

METABOLISMO DEI LIPIDI

Tutte le cellule utilizzano e sono dipendenti dai lipidi sia come fonte di energia che come fonte per la produzione di molecole come quelli che compongono il colesterolo che è essenziale per le membrane delle cellule, o si possono trovare anche nella composizione degli ormoni.

CATABOLISMO DEGLI ACIDI GRASSI

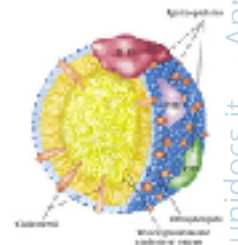
La fosfolipasi è un enzima che è presente, con le dovute differenze strutturali, nei mammiferi, negli insetti ed è presente anche nei veleni dei serpenti e catalizza le reazioni all'interfaccia delle micelle.

Meccanismo d'azione della fosfolipasi A2

La fosfolipasi-A2 possiede un canale idrofobico che consente l'accesso diretto alla struttura della micella, solo che il substrato deve essere prima solvatato perché il meccanismo d'azione, diverso dalle altre lipasi, prevede che una molecola d'acqua faccia parte del sito attivo e vada a sostituire la Ser che invece è presente nelle altre lipasi. Il sito attivo conterrà un'His-48 ed è rappresentato dal una diade catalitica e l'acqua. In queste molecole il calcio stabilizza l'ossi-anione dello stato di transizione.

Gli acidi grassi liberi e il glicerolo si fondono all'interno delle cellule epiteliali e formano complesse con complessi chiamati I-FABP che sono proteine citoplasmatiche che le legano gli acidi grassi intestinali e aumentano la loro solubilità nel citosol. Sono costituite da dei monomeri di circa 10 filamenti beta antiparalleli che sono organizzati a formare due foglietti che sono ortogonali uno rispetto all'altro e interagiscono con il gruppo carbossilico dell'acido grasso, e gli acidi grassi interagiscono grazie anche ai loro residui di arginina-106 e glutammina-115 e anche attraverso due molecole di acqua. Inoltre le catene metileniche centrali interagiscono con residui amminoacidici di tipo idrofobico.

Una volta assorbiti per diffusione o per trasporto facilitato dalle cellule epiteliali intestinali (enterociti dei villi), gli acidi grassi e i monogliceridi sono trasportati attraverso il citoplasma. Sono trasportati nel citoplasma dei complessi FABP fino ad arrivare al reticolo endoplasmatico liscio dove vengono immediatamente riesterificate in trigliceridi in modo da evitare che si creino dei danni per lipotossicità alle membrane cellulari. Nella membrana del reticolo endoplasmatico rugoso avviene il loro assemblaggio in particelle che sono chiamate chilomicroni. La sintesi dei chilomicroni inizia aggiungendo, ad opera dei ribosomi, delle proteine chiamate apoproteine ad esempio la B-48 che rappresenta la forma tronca di un'altra apoproteina la B-100. La maturazione delle particelle avviene, nell'apparato del Golgi, con l'aggiunta di altre apoproteine come per esempio l'apo-Aprimo. I chilomicroni sono strutture sferiche, hanno delle dimensioni notevoli (fino a 500nm) e al centro contengono una componente lipidica idrofobica che rappresenta il core e che è circa il 70% della sua massa. La componente proteica dei chilomicroni è costituita dalle apoproteine che sono disposte sulla superficie esterna del chilomicrone. Le apolipoproteine sporgono sulla superficie e agiscono come dei segnali per la captazione dei chilomicroni da parte di altri tessuti. Ad esempio chilomicroni vengono secreti attraverso la membrana plasmatica nello spazio intracellulare e trasferiti poi nel sistema linfatico e raggiungono il dotto linfatico nel quale sono immessi poi nel circolo venoso sistemico dalla linfa. Sono poi trasportati dai capillari dei tessuti dove vengono riconosciuti per merito dell'interazione tra le apolipoproteine (o apoproteine) e i recettori.



I lipidi vengono trasportati nel sangue per merito delle apoproteine, i composti così formati sono chiamati lipoproteine il cui compito è quello di trasportare i grassi nel plasma e scambiarli con le cellule dell'organismo. Il 95% dei lipidi plasmatici si trova nelle lipoproteine. La presenza di gruppi idrofili sulla superficie di queste molecole consente la loro solubilizzazione nel plasma. I trigliceridi e il colesterolo esterificato vengono invece trasportati all'interno di queste particelle lipoproteiche e separati dall'ambiente acquoso dalle apoproteine che formano lo stato fosfolipidico del mantello. Le lipoproteine trasportano anche alcune vitamine liposolubili come la vitamina A e la E.

Ci sono 5 classi di lipoproteine:

- Chilomicroni che sono le meno dense, sintetizzati a livello dell'intestino tenue e veicolano soprattutto trigliceridi e colesterolo che sono introdotti con la dieta. Sono presenti in circolo dopo il pasto (periodo post-prandiale). Possono superare i 500nm. Contiene generalmente apoproteine APO-A1, APO-A2, APO-A4

- VLDL sono proteine a densità molto bassa e trasportano i trigliceridi dal fegato verso i tessuti. Contengono diversi tipi di apoproteine e le più importanti sono le APO-B100, APO-C1 e APO-C2.
- IDL che sono lipoproteine a densità intermedia, sono prodotte dal metabolismo delle VLDL.
- LDL sono lipoproteine a bassa densità che trasportano colesterolo dal fegato a tutte le cellule dell'organismo. Sono chiamate lipoproteine del colesterolo cattivo. Contengono soprattutto APO-B100.
- HDL sono lipoproteine ad alta densità, recuperano il colesterolo dai tessuti e lo trasportano al fegato. Sono note come lipoproteine del colesterolo buono. Sono le più piccole 6-12nm. Contengono principalmente APO-A1.

La struttura delle lipoproteine è un mosaico sferico il cui strato esterno è costituito da apoproteine, fosfolipidi, colesterolo e il contenuto interno è fatto da trigliceridi e colesterolo esterificato. A seconda del contenuto di queste componenti cambia l'aspetto, in base alla percentuale lipidica o proteica, e varia la densità di queste lipoproteine.

La quantità di apoproteine è direttamente proporzionale alla loro solubilità e più è alto il rapporto tra proteine e lipidi più risulta un'alta densità, un piccolo peso molecolare e una maggiore solubilità. La tipologia delle apoproteine influenza le caratteristiche buone o cattive delle lipoproteine. Le lipoproteine con più alto contenuto di apoproteine e fosfolipidi sono anche quelle più piccole e più solubili.

Il rischio arteriosclerotico è connesso al tipo e alla qualità di lipoproteine circolanti nel sangue. Alti livelli di lipoproteine scarsamente solubili sono connessi a arteriosclerosi. Buoni livelli di HDL, che possono essere maggiori di 50 milligrammi per decilitro sono connessi ad un rischio minore.

Le lipoproteine sono divisibili in due macrogruppi:

- lipoproteine legate all'APO-B che mediano il trasporto del colesterolo dal fegato ed intestino verso i tessuti periferici
- Lipoproteine non legate ad APO-B che raccolgono colesterolo a livello dei tessuti periferici e lo portano al fegato dove viene metabolizzato.

Tutte le lipoproteine che contengono APO-B ad eccezione delle VLDL e dei chilomicroni sono causa di arteriosclerosi. Quelle che contengono APO-A1 rivestono un ruolo protettivo.

Metabolismo delle lipoproteine plasmatiche

Metabolismo delle lipoproteine plasmatiche è formato da una serie di vie metaboliche parzialmente indipendenti. Si tratta di una via del metabolismo dei lipidi esogeni di derivazione alimentare.

Ci sono 3 differenti vie per la produzione delle lipoproteine:

- Metabolismo dei chilomicroni

I chilomicroni sono presenti nel plasma solo esclusivamente dopo il pasto e l'80% delle APO-B48 è rimosso dal circolo in 1 ora e dopo 12 ore di digiuno la loro concentrazione plasmatica può essere considerata trascurabile. Queste lipoproteine vengono metabolizzate ad opera di una serie di enzimi che possono essere sia idrolitici come le lipasi, situati sulla superficie delle cellule endoteliali arteriose dei capillari, che rimuovono trigliceridi e fosfolipidi dalle lipoproteine da questi chilomicroni consentendone l'utilizzo da parte dei tessuti. Liberano acidi grassi che possono poi essere assimilati dai tessuti. I chilomicroni vengono anche demoliti dagli enzimi di trasferimento che determinano un continuo scambio di componenti proteiche, questo avviene sempre nel circolo dove vengono scambiati tra le varie lipoproteine. Ciascuna classe di lipoproteine plasmatiche risulta un insieme dinamico di aggregati lipoproteici in continua trasformazione. Nei capillari le lipoproteine lipasi rimuovono l'80% dei trigliceridi dal core dei chilomicroni, idrolizzando in acidi grassi, ciò che rimane da queste molecole viene trasportato al fegato. Il fegato assimila queste particelle contenenti APO-B attraverso endocitosi dove avviene il catabolismo e la loro degradazione.

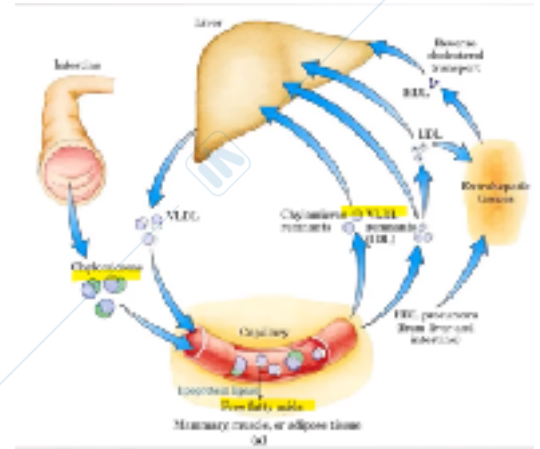
- Metabolismo dei lipidi endogeni di produzione epatica (o metabolismo delle VLDL)

Le VLDL vengono prodotte in seguito al processo descritto precedentemente. Le VLDL trasportano i grassi di sintesi epatica (grassi endogeni) soprattutto durante le ore di digiuno. Le VLDL sono sintetizzate nel RE dove avviene anche l'assemblaggio con l'APO-B100 e con altri lipidi, dopodiché vengono secrete e nel circolo da un lato, avviene la loro demolizione ad opera delle lipasi e quindi la liberazione degli acidi grassi che vengono assimilati dai tessuti oppure possono essere arricchite dal colesterolo ed andare a formare le IDL. Sono le IDL che mediano il rischio di arteriosclerosi perché sono già in grado di attraversare l'epitelio nelle aree di iperpermeabilità a livello dei capillari. Una parte delle IDL viene inviata agli epatociti per essere demolita, ma la maggior parte di loro viene idrolizzata nel circolo sanguigno per generare, dalle

lipasi, le LDL. Le LDL sono il prodotto finale di modificazione delle VLDL. Le VLDL circolano per giorni e raggiungono tutti i tessuti extrapatrici dove sono assorbite per endocitosi.

- **Trasporto inverso del colesterolo dai tessuti al fegato (o metabolismo delle HDL)**

Le HDL sono una classe di lipoproteine molto eterogenee, differiscono per densità, dimensione, forma, e quindi possono essere individuate una serie di sottofamiglie. Il loro catabolismo avviene principalmente attraverso la rimozione selettiva di porzione della molecola. Le HDL mature vanno incontro ad un processo di delipidazione che ha come conseguenza la riduzione del volume della particella e l'allontanamento dalla loro superficie di parte delle APO-A1. Nel catabolismo delle HDL i vari componenti della particella (colesterolo e apoproteine), sono rimossi in modo separato a siti di catabolismo presenti sul fegato o nei reni, oppure questa delipidazione può avvenire anche a livello del circolo sanguigno. Le HDL possono andare incontro a degradazione extracellulare a livello dei lisosomi o essere di nuovo secrete all'esterno, arricchite dal colesterolo e questa via viene chiamata via di retro endocitosi, che è stata dimostrata in vivo a livello delle cellule epatiche, in macrofagi e nei fibroblasti.



La lipoproteina lipasi (LPL) degradano i chilomicroni e le VLDL entrambi in acidi grassi e glicerolo che sono poi indirizzati e utilizzati dai tessuti.

Il glicerolo è trasportato al fegato e ai reni per essere convertito in un intermedio della via glicolitica dalla glicerolo chinasi e dalla glicerolo-3fosfato chinasi e ossidato a diidrossiacetone-fosfato, che viene poi convertito dalla trioso fosfato isomerasi in D-gliceraldeide 3-fosfato che è l'intermedio della via glicolitica.

Gli acidi grassi possono entrare nel muscolo ed essere ossidati per ricavare energia, mentre nel tessuto adiposo vengono riesterificati a triacilgliceroli di riserva e quindi vengono immagazzinati.

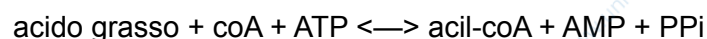
Negli adipociti i triacilgliceroli sono conservati sottoforma di gocce lipidiche formate da un nucleo di triacilgliceroli e da esteri degli steroli, circondato da uno strato di fosfolipidi e sulla superficie da un rivestimento di perilipine che impediscono l'accesso libero a queste gocce lipidiche che modulano la mobilizzazione dei triacilgliceroli.

La mobilizzazione dei grassi negli adipociti è mediata dall'insulina e glucagone. Il glucagone viene secreto quando il glucosio nel sangue è basso e va ad attivare una cascata segnale che porta l'adenilato ciclasi della membrana degli adipociti a produrre cAMP che va ad attivare la PKA e questo determina l'apertura delle goccioline lipidiche e si determina l'accesso e l'idrolisi al glicerolo e agli acidi grassi operato dall'HSL (enzima triacilglicerolo lipasico) e poi una serie di lipasi degradano il triacilglicerolo in acidi grassi e glicerolo. Gli acidi grassi liberati in circolo devono essere associati ad una proteina come l'albumina che rappresenta metà della composizione proteica del siero. Se gli acidi grassi rimanessero liberi creerebbero dei danni, avendo un'azione detergente sulle membrane cellulari. In situazioni di analbumemia (carenza di albumina), gli acidi grassi sono trasportati da altre proteine simili. Nei distretti cellulari sono poi rilasciati dall'albumina come acidi grassi liberi e nel muscolo scheletrico ad esempio sono internalizzati da un recettore specifico e poi avviati alla degradazione per la produzione di ATP.

Gli enzimi deputati alla loro degradazione sono localizzati nel mitocondrio.

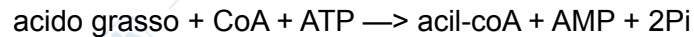
Gli acidi grassi contenuti fino a 12 atomi di carbonio possono essere internalizzati nel mitocondrio senza avere bisogno di trasportatori di membrana. Quelli contenenti 14 atomi di carbonio, che sono anche i più rappresentati tra gli acidi grassi liberi oltrepassano la membrana con un sistema shuttle chiamato sistema della acilcarnitina. Entrati nella cellula gli acidi grassi sono legati al coenzima A grazie ad una famiglia di isoenzimi, gli acil-coenzima A sintetasi che sono specifici in base alla lunghezza (corta, media o lunga) dei grassi bersaglio.

Acido grasso associato al coenzima A, serve l'idrolisi si una molecola di ATP per formare acil-coA. Gli enzimi che svolgono queste reazioni sono associate sul lato citosolico della membrana mitocondriale e catalizzano una reazione che avviene in due tappe e coinvolge la formazione di un intermedio acil-adenilato. La prima reazione è catalizzata da una famiglia di isozimi presenti nella membrana mitocondriale esterna, le acil-coA sintetasi, che catalizzano la reazione generale:



L'acil-coA sintetasi catalizza la formazione di un legame tioestere tra il gruppo carbossilico dell'acido grasso e il gruppo tiolico del coA formando acil-coA; contemporaneamente, l'ATP subisce una scissione in AMP e PPI.

La formazione di acil-coA è resa favorevole dall'idrolisi di due legami ad alta energia dell'ATP, il pirofosfato formato nella reazione di attivazione viene idrolizzato immediatamente da un secondo enzima, la pirofosfatasi inorganica che trascina la reazione precedente nella direzione della formazione dell'acil-coA. La reazione complessiva è:



Gli acil-coA formati sul lato citosolico della membrana mitocondriale esterna possono essere trasportati nel mitocondrio per essere ossidati oppure utilizzati nel citosol per sintetizzare lipidi di membrana.

Gli acidi grassi destinati all'ossidazione sono legati transitoriamente al gruppo ossidrilico della carnitina formando acil-carnitina. Questa transesterificazione è catalizzata dalla carnitina aciltransferasi-I o carnitina palmitoiltransferasi. Il trasferimento nello spazio intramembrana avviene attraverso ampi pori nella membrana esterna. L'estere acil-carnitina attraversa la membrana mitocondriale interna, raggiungendo la matrice mediante una diffusione facilitata effettuata dal trasportatore acil-carnitina/carnitina presente nella membrana interna mitocondriale.

Nella terza tappa, quella finale dello shuttle della carnitina, il gruppo acilico, viene trasferito enzimaticamente dalla carnitina al coenzimaA intramitocondriale ad opera della carnitina aciltransferasi-II. La carnitina aciltransferasi-II è un isozima della membrana mitocondriale interna dove rigenera l'acil-coA, che viene rilasciato insieme alla carnitina libera nella matrice. La carnitina rientra nello spazio tra le due membrane attraverso il trasportatore acil-carnitina/carnitina.

Il processo a tappe ha il compito di mantenere separato il coA citosolico da quello mitocondriale, in quanto essi hanno diverse funzioni nei due diversi compartimenti:

- coA mitocondriale è coinvolto nella degradazione ossidativa del piruvato, degli acidi grassi, e aa
- coA citosolico è usato per la biosintesi degli acidi grassi

Lo shuttle dell'acil-carnitina/carnitina costituisce la tappa regolativa delle due vie metaboliche. L'enzima GTP1 (carnitina acil-transferasi1) è l'enzima regolatore ed è inibito dal malonil-coA che è il primo intermedio della reazione di biosintesi degli acidi grassi (impedisce che sintesi e degradazione possano avvenire contemporaneamente).

Ossidazione degli acidi grassi

France Knoop scoprì la beta ossidazione marcando gli acidi grassi a numero dispari e pari con gruppi fenilici che venivano secreti come ammidici della glicina deducendo dai prodotti i siti di legame interessati dalla beta-ossidazione. Solo dopo gli anni '50, dopo la scoperta del coenzimaA e dell'isolamento degli enzimi coinvolti furono delucidati i meccanismi d'azione.

L'ossidazione degli acidi grassi prevede 3 fasi:

1. Gli acidi grassi vanno incontro alla rimozione ossidativa di unità bicarboniose sotto forma di acetil-coA, iniziando dall'estremità carbossiterminale della catena dell'acido grasso. Durante la formazione di ogni molecola di acetil-coA vengono rimossi atomi di H dal gruppo acilico da parte della deidrogenasi.
2. L'unità acetilica dell'acetil-coA viene ossidata a CO₂ nel ciclo dell'acido citrico, anch'esso localizzato nella matrice mitocondriale. L'acetil-coA entra quindi in una via di ossidazione comune. Le prime due fasi dell'ossidazione degli acidi grassi riducono i trasportatori di elettroni NAD⁺ e FAD a NADH e FADH₂.
3. I coenzimi (NAD⁺ e FAD a NADH e FADH₂) donano alla catena respiratoria dei mitocondri gli elettroni che hanno ricevuto. Gli elettroni arrivano all'ossigeno con la concomitante fosforilazione di ADP ed ATP. L'energia rilasciata dall'ossidazione degli acidi grassi viene quindi conservata sotto forma di ATP.

La beta ossidazione degli acidi grassi saturi avviene in quattro reazioni:

1. Deidrogenazione che forma un doppio legame tra gli atomi di carbonio alfa e beta (C-2 e C-3) formando un trans-delta²-enoil-coA. La reazione è catalizzata da tre isozimi dell'acil-coA deidrogenasi, ciascuno specifico per un ambito di lunghezza della catena di acidi grassi:
 - deidrogenasi di acil-coA a catena lunga (VLCAD) agisce su acidi grassi da 12 a 18 C
 - deidrogenasi degli acil-coA a catena media (MCAD) agisce su catene da 4 a 14 C
 - deidrogenasi degli acil-coA a catena corta (SCAD) agisce su catene da 4 a 8 C

Tutti e tre gli isozimi sono flavoproteine e hanno come gruppo prostetico il FAD. L'acil-coA deidrogenasi è un tetramero formato da subunità identiche di 386 residui amminiacidici. Possiede il FAD e il glutammato³⁸⁶ che attrae i protoni del C-alfa per catalizzare la reazione di beta-ossidazione. Gli elettroni rimossi dall'acil-coA sono trasferiti al FAD e la forma ridotta dalla deidrogenasi dona immediatamente questi elettroni ad un trasportatore di elettroni della catena respiratoria mitocondriale, la flavoproteina (che contiene un centro ferro-zolfo) che trasferisce elettroni (ETF).

2. Viene aggiunta al doppio legame dei trans-delta²-enoil-coA una molecola d'acqua, formando lo stereoisomero L del beta-idrossiacil-coA, reazione catalizzata dall'enoil-coA idratasi.
3. L-beta-idrossiacil-coA, viene deidrogenato a beta-chetoacil-coA ad opera della beta-idrossiacil-coA deidrogenasi, il NAD⁺ è l'accettore di elettroni. Il NADH che si forma dona i suoi elettroni alla NADH deidrogenasi (trasportatore della catena respiratoria). Quando gli elettroni passano dal NADH all'O₂ della catena respiratoria si forma ATP da ADP.
4. Ultima reazione è catalizzata dall'acil-coA acetiltransferasi (o tiolasi) in cui il beta-chetoacil-coA reagisce con una molecola di coenzima A libero, staccando un frammento a due atomi di carbonio sotto forma di acetil-coA dalla regione carbossiterminale dell'acido grasso originale. L'altro prodotto della reazione è il tiostere dell'acido grasso con il coenzimaA, ora accorciato di due atomi di carbonio.

Le ultime tre tappe sono catalizzate da gruppi di enzimi a seconda della lunghezza delle catene degli acidi grassi. Per gli acidi grassi con più di 12 C, le reazioni sono catalizzate da un complesso multienzimatico associato alla membrana mitocondriale interna, la proteina trifunzionale TFP.

La *morte nel sonno dei neonati* è stata definita SIDS (sindrome della morte in culla), e la causa è ancora indefinita però si pensa che sia attribuibile ad alterazioni dell'enzima acil-coA deidrogenasi a catena intermedia (MCAD) nel sistema di trasferimento degli elettroni. In alcuni soggetti può essere mutata la regione del glutammato, portando ad una destabilizzazione dell'enzima, o alterazioni che riguardano residui amminiacidici coinvolti nella trasmissione degli elettroni alla flavoproteina ETF. L'1% dei casi riguarda il gene che codifica per l'MCAD che è affetto da una mutazione puntiforme recessiva.

La *malattia da vomito giamaicano* può portare a convulsioni, vomito e morte determinata da alterazioni dovute all'assunzione di frutti acerbi che contengono ipoglicinaA (inusuale) che è idrolizzato dalla acil-coA deidrogenasi generando un intermedio che blocca e inattiva l'enzima.

Nella beta ossidazione sono rimosse due elettroni, quattro protoni e una molecola di acetil-coA dall'acido grasso. Queste tappe vengono ripetute per accorciare la catena progressivamente come per esempio il palmitato che parte da 16 atomi di carbonio fino ad arrivare alla sua conversione completa con risultato di 8 acetil-coA, 7 FADH₂, 7 NADH e 7H⁺. Ogni molecola di FADH₂ formata durante l'ossidazione degli acidi grassi dona una coppia di elettroni alla proteina ETF della catena respiratoria, circa 1,5 molecole di ATP sono generate nel successivo trasferimento degli elettroni all'ossigeno accoppiato alla fosforilazione ossidativa. La resa energetica della conversione del palmitato è di 108 molecole di ATP. Se a questo sottraiamo i due legami derivati dall'adenilazione per l'attivazione dell'acido grasso otteniamo 106 molecole nette della beta ossidazione del palmitato.

Nel caso della degradazione di acidi grassi insaturi sono necessarie altre tappe. Esempio l'oleato che ha 18 atomi di C, è monoinsaturo con un solo doppio legame di tipo cis tra il C9 e il C10. Viene attivato a oleil-coA, trasportato dallo shuttle acil-carnitina/carnitina nella matrice mitocondriale quindi dopo tre cicli delle precedenti reazioni si ottiene il cis-delta³-dodecenil-coA che non può subire altri cicli di beta-ossidazione perché l'enoil-coA idratasi riconosce solo i legami trans, quindi entra in gioco l'enzima ausiliario delta³-delta²-enoil-coA-isomerasi, che converte il legame cis in trans e le normali tappe della beta ossidazione possono proseguire.

Ossidazione di acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio sono ossidati allo stesso modo di quelli che hanno la catena con un numero di carboni pari e i prodotti finali a 5 atomi di carbonio sono scissi ad acetil-coA e propionil-coA. Questo viene prima carbossilato formando lo stereoisomero D-metilmalonil-coA ad opera della propionil-coA carbossilasi contenete biotina come coenzima. Lo ione idrogeno carbonato viene attivato dalla biotina e poi trasferito sul propionato, idrolizzando una molecola di ATP. Il D-metilmalonil-coA viene epimerizzato per

produrre lo stereoisomero del D-metilmalonil-coA e questo viene ad opera di un epimerasi che lo converte in succinil-coA, questa reazione viene catalizzata dalla metilmaloni-coA mutasi che contiene come coenzima la 5-desossiadenosil cobalamina, un derivato della vitamina B12. Il succinil-coA può essere consumato nel ciclo dell'acido citrico direttamente o indirettamente e in tal caso deve essere convertito in pirruvato. Il succinil-coA viene trasformato a malato, ma se esso è presente ad alte concentrazioni, viene trasportato fuori dal mitocondrio, nel citoplasma ad opera di un trasportatore specifico, dove viene ossidato e decarbossilato a piruvato e CO₂ ad opera dell'enzima malico, il piruvato può poi entrare nel ciclo dell'acido citrico.

La 5-desossiadenosilcobalamina è un coenzima importante. Dorothy Hodgkin è una biochimica e cristallografa britannica, pioniera della tecnica di diffrazione ai raggi X e ha vinto il Nobel per la chimica nel 1964 per avere determinato la struttura di importanti sostanze biochimiche come il colesterolo, la penicillina, l'insulina e la vitamina B12 da cui prende origine la 5-desossiadenosilcobalamina. Questa è un gruppo prostetico contenente un anello corrinico formato da quattro anelli pirrolici e tre ponti metilici, la sua caratteristica è quella che al centro presenta un atomo di cobalto che è coordinato a 4 atomi di azoto degli anelli ma può formare anche altri due legami di coordinazione aggiuntivi perpendicolari al piano dell'anello. Il primo di essi è stabilito con una molecola di 5-6 dimetil-benzimidazolo (DMB) che a sua volta è legato alla molecola di ribosio 3-P che prende contatto con l'anello D. Il secondo legame avviene con la partecipazione di diversi gruppi funzionali come cianuro, un gruppo idrossilico o metilico o un gruppo 5-deossi-adenosinico. Il legame carbonio-cobalto che viene a formarsi rappresenta l'unico legame di tipo covalente tra un carbonio e un metallo di questo tipo in biologia.

La metilmaloni-coA mutasi catalizza due tipi di reazioni, il trasferimento di un idrogeno tra due carboni adiacenti con lo scambio concomitante del secondo sostituente x, oppure il trasferimento di un gruppo metilico. Ci sono una dozzina di enzimi cobalamina dipendenti, nei mammiferi solo 2:

- la metilmaloni-coA mutasi
- Omocisteina metil transferasi coinvolto nella biosintesi della metionina

Il meccanismo d'azione proposto dalla reazione catalizzata dalla metilmaloni-coA mutasi inizia con la rottura del legame Carbonio-cobalto nello stato +3, generando cobalto+2 con un elettrone spaiato e la sua funzione è quella di generare dei radicali liberi in modo reversibile.

L'anemia perniziosa è una patologia spesso fatale nell'anziano ed è causata dalla carenza di vitamina B12 che determina una riduzione del numero dei globuli rossi, bassi livelli di Hb e deterioramento neurologico. Può essere curata con l'assunzione di fegato crudo. Questa vitamina è sintetizzata solo da poche specie di batteri, e gli erbivori la traggono dai loro batteri simbiotici, l'uomo la assimila soprattutto dalla carne ed è legata nell'intestino dal fattore intrinseco che è secreto dallo stomaco. Il complesso che viene a formarsi può essere assimilato da un recettore sulle cellule della mucosa intestinale dissociato dal fattore intrinseco, quindi la vitamina B12 viene trasportata in circolo e legata da tre diverse proteine trasportatrici, le transcobalamine che facilitano l'assorbimento a livello tissutale. In realtà l'anemia perniziosa è causata da un'insufficienza di produzione del fattore intrinseco. La richiesta di vitamina B12 è di circa 3 microgrammi al giorno, il fegato ne accumula una quantità che è sufficiente per 5 anni.

La sede di degradazione degli acidi grassi sono i mitocondri tuttavia la riduzione degli acidi grassi a catena molto lunga verso la beta ossidazione avviene nei perossisomi, dove nelle cellule animali gli acidi grassi a catena lunga vengono convertiti in acidi grassi a catena media, che poi sono trasferiti nei mitocondri dove vengono scomposti in CO₂ e acqua. Nei lieviti e nelle cellule vegetali questo processo avviene esclusivamente nei perossisomi. I perossisomi hanno un diametro di 0,1-1 micro, sono organuli localizzati nel citoplasma formati da una matrice granulare e circondati da una membrana singola e possono contenere un core cristallino. La compartimentazione crea un'ambiente favorevole a promuovere reazioni metaboliche specifiche al loro interno. Il loro numero è variabile, dipende dal tipo di cellula nella quale sono presenti e in alcune specie può essere correlato alla disponibilità di alcune specie chimiche (es. abbondanza di glucosio). Il perossisoma ha attività ossidasica, spesso l'ossigeno molecolare serve come cosubstrato dal quale, in seguito, viene prodotto il perossido di idrogeno (H₂O₂). In nome del perossisoma deriva da questo prodotto (H₂O₂) e dalla sua capacità di scambio. I perossisomi degradano acidi grassi a catena lunga, ramificata, aa, acidi biliari nelle cellule epatiche, ma un'altra funzione importante è la riduzione di specie reattive all'ossigeno in particolare il H₂O₂. Sono coinvolti anche nella biosintesi dei plasminogeni, che sono degli etero-fosfolipidi e sono essenziali per il corretto funzionamento

del cervello. Contengono circa il 10% dell'attività totale di due enzimi la glucosio-6P deidrogenasi e la 6-fosfogluco mutasi presenti nella via dei pentosi fosfati. Sono importanti per il metabolismo energetico. I perossisomi sono anche coinvolti nella sintesi di isoprenoidi, come il colesterolo negli animali è ancora oggetto di studio. Altre funzioni note dei perossisomi includono il ciclo del glicosilato e quindi vengono chiamati glicosisomi, la glicolisi nei tripanosomi.

La beta ossidazione avviene anche nei perossisomi

Nelle cellule delle piante il sito principale della beta ossidazione sono i perossisomi. Il processo è costituito da quattro tappe come nella beta ossidazione mitocondriale:

1. Deidrogenasi
2. Aggiunta di una molecola di acqua al doppio legame
3. Ossidazione del beta-idrossiacil-coA a chetone
4. Scissione tiolica da parte del co-A

La differenza tra la beta ossidazione mitocondriale e perossisomale risiede nella prima fase. Nei perossisomi, la flavoproteina deidrogenasi che genera il doppio legame passa direttamente gli elettroni all'ossigeno formando H₂O₂. Questo forte ossidante è potenzialmente dannoso e viene immediatamente scisso in H₂O e O₂ dalla catalasi. Nei perossisomi, l'energia liberata dalla prima tappa ossidativa non viene conservata come ATP ma dissipata sotto forma di calore. Nei perossisomi la degradazione si arresta se incontra acil-coA con catena ad otto C che inibiscono l'azione della tiolasi. Il sistema perossimale è maggiormente attivo su acidi grassi a catena lunga come l'acido esanoico e a catena ramificata, questi sono assunti con la dieta di latticini e pesci. Il loro catabolismo nei perossisomi coinvolge molti enzimi.

Esempio di acido grasso a catena lunga è l'acido fitamico, è un acido grasso saturo con una catena ramificata analoga al terpene. L'acido fitamico non può essere metabolizzato attraverso una beta-ossidazione è invece sottoposto ad un'alfa-ossidazione nei perossisomi dove è convertito in acido pristanico con la rimozione di un atomo di carbonio. Questo acido subisce poi vari cicli di ossidazione nei perossisomi fino a formare degli acidi grassi a catena media a loro volta convertiti in CO₂ e H₂O. Gli individui affetti dal morbo di Refsum è una malattia autosomica recessiva ed è caratterizzata da una serie di disturbi neurologici, la patologia di tipo 1 deriva da una mutazione della Fitanoil-coA-idrossilasi che ne causa una sua carenza. I soggetti affetti presentano un'alterazione nel processo di alfa-ossidazione e si accumulano grandi quantità di acido fitamico nel sangue e nei tessuti. Questo porta molto spesso all'insorgenza di una polineuropatia periferica (atassia cerebrale, retinite pigmentosa, perdita dell'udito).

Ossidazione del carbonio omega

In alcuni organismi, inclusi anche alcuni vertebrati avviene anche l'ossidazione del carbonio mega che è il più distante dal gruppo carbossilico. Gli enzimi coinvolti sono presenti nel reticolo endoplasmatico liscio nei microcosmi, fegato e rene e caratterizzati dall'ossidazione di acidi grassi preferenzialmente a 10-12 atomi di carbonio. Nei mammiferi questa via funziona solo quando ci sono delle alterazioni (e quindi non funziona bene) nella beta ossidazione che è la via generalmente utilizzata. Questa via coinvolge tre step:

1. Introdotto sul carbonio omega un gruppo ossidrile. l'ossigeno di questo gruppo proviene dall'ossigeno molecolare in una complessa reazione che coinvolge il citocromo P450 ed il donatore di elettroni NADPH. Sono catalizzate dalla ossidasi a funzione mista
2. Intervengono sul carbonio omega altri due enzimi:
 - alcol deidrogenasi che ossida il gruppo ossidrile ad aldeide
 - aldeide deidrogenasi che ossida il gruppo aldeidico ad acido carbossilico.

Si genera così un acido grasso con un gruppo carbossilico su ciascuna estremità, ognuna delle quali può legarsi al CoA.

3. La molecola entra nel mitocondrio dove viene ossidata grazie alla beta-ossidazione.

I corpi chetonici

L'acetil co-A formato nel fegato durante l'ossidazione degli acidi grassi può entrare nel ciclo dell'acido citrico oppure essere trasformato in corpi chetonici, cioè l'acetone, acetoacetato e D-beta-idrossibutirrato che saranno esportati ad altri tessuti.

I corpi chetonici formati nel fegato sono esportati in altri organi come fonte di energia

La prima tappa della formazione dell'acetoacetato nel fegato è la condensazione enzimatica di due molecole di acetil-coA, catalizzata dalla tiolasi (inverso dell'ultima tappa della beta ossidazione).

L'acetoacetil-coA condensa poi con un'altra molecola di acetil-coA formando beta-idrossi-beta-metilglutaril-coA (HMG-CoA) che si scinde in acetoacetato libero e acetil-coA. L'acetoacetato libero può essere decarbossilato in piccole quantità di acetone. Oppure l'acetoacetato libero così prodotto viene ridotto reversibilmente dalla D-beta-idrossibutirrato deidrogenasi, un enzima mitocondriale a D-beta-idrossibutirrato (specifico per l'isomero di tipo D).

Nel fegato la produzione di corpi chetonici libera coA consentendo alla beta ossidazione di continuare mentre l'acetil-coA può entrare nel ciclo dell'acido citrico per la produzione di ossalacetato, da indirizzare, attraverso la gluconeogenesi verso la sintesi e produzione di glucosio, esportabile ed utilizzato soprattutto dal cervello. I corpi chetonici sono trasportati dal sangue verso altri distretti tissutali, in particolare, cuore, muscolo scheletrico e un po' meno nel rene e nel cervello che raggiungono questi distretti solo dopo un digiuno prolungato.

L'acetone è prodotto in piccole quantità rispetto agli altri corpi chetonici e viene eliminato con l'espiazione mentre l'acetoacetato e il D-beta-idrossibutirrato sono trasportati dal sangue ai tessuti extraepatici per la produzione di energia.

Il D-beta-idrossibutirrato viene prima ossidato ad acetoacetato e poi l'enzima beta-chetoacil-coA transferasi trasferisce il coA dal succinil-coA all'acetoacetato formando acetoacetil-coA che viene scisso in due molecole di acetil-coA.

Il meccanismo d'azione della beta-chetoacil-coA-transferasi coinvolge la partecipazione di un gruppo carbossilico nel sito attivo dell'enzima.

I corpi chetonici formati nel fegato sono utilizzati in altri distretti proprio per produrre acetil-coA da indirizzare al ciclo di Krebs per ricavare l'energia utile da trasferire alla catena di trasporto degli elettroni per la fosforilazione ossidativa e quindi per la produzione di ATP.

Il fegato è incapace di utilizzare i corpi chetonici perché le sue cellule non producono l'enzima beta-chetoacil-coA-transferasi.

Il diabete e il digiuno prolungato provocano una sovrapposizione di corpi chetonici

Durante il digiuno, la gluconeogenesi sottrae intermedi al ciclo di Krebs indirizzando l'acetil-coA verso la produzione di corpi chetonici. Nel diabete non trattato l'insulina è presente in quantità insufficienti e i tessuti extraepatici non possono assumere il glucosio dal sangue per usarlo come combustibile. In queste condizioni il malonil-coA (il materiale di partenza per la sintesi degli acidi grassi) non viene formato e quindi la carnitina aciltransferasi I non viene inibita. Gli acidi grassi entrano nei mitocondri per essere degradati ad acetil-coA che però non può essere ossidato attraverso il ciclo dell'acido citrico. L'accumulo di acetil-coA provoca un aumento della produzione dei corpi chetonici. L'aumento di acetoacetato e di D-beta-idrossibutirrato abbassa il pH del sangue generando una condizione nota come acidosi che se estrema porta a coma e morte.

I corpi chetonici possono raggiungere nel sangue e nelle urine dei soggetti diabetici concentrazioni molto elevate e crea la condizione detta chetosi.

BIOSINTESI DEGLI ACIDI GRASSI

Quando si scoprì che l'ossidazione degli acidi grassi avveniva mediante la rimozione di unità bicarboniose successive, i biochimici pensarono che la biosintesi degli acidi grassi potesse essere l'inverso delle tappe enzimatiche usate per l'ossidazione di questi composti.

In realtà la biosintesi e la beta ossidazione sono vie diverse, catalizzate da enzimi differenti e localizzate in compartimenti cellulari diversi. L'intermedio a tre atomi di carbonio, malonil-coA partecipa alla biosintesi ma non entra nella via degradativa. La beta ossidazione avviene nei mitocondri mentre la biosintesi nel citoplasma. La beta ossidazione utilizza acidi grassi esterificati con il Co-A mentre nella biosintesi la crescita delle catene di acidi grassi procede su ACP che come il co-A contiene un gruppo di fosfopantoina formante tioesteri con i gruppi acilici. Nelle reazioni redox la beta ossidazione di solito utilizza FAD e NAD⁺ mentre nella biosintesi si utilizzano NADP⁺ e NADPH e H⁺. Il taglio del legame tra C-alfa e C-beta per generare acetil-coA e un acido grasso più corto di due unità di carbonio ha una variazione di energia libera prossima a zero e potrebbe essere anche reversibile. Mentre nella via biosintetica la reazione di condensazione di una molecola di malonil-coA con l'acido grasso attaccato al Carrier ACP avviene mediante un'idrolisi di ATP che trascina la reazione dal punto di vista energetico.

Per avvenire la biosintesi ha bisogno di molecole di acetil-coA. Poiché l'acetil-coA è prodotto dal mitocondrio, la membrana mitocondriale interna è impermeabile e la molecola deve essere trasportata da un sistema shuttle. L'acetil-coA nei mitocondri, nella prima fase del ciclo di Krebs, reagisce con l'ossalacetato per formare citrato ad opera della citrato sintasi che può essere eventualmente trasportato nel citosol. Nel citosol il citrato viene scisso dalla citrato liasi generando

acetil-coA e ossalacetato mediante idrolisi di ATP. L'ossalacetato ridotto a malato può tornare nel mitocondrio oppure può essere ossidato dall'enzima malico a piruvato per generare anche NADPH citosolico. Il piruvato è riportato nella matrice mitocondriale dove viene riconvertito in ossalacetato dalla piruvato carbossilasi. Il costo energetico del trasporto di una molecola di acetil-coA al citosol è pari a 2 molecole di ATP. Questo serve per portarla nel citosol per far avvenire la biosintesi degli acidi grassi.

Il malonil-coA si forma dall'acetil-coA e dal bicarbonato

Nella prima tappa della biosintesi degli acidi grassi è coinvolto il malonil-coA, la cui formazione è un processo irreversibile sintetizzato dall'enzima acetil-coA carbossilasi. Questo enzima nei batteri è costituita da tre catene polipeptidiche, mentre negli animali tutte e tre le subunità fanno parte di un singolo polipeptide funzionale. In tutti i casi, l'acetil-coA carbossilasi contiene come gruppo prostetico la biotina, legata covalentemente al gruppo Epsilon-amminico di un residuo di Lys di una delle tre subunità della molecola enzimatica. Il gruppo carbossilico che deriva dal bicarbonato viene prima trasferito dalla biotina in una reazione che richiede ATP. La biotina serve come trasportatore temporaneo della Co_2 , che nella seconda tappa viene trasferita all'acetil-coA che produce malonil-coA.

Fu Wakil a scoprire negli anni '50 che la reazione richiedeva bicarbonato. Rittehmberg e Bloch dimostrarono mediante la marcatura isotopica che la condensazione derivava da acido acetico. L'acetil-coA carbossilasi nei mammiferi è un enzima che si associa a formare dei polimeri filamentosi di 4 mila-8 mila Dalton e che risulta cataliticamente attivo mentre il protomero è inattivo. Questo è influenzato da due molecole il citrato citosolico che favorisce la polimerizzazione e il palmitoil-coA che invece induce la disgregazione del polimero. L'enzima è influenzato anche da ormoni come glucagone ed epinefrine che innescano la fosforilazione AMP-ciclo dipendete sulla serina-77 e AMPK ad opera della AMP chinasi sulla serina-79. Queste fosforilazioni inattivano l'enzima. In realtà sembra che sia impedita la fosforilazione in questi siti. Per quello che riguarda l'insulina, questa stimola l'effetto contrario e quindi la defosforilazione dell'enzima. In E.coli la regolazione avviene ad opera del GTP in risposta ad esigenze di crescita cellulare.

Gli acidi grassi vengono sintetizzati mediante una sequenza di reazioni ripetute

In tutti gli organismi le lunghe catene carbonio degli acidi grassi vengono sintetizzate mediante la ripetizione di quattro tappe, catalizzate da un sistema multienzimatico chiamato acido grasso sintasi. Un gruppo acilico saturo, prodotto da una serie di quattro reazioni, diventa il substrato della successiva condensazione con un gruppo malonilico attivato. Esistono due principali varianti:

- Acido grasso sintasi 1 (FAS1) nei vertebrati e funghi
- Acido grasso sintasi 2 (FAS2) in piante e batteri

Nei mammiferi il FAS1 codifica per un'unica proteina funzionale contenente 7 domini funzionali, ognuno con un sito attivo per sette reazioni separate. Il polipeptide dei mammiferi funziona come omodimeri. Sembra che le subunità agiscano in modo indipendente. Se tutti i sette siti attivi di una subunità vengono inattivati per mutazione, la sintesi degli acidi grassi si riduce solo di poco. Con il sistema FAS1 la sintesi dell'acido grasso produce un singolo prodotto e non vengono rilasciati intermedi. Quando la lunghezza della catena carbonio sintetizzata raggiunge i 16 atomi di carbonio, il prodotto ultimo abbandona il ciclo. Gli intermedi restano legati covalentemente a uno dei gruppi tiolici dell'enzima. Uno con un gruppo SH del residuo cisteina del dominio KS-beta-chetoacil-ACP-sintasi, l'altro è il gruppo SH di una cisteina dell'ACP.

I domini funzionali sono i seguenti:

- KS (beta-chetoacil-ACP sintasi)
- MAT
- DH (beta-idrossiacil-ACP deidratasi)
- ER (enoil-ACP reductasi)
- ACP (proteina trasportatrice di acili)
- TE

Si pensa che il gruppo prostetico 4'-fosfopanteteina (derivato della vitamina B) dell'ACP agisca come braccio flessibile. Esso trattiene le catene di acido grasso in fase di allungamento sulla superficie del complesso dell'acido grasso sintasi mentre trasferisce gli intermedi delle varie reazioni da un sito cattivo all'altro. Il gruppo -SH è il sito di ingresso dei gruppi malonilici per la biosintesi.

L'acido grasso sintasi lega gruppi acetilici e malonilici

Prima che abbiano inizio le reazioni di condensazioni che portano alla sintesi dell'acido grasso, i due gruppi tiolici del complesso multienzimatico devono essere caricati con i due gruppi acilici corretti. Il gruppo acetilico dell'acetil-coA viene trasferito all'ACP in una reazione catalizzata dal dominio del polipeptide multifunzionale malonil/acetil-CoA-ACP transferasi. Il gruppo acetilico viene quindi trasferito al gruppo Cys-SH della beta-chetoacil-ACP sintasi.

Tappe:

1. **Condensazione:** coinvolge i gruppi acetilici e malonilici attivati con formazione dell'acetoacetil-ACP, un gruppo acetoacetilico legato all'ACP tramite il gruppo -SH della fosfopanteteina, si libera anche una molecola di CO₂. Reazione catalizzata dalla beta-chetoacil-ACP sintasi (KS), il gruppo acetilico viene trasferito al gruppo Cys-SH dell'enzima al gruppo malonilico dell'-SH dell'ACP, diventando l'unità carboniosa metile terminale del gruppo acetoacetilico neosintetizzato. L'atomo di carbonio della CO₂ formata in questa reazione è lo stesso atomo di carbonio che era stato introdotto nella molecola di malonil-coA carbossilasi. La CO₂ viene fissata covalentemente solo transitoriamente e viene allontanata quando nella catena carboniosa in fase di allungamento viene inserita un'unità a due atomi di carbonio. Questa prima tappa è esoergonica.
2. **Riduzione del gruppo carbonilico:** l'aceto-acetil-ACP formato nella tappa di condensazione subisce la riduzione del gruppo carbonilico presente sul C-3 trasformandosi in D-beta-idrossibutiril-ACP. Questa reazione è catalizzata dalla beta-chetoacil-ACP reductasi (KR) e il donatore di elettroni è il NADPH.
3. **Deidratazione:** dagli atomi di carbonio C-2 e C-3 del D-beta-idrossibutiril-ACP viene rimossa una molecola di acqua per formare un doppio legame nel prodotto, il trans-delta due-butenoil-ACP. L'enzima che catalizza questa reazione è il beta-idrossiacil-ACP deidratasi (DH)
4. **Riduzione del doppio legame:** il doppio legame del trans-delta due-butenoil-ACP viene ridotto generando butirril-ACP da parte della enoil-ACP reductasi (ER). Il donatore di equivalenti è il NADPH.

La formazione dell'acil-ACP saturo a quattro atomi di carbonio completa il passaggio attraverso il complesso dell'acido grasso sintasi. Il gruppo butirrilico viene ora trasferito dal gruppo -SH della fosfopanteteina a quello del residuo di Cys della beta-chetoacil-ACP sintasi, che inizialmente era occupato dal gruppo acetilico. Per iniziare un nuovo ciclo delle quattro reazioni, necessario per allungare la catena di altri due atomi di carbonio, un altro malonile viene legato al gruppo -SH della fosfopanteteina sull'ACP ora libero. Un'altro gruppo malonile è caricato sull'ah dell'ACP per essere condensato con il gruppo butirrilico sulla KS. Il butirrilico è trasportato dalla KS sul malonil ACP con liberazione di CO₂. Le reazioni si ripetono ed i cicli continuano fino a sintetizzare il palmitato a 16 atomi di carbonio sempre legato all'ACP. Per motivi che sono ancora sconosciuti il palmitato viene staccato dalla tioesterasi dal dominio TE dell'enzima multifunzionale.

Il bilancio della biosintesi di acidi grassi

$7 \text{ acetil-coA} + 7 \text{ CO}_2 + 7 \text{ ATP} \longrightarrow 7 \text{ malonil-coA} + 7 \text{ ADP} + 7 \text{ Pi}$

$\text{Acetil-coA} + 7 \text{ malonil-coA} + 14 \text{ NADPH} + 14 \text{ H}^+ \longrightarrow \text{palmitato} + 7 \text{ CO}_2 + 8 \text{ CoA} + 14 \text{ NADP}^+ + 6 \text{ H}_2\text{O}$

$8 \text{ Acetil-coA} + 7 \text{ ATP} + 14 \text{ NADPH} + 14 \text{ H}^+ \longrightarrow \text{palmitato} + 7 \text{ CO}_2 + 8 \text{ CoA} + 14 \text{ NADP}^+ + 6 \text{ H}_2\text{O}$

- 23 molecole di ATP:

7 consumate dalla acetil-CoA carbossilasi per formare il malonil. 16 (2x8) dal sistema navetta citrato

-14 NADPH

8 generati dal sistema navetta. 6 provenienti dalla via del pentosio fosfato.

Il palmitato è il precursore sia per la sintesi degli acidi grassi a catena lunga che di acidi grassi insaturi, attraverso l'azione di elongasi e desaturasi. L'allungamento di acidi grassi a catena lunga oltre i 16 atomi di C avviene con l'aggiunta di singole unità acetiliche dal sistema di allungamento degli acidi grassi molto attivo nel reticolo endoplasmatico liscio. Il sistema di allungamento è uguale a quello per produrre palmitato e viene aggiunto acetil-coA. Riguardo all'inserimento dei doppi legami negli acidi grassi questi sono operati da ossidasi a funzione mista che è un complesso di tre proteine che contengono vari coenzimi come NADPH, FAD e centri ferro-zolfo, questo complesso svolge una serie di ossidoriduzioni. Gli animali sono in grado di introdurre un solo doppio legame in posizione 9. L'introduzione di ulteriori doppi legami avviene solo nelle piante. Questo è un motivo per cui gli omega3 e gli omega6 sono dei acidi grassi essenziali e devono essere introdotti con la dieta. Questi sono poi trasformati in altri composti con l'acido escopentanoico.

Gli eicosanoidi si formano da acidi grassi poliinsaturi a venti atomi di carbonio

Gli eicosanoidi sono una famiglia di molecole segnale molto potenti che agiscono come messaggeri a corto raggio sui tessuti vicini alle cellule che le hanno prodotte. In risposta a uno stimolo, che può essere di natura ormonale, una specifica fosfolipasi A2 agisce sui fosfolipidi di membrana e rilascia l'arachidonato dal

carbonio centrale del glicerolo. Enzimi del reticolo endoplasmatico liscio convertono l'arachidonato in prostaglandine, cominciando con la formazione della prostaglandina H₂ (PGH₂). Le due reazioni che portano alla sintesi di PGH₂ sono catalizzate da un enzima bifunzionale, la cicloossigenasi (COX), detta anche prostaglandina H₂ sintasi.

I mammiferi hanno due forme isozimatiche della prostaglandina H₂:

- COX1 è responsabile della sintesi delle prostaglandine che regolano la secrezione della mucina gastrica
- COX2 delle prostaglandine che mediano l'infiammazione, il dolore e la febbre. Il dolore si può alleviare inibendo la COX-2. Il primo farmaco reso disponibile sul mercato a questo scopo è stata l'aspirina.

La trombossano sintasi, presente nelle piastrine converte PGH₂ in trombossano A₂, da cui derivano gli altri trombossani. I trombossani inducono costrizione dei vasi sanguigni e aggregazione piastrinica. Piccole dosi di aspirina prese regolarmente riducono la probabilità di attacchi cardiaci e di ictus, poiché riducono la produzione di trombossani. I trombossani contengono un anello a cinque o sei atomi di carbonio.

La sintesi dell'arachidonato porta anche alla sintesi dei leucotrieni che sono composti lineari ad opera delle lipoossigenasi che catalizzano l'incorporazione dell'ossigeno molecolare nell'arachidonato. Questi enzimi che si trovano nel cuore, cervello, polmoni e milza sono ossidasi a funzione mista che usano il citocromo P-450.

I triacilgliceroli e i glicerofosfolipidi sono sintetizzati a partire da precursori comuni

Entrambi questi composti derivano dall'acido fosfatidico che viene prodotto a partire da acil-coA e L-glicerolo-3P.

Il glicerolo-3P si forma nel citosol a partire dall'intermedio glicolitico diidrossiacetone fosfato (DHAP) per azione della glicerolo 3-P deidrogenasi NAD dipendente citosolica. Una piccola quantità di glicerolo-3P si forma anche nel fegato e nel rene dal glicerolo ad opera della glicerolo chinasi.

Gli altri precursori dei triacilgliceroli sono gli acil-coA che formano degli acidi grassi in una reazione catalizzata dall'acil-coA sintetasi.

Gli esseri umani possono conservare il glicerolo come molecola di riserva nel fegato e nel muscolo che è sufficiente a favorire un fabbisogno di 12 ore. Il fegato può conservare il 21% del suo peso come triacilgliceroli sufficiente per un periodo di 12 settimane.

La velocità della biosintesi dei triacilgliceroli è controllata dall'azione di diversi ormoni. L'insulina per esempio, facilita la conversione di carboidrati in triacilgliceroli. Le persone affette da diabete mellito, che presentano difetti nella secrezione di insulina, non solo non sono in grado di riutilizzare il glucosio in modo corretto ma non sono nemmeno in grado di sintetizzare i triacilgliceroli dai carboidrati o dagli aa. Se non trattati nei pazienti si osserva un'accelerazione nella velocità di ossidazione degli acidi grassi e di trasformazione di copri chetonici, per cui essi tendono a perdere peso.

Durante il digiuno, in tutti i mammiferi i trigliceridi immagazzinati nel tessuto adiposo sono idrolizzati da lipasi sensibili agli ormoni per produrre acidi grassi liberi e glicerolo. Studi dettagliati sull'equilibrio di glicerolo e acidi grassi liberi rilasciati dal tessuto adiposo bianco durante un digiuno mostrano una considerevole riesterificazione degli acidi grassi all'interno del tessuto adiposo anche durante una lipolisi attiva. Solo una piccola parte degli acidi grassi rilasciati a seguito di lipolisi viene ossidata nel tessuto adiposo, mentre l'altra parte viene riesterificata in trigliceridi in vari tessuti vengono rilasciati quindi acidi grassi liberi e glicerolo che vengono trasportati al fegato e questo rilascia nuovamente trigliceridi. Il riciclo negli adipociti sembra rappresentare circa il 20/30% del totale mentre il riciclo che avviene nei tessuti non adiposi come il fegato rappresenta il 70% della riesterificazione degli acidi grassi negli adulti sani dopo per esempio un digiuno notturno.

Il riciclo dei trigliceridi richiede la generazione costante di glicerolo-3P, questo avviene in determinate condizioni durante per esempio l'aumento della termogenesi, dopo ustioni nell'uomo e durante un'esercizio fisico intenso quindi in queste situazioni aumenta il riciclaggio dei trigliceridi. Inoltre il flusso del riciclo aumenta notevolmente dopo un digiuno che dura più di 80 ore. Il riciclo sembra avere la funzione di mantenere costante la concentrazione di acidi grassi liberi nel sangue come fonte immediatamente utilizzabile in caso di emergenza.

La fonte metabolica necessaria per sostenere questo riciclo è composta da 3 possibilità:

- Il glucosio tramite la glicolisi
- Il glicerolo dopo la fosforilazione con glicerolo chinasi
- Conversione del piruvato attraverso un percorso che viene chiamato gliceroneogenesi.

La gliceroneogenesi è una versione accorciata della gluconeogenesi, da piruvato a DHAP, seguita dalla conversione del DHAP in glicerolo 3-P per azione della glicerolo 3-P deidrogenasi NAD-dipendente del citosol. Il glicerolo 3-P viene successivamente utilizzato nella sintesi del triacilglicerolo. Nel tessuto adiposo questa via è associata alla riesterificazione degli acidi grassi in modo da portare alla sintesi del triacilglicerolo. I glucocorticoidi stimolano la gliceroneogenesi nel fegato mentre la inibiscono nel tessuto adiposo. Aumentano l'espressione della PEP carbossichinasi nel fegato mentre la inibiscono nel tessuto adiposo. Se la velocità della gliceroneogenesi negli adipociti diminuisce questo comporta un maggiore rilascio di acidi grassi in circolo ed esportati al fegato, mentre nel fegato se la velocità della gliceroneogenesi aumenta cresce la sintesi e l'esportazione dei triacilgliceroli. Anche farmaci come i tiazolidinedioni aumentano nel tessuto adiposo la concentrazione di PEP carbossichinasi portando ad un aumento della sintesi dei precursori della gliceroneogenesi, in pazienti ad esempio con diabete di tipo 2 viene

somministrato questo farmaco. I tiazolidinedioni riduce i livelli degli acidi grassi circolanti e aumenta la sensibilità dell'insulina.

Biosintesi dei fosfolipidi di membrana

Le due classi principali di fosfolipidi di membrana sono i glicerofosfolipidi e gli sfingolipidi. La sintesi dei fosfolipidi avviene soprattutto nel reticolo endoplasmatico liscio e nella membrana mitocondriale interna e i fosfolipidi sono poi trasferiti alle loro sedi. Dal glicerolo 3-P viene sintetizzato l'acido fosfatidico come nelle prime tappe della sintesi dei triacilgliceroli. Esistono due strategie di sintesi per i fosfolipidi:

- il diacilglicerolo viene attivato per condensazione dell'acido fosfatidico col CTP con eliminazione del pirofosfato e formazione del CDP-diacilglicerolo. Questi poi reagiscono con la testa polare dell'acido fosfatidico.
 - La citidina-difosfato interagisce direttamente con il gruppo ossidrilico si lega quindi alla testa polare dell'acido fosfatidico e insieme reagiscono poi col gliacil-glicerolo.
- In ogni caso per effettuare la biosintesi un nucleotide citidina-difosfato fornisce gruppo fosfato per il legame tiostere.

Le cellule eucariotiche usano entrambe queste strategie, mentre i batteri usano solo la prima strategia. Dall'acido fosfatidico sono originati attraverso il CDP-diacilglicerolo, fosfolipidi anionici come la cardiolipina e il fosfatidil-inositolo. Inoltre i lieviti dalla CDP-diacilglicerolo, sono in grado di produrre per condensazione di una serina anche la fosfatidilserina. La decarbossilazione del residuo di serina della fosfatidilserina produce la fosfatidiletanolammina. La fosfatidiletanolammina può essere convertita in fosfatidilcolina per aggiunta di tre gruppi gruppi metilici al suo gruppo amminico.

Nei mammiferi la fosfatidiletanolammina e la fosfatidilcolina sono sintetizzate attraverso la strategia due con la formazione e l'attivazione della testa polare seguite dalla condensazione col diacilglicerolo.

Regolazione del metabolismo degli acidi grassi

La regolazione del flusso metabolico dipende dalla richiesta energetica e all'apporto di nutrienti alla dieta, ad esempio nel muscolo la richiesta varia anche di 100 volte passando da una condizione di riposo ad una di intensa attività fisica. I metaboliti responsabili della produzioni di energia sono rappresentati dai:

- Triacilgliceroli:
 - Chilomicroni
 - VLDL
 - acidi grassi complessati all'albumina
- Acidi grassi
- Chetoni
- Amminoacidi
- Lattato
- Glucosio

Il pancreas svolge un ruolo determinante nel bilanciare lo stato energetico in relazione alla dieta attraverso il controllo di glucosio nel sangue che è regolata dalla secrezione di ormoni prodotti dalle cellule delle isole di Langherans. Le isole di Langherans sono costituite da cellule disposte attorno ad un capillare in cui riversano il loro secreto. Le cellule alfa costituiscono il 25% delle cellule delle isole di Langherans e producono glucagone mentre le cellule beta secernono insulina e le delta secernono somatostatina che è prodotta anche in altri tessuti. Poi ci sono le cellule PP che sono il 2% e secernono il polipeptide pancreatico, le cellule D α producono il polipeptide vasoattivo intestinale. Le cellule EC che sono secernenti la serotonina. Il glucagone è secreto in risposta a bassi livelli di glucosio nel sangue mentre l'insulina è secreta per abbassare i livelli di glucosio nel sangue. Questi ormoni possono regolare anche il metabolismo dei lipidi, ovvero controllano se gli acidi grassi saranno ossidati o sintetizzati in maniera tessuto specifica. La concentrazione di glucosio nel sangue agisce regolando la secrezione di questi ormoni che attraverso recettori di membrana, tramite una cascata del segnale controllano l'acetil-coA carbossilasi. L'insulina favorisce lo stato defosforilato attivo dell' ACC, mentre il glucagone attiva la PKA e la MPK che fosforilano l'ACC inattivandola. Il rilascio dell'insulina attivando il ACC (acetil-coA carbossilasi) attiva la via biosintetica e quindi la concentrazione di malonil-coA aumenta. Quando aumenta la concentrazione di glucagone l'ACC viene inattivato e la concentrazione di malonil-coA si riduce.



Il destino dell'acetil-coA è finemente regolato e può essere usato nella biosintesi dei triacilgliceroli a fosfolipidi di membrana nel citosol, sia ossidato nel mitocondrio. Un elemento regolativo è rappresentato dalla velocità di trasferimento al mitocondrio dallo shuttle dell'acil-carnitina/carnitina dove la carnitina acetil-transferasi 1 è inibita proprio dal primo intermedio della biosintesi, il malonil-coA. Nell'analisi della regolazione ci sono fattori di controllo primario che influenzano l'attività catalitica di enzimi regolatori controllati non solo la disponibilità di substrato, ma anche da interazioni allosteriche determinate dagli effetti del palmitoil-coA prodotto finale della biosintesi degli acidi grassi che induce la disaggregazione dell'acetil-coA carbossilasi ad esempio ma anche del citrato sodico che favorisce la polimerizzazione dell'enzima attivo. Altri fattori di controllo primario sono la regolazione covalente prodotta dalla fosforilazione cAMP dipendente sulla serina77 e l'AMPK sulla serina-79, inattivano l'enzima acetil-coA carbossilasi. Altri regolatori della via metabolica sono la beta-idrossiacil-coA deidrogenasi che è inibita da un elevato rapporto di NADH/NAD⁺ e la tiolasi che è inibita da elevate concentrazione di acetil-coA. Metabolismo che è anche regolato dalla riduzione di ATP associata ad un aumento di AMP, condizioni in cui viene attivata l'AMPK e fosforila molti bersagli proteici.

Negli adipociti la richiesta energetica determina l'attivazione delle lipasi e la mobilizzazione dei lipidi dalle gocce lipidiche. Il glicerolo e gli acidi grassi vengono trasferiti al fegato dal corrente circolatorio che li metabolizza e li rifornisce di glucosio, chetoni e triacilgliceroli per sopperire al fabbisogno energetico degli altri organi soprattutto cuore, cervello e muscoli.

Oltre a questi meccanismi a breve termine gli enzimi della beta ossidazione sono soggetti a controllo trascrizionale e quindi a lungo termine esercitato da parte di una famiglia di recettori nucleari e sono detti PPAR (recettori attivati da proliferatori perossisomiali). I recettori PPAR alfa, attivati da ligando sono attivi nel muscolo scheletrico, tessuto adiposo e fegato e sono stimolati dall'allenamento e dalla attività sportiva.

Altre proteine appartenenti alla famiglia dei recettori come PPAR è il LXR e possono formare dei dimeri con i RXR (recettori dei retinoidi) e attivati dall'acido 9-cis-13,14-diidroretinoico regolano l'espressione di geni target per mantenere l'omeostasi del colesterolo, acidi grassi e del glucosio.

Il colesterolo

È un costituente vitale per le cellule, forma le membrane ed è un precursore degli ormoni steroidei e anche degli acidi biliari. Il suo deposito nelle arterie è un presupposto per l'insorgenza di patologie cardiorespiratorie. È fondamentale per l'organismo mantenere quindi un giusto equilibrio tra la sintesi, il trasporto e il suo utilizzo.

Sintesi del colesterolo

Il colesterolo è sintetizzato a partire dall'acetil-coA come gli acidi grassi a catena lunga. Tutte le molecole del colesterolo derivano dall'acetato. Il pathway è stato visto non portare solo alla biosintesi del colesterolo ma anche ad altri isoprenoidi essenziali come l'ubiquinone.

La sintesi si svolge in quattro tappe:

1. Condensazione di tre unità di di acetato, per formare un intermedio a sei atomi di carbonio, il mevalonato
2. Conversione del mevalonato in unità isopreniche attivate.
3. Polimerizzazione di unità isopreniche a cinque atomi di carbonio, a dare lo squalene, un composto lineare a 30 atomi di carbonio
4. Ciclizzazione dello squalene a dare il nucleo steroideo a quattro anelli, da cui, attraverso una serie di altre modifiche (ossidazione, rimozione e spostamento di gruppi metili) si forma il colesterolo.

Tappa 1 → sintesi del mevalonato dall'acetato

Due molecole di acetil-coA condensano formando acetoacetil-coA, che a sua volta reagisce con una terza molecola di acetil-coA per generare il composto a sei atomi di carbonio beta-idrossi-beta-metilglutaril-coA (HMG-CoA). Sono catalizzate dalla tiolasi e dalla HMG-CoA sintasi. La terza reazione è la tappa di comando che determina la velocità: la riduzione dell'HMG-CoA a mevalonato, in cui due molecole di NADPH donando due elettroni ciascuna. l'HMG-CoA reduttasi (proteina integrale di membrana del RE liscio) rappresenta il punto principale di regolazione della biosintesi del colesterolo.

Tappa 2 → conversione del mevalonato in due unità isopreniche attivate

Tre gruppi fosfato vengono trasferiti da tre molecole di ATP al mevalonato. Il gruppo fosfato legato al al gruppo OH sul C-3 del mevalonato nell'intermedio 3-fosfo-5-pirofosfomevalonato è un buon gruppo uscente. Questo gruppo fosfato e il gruppo carbossilico vicino vengono liberati generando un doppio legame nel prodotto a cinque atomi di carbonio delta3-isopentenil pirofosfato. L'isomerizzazione di questo composto genera una seconda unità isoprenica attivata il dimetilallil pirofosfato. Questa reazione è presente anche nel citoplasma delle cellule della pianta.

Tappa 3 → condensazione di sei unità isopreniche attivate per formare lo squalene

L'isopentenil pirofosfato e il dimetilallil pirofosfato vanno ora incontro a una condensazione del tipo testa-coda in cui mentre si libera un gruppo pirofosfato, si forma una catena a 10 atomi di carbonio, il geranyl pirofosfato. Il geranyl-pirofosfato subisce un'altra condensazione testa-coda in cui viene prodotto un intermedio a 15 atomi di carbonio il farnesil-pirofosfato. Due molecole di farnesil pirofosfato si uniscono in questo caso testa-coda, con l'eliminazione di entrambi i gruppi pirofosfato formando lo squalene.

Tappa 4 → conversione dello squalene nel nucleo steroideo a quattro anelli

Tutti gli steroli hanno quattro anelli fusi tra loro e tutti sono calcoli, con un gruppo ossidrilico sull'atomo di carbonio C-3 per questo motivo sono chiamati "steroli". La squalene monoossigenasi aggiunge un atomo di ossigeno prelevando dall'O₂ all'estremità della molecola di squalene formando un epossido. I doppi legami del prodotto di questa reazione, lo squalene 2,3-epossido e si trasforma da una struttura lineare ad una ciclica. Nelle cellule animali la ciclizzazione porta alla formazione del lanosterolo, che contiene i quattro anelli caratteristici del nucleo steroideo. Il lanosterolo è il precursore del colesterolo la cui sintesi richiede ulteriori 20 sintesi.

Nei vertebrati la maggior parte del colesterolo viene prodotto nel fegato. Una piccola quota viene incorporata nelle membrane degli epatociti, mentre la quota maggiore viene spostata sotto forma di tre forme possibili:

- Colesterolo biliare
- Acidi biliari
- Esteri del colesterolo questi si formano nel fegato mediante l'azione dell'acil-CoA-colesterolo aciltransferasi (ACAT). Questo enzima catalizza il trasferimento di un acido grasso dal coenzima A al gruppo ossidrilico del colesterolo, convertendolo in una forma ancora più idrofobica.

Le LDL che non sono usate dai tessuti extra-epatici ritornano al fegato e vengono internalizzate da recettori di membrana e qui sono usate per risintetizzare VLDL verso la via endogena.

Il fegato può ottenere colesterolo da due vie:

- la sua sintesi da acetyl-coA
- Dal circolo sanguigno attraverso un processo mediato dal recettore delle LDL

Il recettore delle LDL controlla l'omeostasi del colesterolo. Nel caso in cui il gene che codifica per questo recettore presenti delle mutazioni, l'internalizzazione delle LDL viene meno nel fegato e nei tessuti extraepatici. I soggetti sono affetti da ipercolesterolemia familiare e presentano un maggior rischio di occlusione delle arterie dalle placche di colesterolo. Questa patologia può essere anche determinata dall'assunzione nella dieta di un eccesso di colesterolo che reprime la sintesi del recettore e porta all'accumulo di LDL nei vasi sanguigni.

Nei mammiferi sono presenti anche le HDL e sono associate ad un enzima L-cut (lectina-colesterolo transferasi) che utilizza fosfatidilcolina per formare esteri del colesterolo per farli assorbire da cellule extraepatiche incluse le cellule schiumose che derivano dai macrofagi. Quindi le HDL tornano al fegato dove il colesterolo viene scaricato attraverso i recettori SR-B1. Il colesterolo così recuperato viene convertito in sali biliari nei perossisomi epatici.

Il trasporto inverso del colesterolo riduce le placche aterosclerotiche, queste si formano dalle LDL che a livello delle arterie si ossidano richiamando macrofagi, trasformando questi macrofagi in cellule schiumose che innescano un processo infiammatorio inserendo citochine. L'accumulo di LDL è limitato dall'assunzione da parte delle HDL del colesterolo derivato dai tessuti extra-epatici ed eventualmente dalle cellule schiumose ed in questo modo le HDL vanno a ridurre la formazione delle placche. L'uscita del colesterolo da queste cellule avviene grazie a dei trasportatori come la ABCA1 che interagiscono con l'apoA1 (proteina associata agli acidi grassi liberi), il complesso raccoglie il colesterolo cellulare e lo trasferisce all'interno delle strutture HDL mature ed indirizzate al fegato. Determinano quindi il così detto trasporto inverso.

Alterazioni dei geni che codificano per le proteine coinvolte nel processo inverso sono:

- Apo-A1
- LCAT
- ABC-1
- Unknown genetic A/E

e nella produzione di HDL determinano la deficienza familiare di HDL.

Valori normali nel sangue sono circa 200 milligrammi per decilitro di colesterolo totale, 130 di LDL e 50-40 di HDL. Mentre per i trigliceridi questi non devono superare i 150 milligrammi per decilitro di sangue.

L'omeostasi del colesterolo è controllato in vari modi:

- Attraverso la regolazione dell'HMG-coA reduttasi che controlla l'enzima ACAT che controlla l'esterificazione del colesterolo
- Velocità della sintesi del recettore della LDL
- Concentrazione di ATP a cui è associata l'aumento di AMP e l'attivazione della cascata chinasi della AMPK
- Sistemi di controllo a lungo termine che agiscono sia a livello trascrizionale che a livello della degradazione dell'HMG-coA reduttasi che si svolge attraverso l'ubiquitinazione e l'indirizzamento al proteasoma.

Controllo a lungo termine del colesterolo: avviene attraverso la modulazione della sintesi dell'enzima idrossimetil-glutaril-coA reduttasi questa è stimolata dal fattore di trascrizione colesterolo sensibile che è SREBP, in condizioni di abbondanza di colesterolo SREBP è presente nella membrana del reticolo endoplasmatico in una forma inattiva complessata con altre proteine (SCAP e insing). In uno stato di carenza di colesterolo il complesso si stacca da insing e passa nel Golgi dove SREBP viene attivato per proteolisi, viene liberata un'elicasi che ha la funzione di regolazione trascrizionale, emigra nel nucleo dove va ad attivare tutta una serie di enzimi che sono chiave nella sintesi del colesterolo, acidi grassi e lo stesso recettore delle LDL. L'HMG-coA reduttasi risulta anche modulata da ormoni del controllo glicemico quindi insulina e glucagone. Insulina indica un alto livello glucidico mette l'enzima nella sua forma più attiva, ovvero defosforila l'enzima

grazie ad una fosfatasi. Il glucagone invece indica uno spazio di bassa glicemia e comporta la fosforilazione di questi enzimi e quindi alla sua inattivazione.

L'HMG-coA reduttasi è anche un bersaglio farmacologico utilizzato quindi per lo sviluppo di farmaci per regolare il metabolismo del colesterolo come ad esempio le statine che deprimono la sintesi del colesterolo nel fegato inibendo l'HMG-coA reduttasi. Questi farmaci sono inibitori competitivi del mavalonato che possono avere nella loro sequenza carboniosa delle sequenze identiche a quelle del mavalonato oppure possono essere esteticamente simili ad esso.

Altri derivati importati del colesterolo sono gli ormoni steroidei, hanno una struttura a 4 anelli che se pur simili svolgono attività diverse.

Un derivato importante è un intermedio della sintesi del colesterolo, il isopentenil pirofosfato. Da questa molecola prendono origine una serie di molecole che vanno dalle vitamine alla gomma alla catena fitolitica della clorofilla e molecole chiamate isoprenoidi.