nello spazio secondo schemi arbitrari. Una singola cellula batterica può venire tolta dal suo brodo di coltura liquido, trasferita ad un altro terreno di coltura e lasciata fondare una nuova colonia per duplicazioni ripetute. Nulla del genere può essere fatto ad una singola struttura dissipativa: essa non può neppure venire distanziata a piacimento dalle sue contigue né, tantomeno, venire tolta dal liquido, senza farla scomparire come struttura; essa può esistere solo in quanto parte di una sovrastruttura continua quasi-periodica.

In secondo luogo le cellule non compaiono o scompaiono in dipendenza di un gradiente energetico. Qui c'è un riferimento più esplicito ai sistemi isolati: per le cellule l'isolamento dall'ambiente e l'arresto del metabolismo non implicano affatto la perdita immediata e completa dell'organizzazione. Invece per le strutture dissipative l'isolamento, che comporta in particolare l'azzeramento del gradiente energetico, implica proprio la loro scomparsa completa e immediata (salvo che per l'inerzia). In realtà non occorre neppure arrivare all'azzeramento: è sufficiente che il gradiente energetico si riduca o aumenti in misura tale da uscire dall'intervallo critico. Inversamente, al ristabilirsi degli scambi con l'ambiente e dei precedenti gradienti energetici, le strutture dissipative ricompaiono, mentre ciò non avviene affatto per le cellule: vorrebbe dire riesumare la generazione spontanea.

L'obiezione citata trova una conferma particolarmente evidente nelle forme di resistenza già citate. Queste forme mantengono le strutture cellulari nonostante il metabolismo cada a zero e quindi non sussista alcun flusso di massa. Qualcuno può ribattere che in tali forme la vita è sospesa, non si manifesta alcun fenomeno vitale, e quindi non si ha realmente a che fare con cellule vive. Questo è vero, ma si può controbattere che subito prima o subito dopo l'arresto dei flussi energetici e materiali (cioè subito prima della sospensione della vita o all'inizio della germinazione) è presente un minimo di attività metabolica e, nonostante sia quasi a zero, non per questo determina significative variazioni organizzative.

Del resto l'organizzazione cellulare permane per tempi notevoli anche dopo la morte.

In effetti la fenomenologia complessiva delle strutture dissipative differisce profondamente da quella della cellula. Questa non ha affatto bisogno di vivere in un gradiente energetico ambientale. Un batterio può sì vivere fra una superficie solida organica e l'ossigeno gassoso dell'atmosfera, e sfruttare il secondo a fini energetici catalizzando l'ossidazione della materia organica; tuttavia lo stesso batterio può crescere anche in un brodo organico nel quale è presente l'ossigeno in soluzione. Il gradiente rilevante, dunque, non è quello ambientale, ma semmai (fra gli altri) quello fra esterno ed interno della membrana plasmatica. La membrana plasmatica, d'altra parte, non è un effetto del gradiente, bensì una sua causa; essa non si forma in seguito al gradiente, ma preesiste ad esso ed è una delle condizioni affinché esso si formi. Del resto è ben noto che può esistere un gradiente dipendente dalla presenza di una membrana e non legato a fenomeni vitali com'è quello prodotto da una membrana semipermeabile frapposta fra due soluzioni acquose che differiscono per i soluti indiffusibili attraverso di essa. Un tale gradiente (detto di Donnan) non dipende da un flusso energetico e non dissipa energia.

Anche l'entropia come misura del disordine interno al sistema segue un andamento diverso nelle strutture dissipative e nella cellula. Nei fluidi l'entropia si riduce all'apparire delle strutture dissipative e aumenta appena queste scompaiono, mentre nelle cellule il suo valore si mantiene costantemente basso, che il metabolismo sia intenso o nullo. Questo avviene proprio perché l'organizzazione della cellula dipende in ultima analisi dal metabolismo, come tutto ciò che c'è in una cellula, ma non dipende immediatamente dalla sua intensità o dai flussi energetici che ne sono alla base: l'organizzazione cellulare ha una sua relativa stabilità, come si è detto.

Talvolta chi sostiene che le cellule sono strutture dissipative sembra trovare più appropriata l'applicazione di questa idea a particolari sottoinsiemi delle cellule stesse o ad aspetti del metabolismo, ma non evita con questo l'obiezione già fatta: le strutture morfologiche o metaboliche non scompaiono e ricompaiono affatto in conseguenza della scomparsa e della ricomparsa di determinati gradienti energetici. Altri rilevano come le semplici strutture dissipative usate negli esempi e nei calcoli siano molto lontane dalla complessità della cellula e che quindi non simulino abbastanza da vicino né le singole cellule (pur rimanendo queste, secondo

loro, vere strutture dissipative) né complessi pluricellulari o loro funzioni. E' concepibile che si possano progettare delle strutture dissipative più complicate degli esempi dei quali disponiamo oggi, ma la loro esistenza sarebbe ancora più critica e comunque non farebbe superare il problema che le strutture dissipative, di qualsiasi complessità, si formerebbero ai giusti valori dei gradienti energetici e si dissolverebbero una volta che questi gradienti uscissero dai valori adatti. Insomma il grado di complessità è irrilevante, e semmai indebolisce la pretesa assimilazione delle cellule alle strutture dissipative. Per concludere questo punto senza ombra di ambiguità, ribadisco che le cellule, pur essendo sistemi dissipativi, non sono affatto strutture dissipative nel senso di Progogine e continuare a considerarle tali è solo fonte di confusione ed errori, a mio parere.

### **Isolamento dopo congelamento rapido**

Il congelamento rapido consiste in uno scambio fra la cellula e l'ambiente circostante (che potrebbe essere di azoto liquido) di sola energia termica e non di massa, dopodiché il sistema cellula si può considerare sperimentalmente isolato. Il congelamento si riferisce al cambiamento di stato dell'acqua, naturalmente, cosicché questa molecola viene posta ancora una volta al centro dell'attenzione. Dopo l'operazione l'acqua si ritrova solidificata per cui scompare come solvente, nonostante sia in forma vetrosa, non cristallina. E' noto che i composti vetrosi sono dei liquidi, strutturalmente, ma sono dei solidi agli effetti della mobilità molecolare. Il congelamento rapido non modifica né i rapporti di concentrazione né i rapporti spaziali fra i componenti molecolari della cellula.

Invece il congelamento lento sposta i rapporti fra reagenti e prodotti delle reazioni la cui energia dipende dalla temperatura, e concede effettivamente il tempo per il verificarsi di reazioni chimiche. Inoltre concede il tempo per spostamenti nello spazio quali la riunione e il riorientamento di molecole d'acqua in cristalli di ghiaccio e di molecole di lipidi delle membrane in strutture paracristalline, determinando una disorganizzazione delle cellule.

Nel materiale congelato le reazioni si svolgono a velocità nulla a tutti gli effetti pratici e comunque a velocità enormemente inferiore che alle temperature vitali. Anche se le reazioni sono lentissime, esse rimangono

energeticamente possibili, comprese quelle alle quali partecipa l'acqua. In sostanza se non si pongono limiti temporali l'equilibrio è perfettamente uguale a quello raggiunto dopo isolamento della cellula alla sua temperatura vitale (paragrafo 2) e quindi non caratterizza allo stesso modo tutte le cellule. Nell'esito finale scompare pure ogni differenza fra congelamento rapido e lento. Anche qui le reazioni portano ad un aumento di temperatura che però, come si è detto, non comporta variazioni significative nell'equilibrio.

Durante il congelamento non sussistono fenomeni vitali, ovviamente, ma dal momento che questi possono riprendere ci si trova in una situazione di sospensione della vita. Spesso le cellule congelate rapidamente, che comprendono notoriamente spermatozoi ed embrioni di Mammiferi, possono essere riportate in vita mediante lo scongelamento. Se questa operazione non è altrettanto rapida del congelamento fa attraversare alla cellula una situazione simile al congelamento lento. Tuttavia per una cellula singola lo scongelamento molto rapido è più facile dato il piccolo volume da riscaldare e la possibilità di farlo rapidamente in tutto il volume mediante radiazione infrarossa e microonde.

Uno stato di congelamento si presenta talvolta anche in natura (come forma di ibernazione) in organismi predisposti ad un congelamento inevitabilmente più lento di quello ottenuto tramite l'immersione nell'azoto liquido. In questi organismi le attività vitali si ripristinano quando la temperatura si riporta a valori normali.

### **Isolamento dopo disidratazione**

Al materiale previamente congelato in modo rapido si può far seguire l'asportazione sotto vuoto dell'acqua libera, cioè della quota non direttamente legata a componenti macromolecolari. Si realizza in tal modo il processo noto come liofilizzazione. Anche questa operazione, come il congelamento, riguarda essenzialmente la situazione dell'acqua.

Nel materiale liofilizzato sono impediti le reazioni chimiche alle quali partecipa l'acqua. Venendo meno l'acqua come reagente, l'equilibrio chimico cambia in modo sostanziale rispetto ai due casi precedenti, cioè all'isolamento alla temperatura vitale e all'isolamento dopo congelamento. Nel materiale disidratato, comunque, si avvicina allo zero la velocità di tutte le reazioni chimiche. Di fatto si ha pure qui un sistema solido ma,

avendo eliminato quasi completamente la molecola più abbondante, quella dell'acqua, le reazioni più comuni non possono essere quelle di idrolisi e l'equilibrio chimico-fisico è nettamente diverso. In ogni caso il risultato all'equilibrio dipende dalla composizione della cellula, a parte l'acqua, e quindi neppure qui si giungerebbe ad una caratterizzazione comune di tutte le cellule.

Accelerando diffusione e reazioni con temperature molto alte, diciamo di fusione, e poi raffreddando lentamente per non fissare stati metastabili, la situazione di equilibrio si raggiunge nel modo più rapido. E' probabile che questa sarebbe caratterizzata da separazione di cristalli di vari componenti: il carbonio si separerebbe sotto forma di grafite, e poi si formerebbero cristalli di fosfati e di composti dell'azoto e dello zolfo dipendenti dal potenziale di ossido-riduzione. Anche qui, come nelle cellule isolate con la loro acqua, la composizione iniziale della cellula influisce sulle concentrazioni all'equilibrio, non chiarendo se esista o meno un equilibrio tipico di tutte le cellule. Anche qui non si ha nessuna differenza, alla fin fine, fra la disidratazione dopo il congelamento e la disidratazione effettuata in qualsiasi altro modo.

In certi casi di batteri e di lieviti le cellule liofilizzate riprendono il metabolismo una volta reidratate. La disidratazione senza previo congelamento crea un sistema diverso perché concede il tempo per reazioni e riorganizzazione di strutture. Tale fenomeno si verifica anche in natura mediante una espulsione attiva di acqua. Si sono già citati i casi più comuni di forme di resistenza (paragrafo 2). Essi sono proprio esempi di vita latente raggiunta mediante una espulsione attiva di acqua. Naturalmente i fenomeni vitali riprendono in presenza di opportuni segnali, in particolare di acqua liquida.

### **Ossidazione completa**

Indicazioni più illuminanti su una possibile situazione di equilibrio comune a tutte le cellule potrebbero venire considerando la cellula assieme ad una porzione del suo ambiente, isolando cioè un sistema "cellula + ambiente". L'ambiente che ha interesse isolare insieme alla cellula è solo una porzione dell'ambiente generale: quest'ultimo è infatti il cosmo intero. Nell'epoca cosmologica attuale l'ambiente cosmico è caratterizzato, nel suo complesso, da una temperatura assoluta prossima allo zero (3 K) e

da un vuoto molto spinto, per cui la situazione di equilibrio della cellula coincide sostanzialmente con quella raggiunta in seguito alla liofilizzazione. Tuttavia le cellule non sono collocate in un tale ambiente se non in via del tutto fortuita e morendovi. L'ambiente che ha interesse considerare coincide semmai con quello molto più limitato nel quale le cellule vivono normalmente e si riproducono. Però non sembra molto utile pensare semplicemente ad un batterio + un volume uguale, per esempio, del suo terreno liquido o solido di coltura. Per fare una scelta teoricamente più produttiva bisogna accentuare dell'ambiente alcune condizioni ritenute particolarmente significative in modo da non renderle limitanti e non fare risaltare, alla fin fine, le differenze esistenti fra i diversi tipi di cellula, ma esaltando un esito finale comune.

Anche in questa ottica sembra trapelare dalla letteratura qualche suggerimento. Il più comune è che l'equilibrio significativo sia quello che deriva dall'interazione chimica fra cellula e atmosfera terrestre. In effetti il materiale di una cellula esposta all'atmosfera mantiene una riserva energetica finché non viene completamente ossidato. Da quel momento cellula ed ambiente sono all'equilibrio. Dell'atmosfera si considera, dunque, solo l'ossigeno biatomico e si può prevedere solo questa molecola come ambiente della cellula (figura 3, a sinistra), purché ve ne sia a sufficienza per ossidare tutto: non solo il carbonio, dunque, ma anche gli altri elementi, in particolare l'idrogeno, l'azoto, lo zolfo e il fosforo, che sono di solito i più abbondanti nelle cellule. Il risultato finale sarà una soluzione acquosa di anidride carbonica ( $\text{CO}_2$ ) in equilibrio dinamico con carbonato e bicarbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$  e  $\text{HCO}_3^-$ ); a questi soluti si aggiungono il nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), il solfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), il fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) e altri ioni. Inoltre dalla soluzione precipiterà ossido ferrico. La soluzione sarà a sua volta in equilibrio dinamico con una fase gassosa contenente l'ossigeno in eccesso, parte del quale sarà anche sciolto nella soluzione acquosa, e una frazione delle sostanze volatili, in primo luogo l'acqua e l'anidride carbonica. Le specie all'equilibrio vengono ad essere effettivamente uguali per tutte le cellule, salvo che per elementi biologicamente rari che solo alcuni organismi hanno, per esempio il vanadio degli Urocordati. Le proporzioni delle specie chimiche all'equilibrio variano pure di poco, almeno per il citoplasma metabolicamente attivo che ha sostanzialmente la stessa composizione in elementi chimici in tutte le cellule.

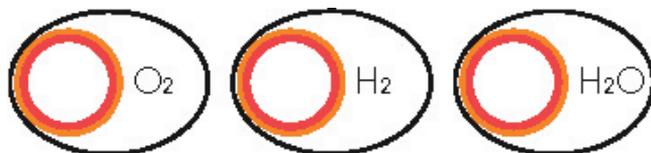


Figura 3. Un sistema isolato costituito da una cellula circondata da una porzione di ambiente caratterizzato dall'ossigeno (a sinistra), dall'idrogeno (al centro) o dall'acqua (a destra). Il significato dei diversi tratti è lo stesso della figura 1.

Alla temperatura vitale l'equilibrio potrebbe essere raggiunto in tempi dell'ordine degli anni, ma la grande maggioranza dei legami potrebbe essere rotta entro qualche giorno. D'altra parte nel corso del raggiungimento dell'equilibrio si determina un aumento di temperatura, dovuto proprio al calore liberato dalle reazioni in corso (si tratta di una vera e propria combustione), e tale aumento accelera le reazioni, senza peraltro influire sull'equilibrio. L'aumento di temperatura comporta un aumento di pressione con effetti parimenti trascurabili. Se il sistema è chiuso e la temperatura esterna è mantenuta fissa a 25°C, l'equilibrio viene raggiunto in un tempo più lungo. È lecito parlare di equilibrio, nonostante il sistema non sia isolato, perché dopo l'intensa produzione iniziale di calore il sistema procede verso l'energia minima quasi senza scambi energetici con l'esterno, di fatto. Una drastica riduzione dei tempi di raggiungimento dell'equilibrio viene ottenuta innalzando la temperatura. Nella comune determinazione del COD (chemical oxygen demand) il campione biologico viene bollito a riflusso per due ore fornendogli l'ossigeno mediante bicromato di potassio e accelerandone le ossidazioni mediante acido solforico.

Nonostante l'equilibrio risulti sostanzialmente uguale per tutte le cellule, l'ambiente caratterizzato dall'ossigeno biatomico ha un grande difetto. Infatti, contrariamente a quello che sembra a prima vista, la sua validità non è generale in quanto l'ossigeno biatomico non è sempre indispensabile alla vita e il contatto con esso non riguarda tutti gli organismi; per numerose specie batteriche l'ossigeno è anzi letale anche in tracce. Esistono insomma ambienti anaerobi che ospitano organismi, per esempio nello strato inferiore di certi corpi idrici o nei giacimenti petroliferi. Si potrebbe controbattere che anche questi ambienti sono circondati da un'atmosfera che contiene ossigeno e che prima o poi può venire a contatto con essi. Ricordiamo allora che l'atmosfera primordiale della Terra non conteneva quantità apprezzabili di ossigeno

biatomico e che, perciò, la prima fase di evoluzione della biosfera terrestre si svolse in sua assenza. Insomma la capacità ossidante dell'ambiente non ha valore definitorio per la vita e l'equilibrio caratterizzato dall'ossidazione completa della cellula non ha validità generale.

### **Riduzione completa**

Per quanto detto sull'ossigeno, può avere senso concepire un sistema isolato "cellula + ambiente" nel quale l'ambiente sia nettamente caratterizzato in senso riducente. Un tale ambiente anaerobio, prescindendo da altri componenti e semplificando molto rispetto alle sue possibili varianti, potrebbe contenere un eccesso di idrogeno biatomico (figura 3, al centro) tale da consentirgli di idrogenare tutto ciò che è idrogenabile nelle condizioni del sistema. All'equilibrio le molecole presenti sarebbero H<sub>2</sub>O, metano (CH<sub>4</sub>), ammoniaca (NH<sub>3</sub>), idrogeno solforato (H<sub>2</sub>S), fosfina (PH<sub>3</sub>), ferro ridotto (Fe<sup>2+</sup>), e così via, ripartite fra fase liquida acquosa e fase gassosa. Per i rapporti fra molecole vale quanto già detto a proposito dell'ossidazione; lo stesso vale per i tempi di raggiungimento dell'equilibrio.

Tuttavia non si può dire che neppure l'ambiente riducente rispecchi la condizione primordiale della Terra. La fase gassosa del famoso esperimento di Miller era effettivamente assimilabile all'ambiente con eccesso di idrogeno, ma è stata quasi ripudiata, sia pure senza completa giustificazione (Rizzotti a, in corso di stampa), proprio perché oggi si ritiene generalmente che l'atmosfera proimordiale fosse neutra, dal punto di vista ossidoriduttivo; infatti conteneva soprattutto CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>. Un notevole potere riducente poteva tuttavia essere presente localmente presso i vulcani emersi e, nelle profondità marine, presso le fonti idrotermali. La situazione nella quale si formò la prima cellula è comunque fonte di discussione, per cui non si può ritenere l'ambiente riducente davvero necessario. Generalmente si ritiene che gli ambienti riducenti si prestassero meglio alle sintesi organiche primordiali, ma il contributo organico maggiore potrebbe essere stato dato dalle comete, anziché dalle sintesi indigene (Rizzotti a, in corso di stampa). Per quanto riguarda i processi cellulari non sembra esserci alcuna necessità di invocare un ambiente riducente come condizione essenziale per l'origine della prima cellula o semplicemente per la sopravvivenza dei primi organismi, per cui neppure tale ambiente

sembra avere valore definitorio. Il problema fondamentale sembra dunque quello di individuare un aspetto dell'ambiente che sia necessario a tutta la vita presente e passata.

### **Idrolisi completa di tutti i composti cellulari**

Un aspetto dell'ambiente che riguarda tutte le cellule metabolicamente attive è dato dalla presenza di acqua liquida (figura 3, a destra). L'acqua è già stata considerata nella cellula isolata, tuttavia, mentre in quel caso poteva essere quantitativamente limitata, qui è assunta come presente in eccesso. Il suo ruolo, in questo contesto, è dunque un ruolo di reagente, come lo erano nei paragrafi precedenti l'ossigeno biatomico e l'idrogeno biatomico. Quindi l'equilibrio consiste, in questo caso, nella situazione di completa idrolisi dei costituenti cellulari. In presenza di un eccesso di acqua scompare ogni differenza nel grado finale di idrolisi fra le cellule che inizialmente sono più idratate e quelle che lo sono meno.

All'equilibrio le molecole non ulteriormente idrolizzabili sono varie, e dipendono dal potenziale di ossido-riduzione della soluzione acquosa, ma tutte contengono probabilmente un solo elemento al di fuori di ossigeno ed idrogeno. Per quanto riguarda il carbonio, esso può andare dall'acido carbonico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) o carbonato (in equilibrio con bicarbonato ed anidride carbonica), che sono le forme più ossidate del carbonio, all'acido formico ( $\text{HCOOH}$  o  $\text{H}_2\text{CO}_2$ ), all'aldeide formica ( $\text{H}_2\text{CO}$ ), al metano che è la forma più ridotta. Nello stesso senso va l'effetto del pH, da valori bassi a valori alti. L'aldeide formica è talvolta considerata in equilibrio con aldeidi o chetoni a più atomi di carbonio, ma la specie più stabile è effettivamente quella a singolo atomo di carbonio in quanto comporta un aumento dell'energia di idratazione e un aumento dell'entropia rispetto ai composti che contengono una serie di atomi di carbonio legati fra di loro.

Per quanto riguarda gli altri elementi, l'azoto passerà, a seconda del potenziale di ossido-riduzione, dal nitrato all'idrato di ammonio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) in equilibrio con l'ammoniaca, lo zolfo dal solfato all'idrogeno solforato ( $\text{H}_2\text{S}$ ), il fosforo dal fosfato alla fosfina, il ferro dalla forma trivalente a quella bivalente. Insomma le specie chimiche all'equilibrio sono proprio le stesse delle due condizioni precedenti oppure sono specie con grado intermedio di ossido-riduzione. Lo stesso dicasi per l'effetto della temperatura e della pressione.

Naturalmente i composti finali derivano da composti intermedi che sono soprattutto prodotti di idrolisi parziale come l'AMP. Come si è detto (paragrafo 3), il concetto corrente di equilibrio non ci soddisfa perché esso è stato elaborato soprattutto con riferimento ai tempi brevi e alle temperature relativamente basse della comune pratica di laboratorio. Qui, dove interessa primariamente la disamina teorica, dobbiamo far notare come anche il cosiddetto equilibrio fra ADP e AMP sia convenzionale tanto quanto quello fra ATP e ADP. Infatti pure l'AMP è soggetto ad idrolisi nonostante i suoi legami più facilmente idrolizzabili liberino, in seguito a tale reazione, un'energia notevolmente inferiore a quella dei legami fosfoanidridici propri dell'ATP e dell'ADP. Dunque l'idrolisi dell'AMP prosegue, in soluzione acquosa, dando luogo a ribosio, adenina e fosfato. Quest'ultimo rimane tale o viene ridotto a fosfina se le condizioni sono fortemente riducenti. Il ribosio si scompone in cinque molecole di formaldeide che possono venire ossidate o ridotte. L'adenina viene prima deamminata, poi subisce l'apertura dei due anelli eterociclici che vengono progressivamente idrolizzati. Naturalmente ossidazioni e riduzioni possono avvenire anche prima dell'idrolisi dell'AMP come nel corso di tutti i passaggi accennati.

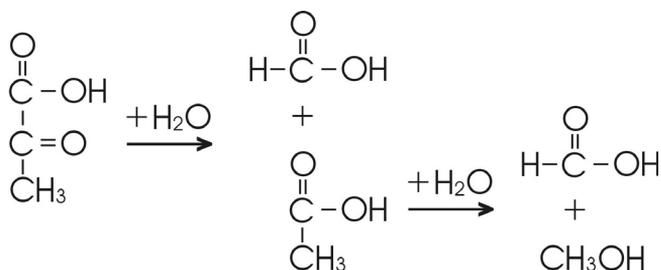


Figura 4. Idrolisi completa dell'acido chetopiruvico a molecole con un singolo atomo di carbonio. Le forme finali effettive dipendono dal potenziale di ossidoriduzione e dall'acidità della soluzione.

Una volta compreso che il raggiungimento dell'equilibrio chimico-fisico non si arresta a quello tradizionalmente previsto dalla termodinamica, è chiaro che tale concetto si applica a molti altri equilibri convenzionali. Anche i cosiddetti equilibri cheto-enolici (figura 2) non sono realmente situazioni di minima energia poiché gli stessi tautomeri sono soggetti ad

idrolisi. Per esempio l'acido piruvico può subire innanzitutto l'idrolisi di un legame carbonio-carbonio trasformandosi in acido formico e acido acetico, e quest'ultimo può dare ancora acido formico e metanolo (figura 4). I tautomeri, infatti, rientrano fra i piccoli metaboliti e vanno incontro al vero equilibrio termodinamico, indipendentemente dal fatto che possa realizzarsi solo in tempi lunghissimi nella pratica corrente, ma in tempi ragionevolmente brevi a temperatura e pressione elevate.

Comunque è arcinoto che l'acqua non funge solo da reagente, nelle cellule e nell'ambiente, ma anche da solvente. Inoltre l'acqua liquida che ogni cellula contiene quando il metabolismo non è sospeso svolge un altro ruolo critico, che è anche quello che la rende insostituibile per la vita (Rizzotti b, in corso di stampa). Si tratta del ruolo di organizzazione, nel senso che organizza la struttura di molte molecole organiche presenti nelle cellule favorendo il contatto fra le loro porzioni idrofobe. Si parla spesso a questo proposito di auto-organizzazione, senonché questo termine porta proprio ad oscurare il ruolo decisivo dell'acqua. In effetti in presenza di qualsiasi altro solvente le molecole organiche non vanno incontro agli stessi effetti organizzativi. In particolare in acqua liquida i polinucleotidi tendono ad organizzarsi in doppie eliche impilando i piani aromatici delle loro basi; i polipeptidi tendono ad avvolgersi su sé stessi con i residui idrofobi all'interno, dando luogo a proteine globulari, oppure tendono a lasciare i residui idrofobi all'esterno, permettendo loro di essere immerse in membrane; i lipidi tendono notoriamente ad organizzarsi in membrane, in parte insieme alle proteine adatte. La presenza di legami d'idrogeno più numerosi (e continuamente interrotti e ristabiliti) nella massa liquida libera che nel velo a contatto con le porzioni idrofobe delle molecole organiche promuove l'associazione fra tali porzioni. Si tratta, in definitiva, del cosiddetto effetto idrofobo. Il solvente più simile all'acqua quanto alla numerosità dei legami d'idrogeno, cioè l'ammoniaca, non presenta un analogo "effetto ammoniofobo", né presentano effetti analoghi altri solventi in grado di formare legami d'idrogeno. L'acqua, in questo, è proprio un liquido unico.

Dunque, a differenza dell'ossigeno e dell'idrogeno, l'acqua liquida può essere considerata connaturata con la vita, premessa e condizione di tale fenomeno, con un ruolo determinante anche per il suo sorgere. Vanno dunque considerati ruoli determinanti dell'acqua liquida per l'origine della prima cellula sia quello di organizzazione, decisivo nella formazione di aggregati organici di qualsiasi natura, sia quelli meno specifici e critici di

reagente e di catalizzatore (Siskin e Katritzky, 1991), sia quello di solvente. Gli organismi non si sono adattati all'acqua, come dice qualcuno; essi si sono originati nell'acqua, la quale ha costituito dunque un fattore essenziale della loro formazione e della loro costituzione. Essa è stata sempre presente dentro le cellule fin dalla loro prima comparsa. Semmai le cellule si sono adattate, in qualche caso, a non avere acqua liquida all'esterno di esse, ma essa è comunque presente, almeno sotto forma di acqua legata, immediatamente all'esterno della loro membrana plasmatica. Anche dal punto di vista dell'origine, insomma, l'acqua liquida può accampare ben altra essenzialità delle molecole biatomiche dell'ossigeno e dell'idrogeno. In definitiva non può sorprendere che l'acqua liquida, sia pure sotto forma di reagente, rappresenti la chiave per capire quale possa essere la situazione di equilibrio chimico-fisico alla quale tendono le cellule.

### **Conclusione: la cellula tende all'idrolisi completa**

Dunque alla domanda se le cellule tendano verso un vero equilibrio chimico-fisico, la mia personale risposta è positiva, e l'equilibrio è precisamente quello risultante da una idrolisi completa. Sono possibili situazioni di equilibrio alternative, come quelle risultanti da una ossidazione o da una idrogenazione complete, ma sono meno significative in riferimento al contesto complessivo nel quale le cellule si sono originate, si sono evolute e si perpetuano. In questo contesto l'acqua liquida è irrinunciabile in quanto svolge contemporaneamente numerose funzioni che nessun altro liquido svolge in modo minimamente adeguato.

Se l'equilibrio delle cellule coincide con la miscela di tutti i loro composti completamente idrolizzati, questa miscela si presta alla stima, se non proprio al calcolo preciso, della distanza dall'equilibrio dei sistemi viventi. Questa stima ha interesse in particolare per il plasma cellulare (o citosol), che in tutte le circostanze metabolicamente attive mostra sostanzialmente il medesimo grado di idratazione. Nel citosol conviene forse includere l'intero volume della cellula, compreso il lume delle piccole vescicole e delle invaginazioni della membrana plasmatica, e ignorando soltanto gli annessi esterni, le inclusioni metabolicamente inattive e i vacuoli cospicui fortemente idratati. E' presumibile che la distanza dall'equilibrio del citosol isolato sia costante e corrisponda quindi nella cellula attiva ad uno stato stazionario anch'esso precisabile in termini migliori di quanto

non avvenga oggi. La sua caratterizzazione può costituire una guida utile anche alla progettazione di una cellula minima in provetta (Gánti, 1996; Luisi et al., 1996).

Alla luce delle considerazioni precedenti propongo la seguente definizione di vita: la vita è esemplificata da tutti gli oggetti che resistono al decadimento energetico mediante un'assimilazione costruttiva. E' una definizione che si propone di cogliere l'essenziale, e questo essenziale è in larga misura termodinamico. Non tutte le definizioni concise condividono questa impostazione. Per esempio quella di Ageno (1986, p. 99), pure molto concisa (la cellula è "un sistema coerente dotato di programma"), respinge tale impostazione, esponendosi però a critiche di fondo (Rizzotti, 1993). Invece sottolinea l'importanza di un corretto inquadramento termodinamico Schrödinger quando scrive (1944, p. 73) che "La materia vivente sfugge al decadimento". Ebbene, ritengo si possa ora precisare che il decadimento energetico che ha luogo nella cellula è dovuto soprattutto all'idrolisi. Nella definizione questo non è detto esplicitamente, ma non tanto perché si ritiene che possano esistere oggetti viventi nei quali il decadimento energetico deriva da altri processi, quanto per non precisare nulla che non sia strettamente necessario. Infatti penso che la necessità dell'acqua liquida derivi da considerazioni sull'assimilazione costruttiva. Questa in effetti dipende dalla produzione di energia, e parte di questa proviene proprio dal decadimento energetico per idrolisi, in particolare dell'ATP, come si sa.

Comunque l'assimilazione è detta costruttiva (Atkins, 1988, p. 169) in quanto aumenta la complessità molecolare, base dell'azione antientropica locale. Essa è dovuta soprattutto alle condensazioni, l'opposto delle idrolisi. L'energia richiesta dall'assimilazione costruttiva viene recuperata sia dall'idrolisi dei propri composti (ma se si basasse solo su questa il materiale cellulare finirebbe per esaurirsi) sia dall'esterno (sotto forma di energia elettromagnetica immediatamente convertita in energia chimica di molecole organiche interne, sotto forma di energia ricavata da trasformazioni inorganiche ma pure convertita allo stesso modo, oppure direttamente assunta attraverso composti organici). Si accetta generalmente l'idea che i sistemi viventi siano "capaci di produrre energia chimica e ordine trasformando i materiali nutritivi provenienti dall'ambiente esterno" (Galzigna, 1998, p. 144), dove la produzione di energia chimica e ordine può essere riassunta nell'espressione "assimilazione costruttiva", che implica pure che l'ordine corrisponde (cioè è simile) a quello già presente;

questo è suggerito appunto dal termine “assimilazione”.

Nonostante la definizione sia molto concisa la propongo come sufficiente e completa. Per quanto riguarda le proprietà empiriche frequentemente attribuite ai viventi come proprietà fondamentali, la più comune è la riproduzione. Le definizioni che asseriscono che i viventi si riproducono sono notoriamente contraddette dai viventi che non lo fanno (come i muli e le suocere, si dice di solito con discutibile ironia). Agli effetti della riproduzione l'unica certezza è riferibile al passato, non al futuro o alle potenzialità, e quindi si può solo affermare che tutti i viventi sono comparsi per riproduzione. Comunque qui la riproduzione non è ritenuta necessaria essendo una proprietà che dipende da crescita e modularità (Rizzotti, 2000), a loro volta dovuti ad assimilazione e vincoli di diffusione, che sono concetti o presenti esplicitamente nella definizione o presenti implicitamente come suoi presupposti necessari. Inoltre non si richiama l'evoluzione, altra proprietà ritenuta spesso fondamentale, in quanto essa è semplicemente una conseguenza della riproduzione come unica modalità di comparsa delle cellule. Non si stabilisce neppure una crescita continua: la definizione data è in effetti compatibile anche con la riduzione della materia organica, cosa che accade effettivamente, talvolta, per esempio nelle suocere. Questa definizione non è inoltre smentita dalle forme di vita sospesa, in quanto non esclude che i processi vitali possano subire periodi di sospensione.

Proprietà empiriche più specifiche, come la presenza di polimeri che si replicano mediante un meccanismo di complementarità, di catalizzatori ad alta specificità, di un meccanismo di traduzione, dell'omochiralità, dovrebbero essere pure deducibili dalla definizione come sue condizioni o conseguenze. La delimitazione, cioè la presenza di una membrana plasmatica, viene vista come una condizione per evitare la diffusione; e senza tale condizione non si realizzano le proprietà richiamate nella definizione. Anche la composizione a base di molecole dominate dall'elemento carbonio, e la loro aggregazione e impregnazione in un mezzo basato sull'acqua liquida, sono condizioni ineludibili per soddisfare questa definizione in quanto non esistono alternative. Molte altre proprietà comunemente richiamate (per esempio Nobili, 1999; Lahav, 1999, p. 117; Palyi, 2000; Buiatti, in corso di stampa), dall'informazione all'autocatalisi, dalla regolazione all'autoriparazione, dalla complessità all'autopoiesi, sono configurabili come presupposti o conseguenze della definizione data, ritengo.

Una sfida incombente sulle definizioni di vita è costituito dai numerosi controesempi, e il confronto con essi è un passaggio obbligato. Un esempio di entità che si propaga classicamente impiegato come controesempio delle definizioni di vita è costituito dalle fiamme; ebbene, esse non assimilano costruttivamente, bensì distruttivamente: il materiale di cui sono costituite (in gran parte radicali, ioni e piccole molecole, tipicamente acqua ed anidride carbonica nelle fiamme derivanti dalla combustione di composti carboniosi) è più semplice di quello che assumono. La pepsina, un altro controesempio, “si riproduce” in seguito ad un’azione endopeptidasi specifica che essa esercita sul pepsinogeno, quindi si tratta di un’assimilazione semplificativa o distruttiva che dir si voglia, comunque non costruttiva. I cristalli assimilano, ma non costruttivamente né distruttivamente, dal momento che le unità che assumono sono uguali a quelle da cui sono costituiti; inoltre la cristallizzazione libera energia, non ne richiede, proprio per questo. Lo stesso si può dire per i nuclei che si accrescono in un bagno di neutroni lenti, secondo il modello proposto da Ageno (1986, p. 95). Passando a modelli più affini alle cellule, i liposomi studiati da Luisi (vedi Luisi ed altri, 1996) si accrescono per apposizione di molecole uguali a quelle già presenti o, semmai, comparse per riduzione di quelle fornite. Gli oligonucleotidi e i peptidi che si replicano formando un legame fra le unità di partenza mimano sì più da vicino le cellule e la loro riproduzione basata sull’assimilazione costruttiva, ma per essi non viene considerato alcun decadimento energetico al quale essi resistano; si limitano ad accrescersi per assimilazione costruttiva, rispondendo così solo ad una parte della definizione data. La stessa considerazione vale per qualsiasi fenomeno replicativo in vitro di polinucleotidi nonché per possibili liposomi i cui lipidi derivassero dalla complicazione (o assimilazione costruttiva, appunto) di precursori presenti nel mezzo di reazione. In conclusione non vedo al momento controesempi che mettano in crisi la definizione data.

Comunque, se la determinazione della situazione di equilibrio è soltanto una premessa, la definizione data è intesa costituire una guida per la corretta collocazione dei sistemi viventi fra i sistemi fisici in generale. Insomma i sistemi viventi potrebbero essere proprio quei sistemi condensati, cioè costituiti da materia ordinaria e non gassosi, che resistono alla solvolisi da parte del solvente nel quale sono sospesi. La cosa singolare è che resistono alla solvolisi sfruttando proprio tale reazione, ma in fondo non fanno che sfruttare la reazione più accessibile.

## **Ringraziamenti**

L'autore si sente particolarmente debitore per la maturazione delle idee esposte (delle quali si assume peraltro l'intera responsabilità) verso tre amici: Pietro Omodeo dell'Università di Siena e Lauro Galzigna e Renato Nobili dell'Università di Padova, con i quali ha avuto molte discussioni su questioni di fondo della biologia. Inoltre ringrazia per la lettura critica del manoscritto gli stessi L. Galzigna e R. Nobili, e per informazioni Chris Chatgililoglu e Anna Garbesi dell'ICOCEA-CNR di Bologna, e Giulio Bertoloni, Giorgio Giacometti, Eva Milanese e Fernanda Rigoni dell'Università di Padova.

## **Bibliografia**

- Ageno M.: *Le radici della biologia*. Feltrinelli, Milano, 1986
- Atkins P. W.: *Il secondo principio*. Zanichelli, Bologna, 1988
- Bada J. L., Miller S. L., Zhao M.: The stability of amino acids at submarine hydrothermal vent temperatures. *Origin of Life Evol. Biosphere* 25: 111-118, 1995
- Buiatti M.: *Lo stato della materia vivente*. UTET, Torino.
- Cappelletti C.: *Trattato di botanica*. UTET, Torino, 1964
- Forestiero S.: *Complessità biologica*. *Enciclopedia Italiana* (appendice). Istituto della Enciclopedia Italiana, Roma, 2000
- Galzigna L.: *Il gioco di Carnot*. CLEUP, Padova, 1996
- Galzigna L.: *Matematica e biologia*. UTET, Torino, 1998
- Gánti T.: The essence of the living state. In Rizzotti M. (a cura di): *Defining life. The central problem in theoretical biology*: 103-117. University of Padova, Padova, 1996 ([www.bio.unipd.it/local.html](http://www.bio.unipd.it/local.html))
- Ho M.-W.: *The rainbow and the worm*. World Scientific, Singapore, 1994
- Lahav N.: *Biogenesis*. Oxford Univ. Press, New York/Oxford, 1999
- Larralde R., Robertson M P., Miller S. L.: Rates of decomposition of ribose and other sugars. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 8158-8160, 1995
- Lehninger A. L., Nelson D. L., Cox M. M.: *Principi di biochimica*. Zanichelli, Bologna, 1994 (ed. inglese, 1993)
- Luisi P. L., Lazcano A., Varela F.: What is life? In Rizzotti M. (a cura di): *Defining life. The central problem in theoretical biology*: 149-165. University of Padova, Padova, 1996 ([www.bio.unipd.it/local.html](http://www.bio.unipd.it/local.html))

- Mahner M. e Bunge M.: *Foundations of biophilosophy*. Springer, Berlin, 1997
- Negrotti M.: *Artificiale*. Laterza, Bari, 2000
- Nicholls D. G.: *Bioenergetics*. Academic Press, London and New York, 1982
- Nicolis G., Prigogine I.: *Exploring complexity*. Freeman, New York, 1989
- Nobili R.: Le basi logiche della biologia teorica e gli automi di von Neumann. In Cerrai P. e Freguglia P. (a cura di): *La matematizzazione della biologia: 179-185*. QuattroVenti, Urbino, 1999
- Omodeo P.: *Biologia*. UTET, Torino, 1977
- Palyi G. (a cura di): *Workshop on life (abstracts)*, Modena, 3-8 settembre 2000
- Prigogine I.: *La nuova alleanza*. Longanesi, Milano, 1979
- Rizzotti M.: Il concetto di artificiale. *Memorie Ist. Veneto Sc. Lett. Arti* 34: 7-39, 1984
- Rizzotti M.: Che tipo di sistema è un vivente? *Riv. Biol. – B. Forum* 86: 131-134, 1993
- Rizzotti M.: What is life not? In Rizzotti M. (a cura di): *Defining life. The central problem in theoretical biology: 199-208*. University of Padova, Padova, 1996 ([www.bio.unipd.it/local.html](http://www.bio.unipd.it/local.html))
- Rizzotti M.: Fondamenti della biologia. In Repola Boatto A. (a cura di): *Pensiero scientifico. Fondamenti ed epistemologia: 49-66*. IRSSAE-Marche, Ancona, 1997
- Rizzotti M.: Early evolution. From the appearance of the first cell to the first modern organisms. Birkhäuser, Basilea, 2000
- Rizzotti M. a: L'origine della vita. In *Atlante della vita*, UTET, Torino.
- Rizzotti M. b: Precellular organic aggregates: the bridge between the non living and the living. In Giovannelli F. (a cura di): *The bridge between the big bang and biology*, CNR Special Publications, Roma.
- Schneider E. D., Kay J. J.: Order from disorder: the thermodynamics of complexity in biology. In Murphy M. P., O'Neill L. A. J. (a cura di): *What is life? The next fifty years: 161-173*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1995
- Schrödinger E.: *Che cos'è la vita? Scienza e umanesimo*. Sansoni, Firenze, 1988 (ed. inglese, 1944, 1962)
- Siskin M., Katritzky A. R.: Reactivity of organic compounds in hot water. *Science* 254: 231-237, 1991
- Watson J. D., Hopkins N. H., Roberts J. W., Steitz J. A., Weiner A. M.: *Molecular biology of the gene*. Benjamin/Cummings, Menlo Park, 1987