

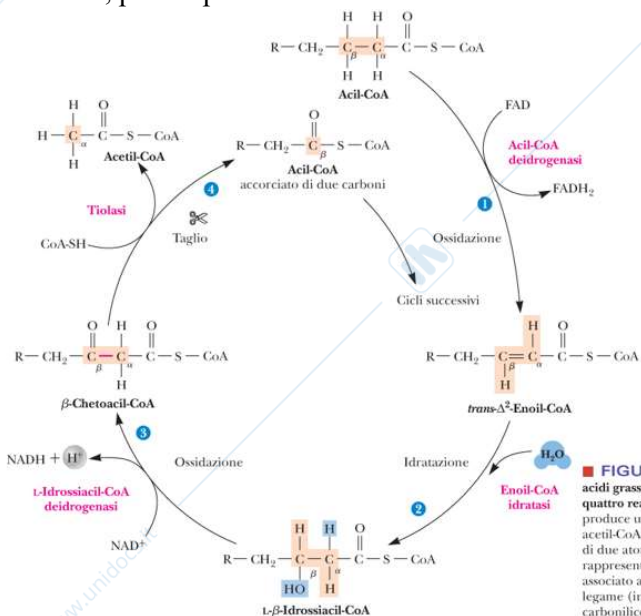
## 17. $\beta$ -OSSIDAZIONE DEGLI ACIDI GRASSI

L'ossidazione degli acidi grassi avviene a livello del mitocondrio come la produzione di acetilCoA e la sintesi dei corpi chetonici mentre la sintesi di acidi grassi avviene a livello plasmatico. La prima reazione nella  $\beta$  ossidazione è l'attivazione degli acidi grassi FAs ed è catalizzata da una famiglia di isozimi (specifici per FFA (free fatty acids) a catena corta, media e lunga) localizzati sulla membrana mitocondriale esterna: le acilCoA sintetasi.

$$\text{FFA} + \text{HSCoA} + \text{ATP} \rightarrow \text{Acil-SCoA} + \text{AMP} + \text{Ppi}$$

La reazione, citosolica, è fortemente esoergonica. L'ATP che entra nella reazione si lega per primo all'acido grasso, legame favorito dall'enzima, porta alla formazione di un intermedio che è un acido grasso adenilato. Il pirofosfato è idrolizzato a due molecole. Nella seconda parte della reazione il gruppo tiolico dell'acetilCoA attacca l'acido grasso adenilato a formare un'anidride mista, spiazzando l'AMP e formando il tioestere con l'acido grasso e l'acilCoA. Tutto questo porta a un  $\Delta G$  di -34, quindi reazione favorita e spostata verso i prodotti.

Entrata nei mitocondri: attivato l'acido grasso, nel mitocondrio abbiamo membrana esterna dove si trova una proteina detta carnitina aciltransferasi che viene caricata al posto del coA e questo permette il passaggio dell'acido grasso nello spazio intermembrana, dall'altra parte un secondo enzima, l'aciltransferasi II che recupera la carnitina e riattacca il coA, così l'acido grasso attivato viene riconosciuto dove c'è il citosol e riattivato, pronto per essere catabolizzato.



(←)IMPARA. Poiché ci troviamo nel mitocondrio, il FADH<sub>2</sub> liberato, può entrare subito nella catena di trasporto degli elettroni.

L'acilCoA deidrogenasi (membrana mitocondriale interna) è specifica a seconda della lunghezza della catena del FA (3 isoforme: LCAD, MCAD e SCAD). A seconda che l'acido grasso sia a lunga, corta o media catena, viene attaccato da un enzima piuttosto che da un altro. Il doppio legame che si forma è in TRANS!! Il FADH<sub>2</sub> trasferisce immediatamente i due elettroni ad un trasportatore della catena respiratoria mitocondriale: la "flavoproteina che trasferisce elettroni (ETF)" (1,5 ATP per coppia di elettroni).

L'enoil-CoA idratasi (analogia con la fumarasi nel ciclo dell'acido citrico): addizione di acqua ad un

doppio legame trans. Ricorda in natura sono in cis, così non possono essere attaccati dal prossimo enzima!!!! La  $\beta$ -idrossiacil-CoA deidrogenasi è specifica per l'isomero L. Il NADH cede elettroni alla NADH deidrogenasi della catena respiratoria (1NADH = 2,5 ATP).

Il  $\beta$  chetoacilCoA viene attaccato dall'acetilCoA trasferasi che è una tiolasi. Abbiamo già un coA, ma dovendo liberare una molecola di acetilCoA, abbiamo bisogno di 2 coA: uno va con l'acetilCoA e l'altro mantiene l'acido grasso sempre attivato perché è il gruppo tioestere a fornire energia al substrato per essere poi accorciato. Otteniamo un acido grasso accorciato di 2 atomi di C: dall'acido palmitico otteniamo l'acido miristico.

Le ultime 3 reazioni sono catalizzate, per i FA con più di 12 C, da un complesso multienzimatico localizzato sulla membrana mitocondriale interna: la proteina trifunzionale, TFP. È un eterooctamero ( $\alpha_4\beta_4$ ) ogni subunità  $\alpha$  ha attività enoil-idratasi e deidrogenasi, la subunità  $\beta$  ha attività tiolasi. Questo permette il trasferimento del substrato da un sito all'altro senza uscire mai dalla superficie dell'enzima. Sotto i 12 atomi di C, l'ossidazione avviene ad opera di altri enzimi, sempre presenti nella matrice mitocondriale. Quindi l'ossidazione di acidi grassi porta alla formazione di 8acetilCoA che nel ciclo di Krebs generano 16CO<sub>2</sub> e

64e-. in una situazione di digiuno o stress energetico compiremo  $\beta$  ox di acidi grassi. Dopo la  $\beta$ -ox, gli acetyl-CoA vengono ossidati a  $\text{CO}_2$  nel ciclo di Krebs e tutti gli elettroni sono trasferiti alla catena respiratoria. Durante questo processo, viene rilasciata una quota di energia sufficiente per la sintesi di ATP attraverso la fosforilazione ossidativa. Alla catena respiratoria vengono convogliati anche  $\text{FADH}_2$  e  $\text{NADH}$ , prodotti durante l'accorciamento della catena.

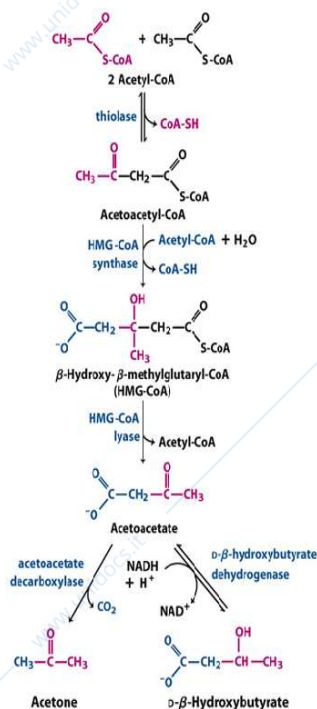
**Regolazione della  $\beta$  ossidazione:** se passo da uno stato di digiuno ad uno di nutrizione spengo lentamente la  $\beta$  ossidazione per passare ad un accumulo di acidi grassi. Nel fegato gli FA possono essere  $\beta$ -ossidati o convertiti in TG o PL. La scelta dipende dalla velocità di entrata nel mitocondrio: se lo shuttle è bloccato da alte [malonilCoA] (elevati livelli di glc), vengono immagazzinati. La diminuzione della [ATP] o l'aumento della [AMP] (esercizio fisico o digiuno) attivano l'AMP-K che fosforila, inattivandola, la carbossilasi che catalizza la formazione di malonilCoA. La carbossilasi-P diminuisce la sua attività e quindi la [malonilCoA]. Il blocco è quindi rimosso e l'FA entra nel mitocondrio dove non può che essere  $\beta$ ox. Quando il rapporto  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$  è elevato (buono stato energetico) la  $\beta$  idrossiacilCoA deidrogenasi viene inibita, mentre alti livelli di acetylCoA inibiscono la tiolasi.

**Cosa succede se la catena dell'acido grasso è dispari:** La parte finale della  $\beta$ ox prevede la carbossilazione del propionil-CoA prodotto dalla  $\beta$ ox, a D-metilmalonil-CoA, quindi la sua conversione in succinil-CoA. Questa conversione implica l'epimerizzazione del D- a L-metilmalonil-CoA, seguita da una peculiare reazione in cui c'è uno scambio di sostituenti tra i due carboni adiacenti. La metilmalonilCoA mutasi utilizza il coenzima  $\text{B}_{12}$  il cui ruolo in queste migrazioni intramolecolari è quello di fornire radicali liberi per l'estrazione di atomi di H. Tutto questo va ad alimentare il ciclo di Krebs.

Quando in un acido grasso sono presenti più insaturazioni, intervengono altri enzimi. Come esempio usiamo il linoleoil-CoA ( $\Delta^{9,12}$ ). Per l'ox è necessaria la enoil-CoA isomerasi, e un secondo enzima ausiliario NADPH-dipendente la 2,4-dienoil-CoA reductasi. L'azione combinata dei due enzimi converte un intermedio *trans*- $\Delta^2$ ,*cis*- $\Delta^4$ -dienoil-CoA a *trans*- $\Delta^2$ -enoil-CoA, substrato necessario per la  $\beta$ -ossidazione.

**$\beta$  ossidazione perossisomiale:** è un sistema di "accorciamento" dei LCFA fino a C8, successivamente trasferiti ai mitocondri. Se la carnitil cerca di far entrare acidi grassi a catena maggiore di 16 questi non entreranno ma verranno accorciati proprio con la  $\beta$  ossidazione perossisomiale. Gli enzimi sono indotti dai C20/C26 FA e da farmaci ipolipidizzanti. La differenza inizia nella prima tappa: la deidrogenasi passa gli e<sup>-</sup> all'ossigeno formando  $\text{H}_2\text{O}_2$  che viene immediatamente neutralizzata dalla catalasi. Non si forma quindi ATP, ma l'energia è dissipata come calore. Gliossisoma se parliamo delle piante. Il NADH che si forma nel secondo step di ossidazione non può essere riossidato nei perossisomi, così gli equivalenti riducenti sono esportati nel citosol ed, eventualmente, nel mitocondrio. L'acetyl-CoA prodotto dai perossisomi viene esportato per formare precursori biosintetici, mentre quello mitocondriale è ossidato nel ciclo di Krebs.

La **sindrome di Zellweger** è una patologia autosomica recessiva causata dalla mutazione nei geni che codificano per le peroxine, proteine richieste per il normale assemblaggio dei perossisomi. I soggetti accumulano nei tessuti e nelle cellule acidi grassi a lunghissima catena (VLCFA) e ramificati, altrimenti degradati nei perossisomi. I danni, che colpiscono soprattutto a livello del SNC e SNP, non permettono una sopravvivenza oltre il 1 anno di età. L'Adrenoleucodistrofia (XALD) è la malattia perossisomiale più frequente nella popolazione mondiale con differenza di incidenza e prevalenza. È una malattia ereditaria legata al cromosoma X caratterizzata da una progressiva demielinizzazione cerebrale e atrofia delle ghiandole surrenali: il difetto biochimico provoca un indebolimento della capacità di degradare gli acidi grassi a catena molto lunga (VLCFA) che risultano aumentati nel plasma e accumulati nei tessuti, danneggiando la mielina con un effetto tossico diretto.



**Chetogenesi:** avviene a livello mitocondriale, prevalentemente a livello del tessuto epatico. Vengono prodotti: acetoni, acetoacetato o β idrossibutirrato. Può avvenire al mattino appena svegli perché il pH acido all'interno della bocca è dato dai corpi chetonici. In particolari condizioni, l'acetilCoA può essere trasformato in corpi chetonici che vengono esportati per essere ossidati nel ciclo di Krebs per le necessità energetiche di alcuni tessuti. La produzione di corpi chetonici consente di continuare ad ossidare FA nel fegato anche quando l'ossidazione dell'acetil-CoA è minima (es. gluconeogenesi per un digiuno prolungato o diabete non trattato). [vd piruvato deidrogenasi] La formazione dei CK avviene nella matrice dei mitocondri epatici. Soggetti sani e ben nutriti producono pochi CK. Ma quando si accumula acetil-CoA (es. diabete non trattato o digiuno prolungato), la tiolasi catalizza la condensazione di 2 molecole di acetil-CoA ad acetoacetyl-CoA, il progenitore dei CK. Il β-idrossi-β-metilglutaril-CoA (6C, HMG-CoA) è anche un intermedio della sintesi di colesterolo, ma l'enzima che lo forma per quello scopo è citosolico. La HMG-CoA liasi è presente solo nella matrice mitocondriale e produce aceto acetato che poi origina l'acetone o il β-idrossibutirrato. Il β idrossibutirrato, sintetizzato nel fegato, passa nel plasma e agli altri tessuti dove è convertito ad acetilCoA. È prima ossidato ad acetoacetato attivato con il coA donato dal succinilCoA, poi rotto dalla tiolasi. L'acetilCoA formato è usato per la

produzione di energia. I CK sono le principali fonti energetiche durante il digiuno, finiscono al cervello e al muscolo scheletrico, verranno utilizzati nel ciclo di Krebs dell'organo d'interesse. È sempre il fegato l'organo risparmiatore mentre muscolo e cervello sono avidi.

**Chetoacidosi e chetosi:** nel diabete, la carenza di insulina non permette un corretto apporto di glucosio alla cellula, quindi non si forma malonilCoA e la carnitina aciltransferasi I non viene inibita. Gli FA entrano nel mitocondrio, vengono ossidati, ma l'acetil-CoA non può essere utilizzato dal ciclo del citrico (gli intermedi sono stati sottratti per la gluconeogenesi). Allo stesso tempo, si assiste per assurdo ad un'esaltata secrezione di ormoni controinsulari (glucagone, catecolamine, cortisolo e GH), che stimolano la sintesi di glucosio (gluconeogenesi e glicogenolisi); lo zucchero di nuova formazione viene quindi riversato in circolo dove, non potendo entrare nelle cellule per assenza di insulina, aggrava la condizione iperglicemica. I CK vengono quindi prodotti in quantità tali da non poter essere utilizzati dai tessuti, quindi rimangono nel sangue e ne abbassano il pH = acidosi = coma, morte. Attenzione alle diete particolarmente povere!!!!

Una situazione simile, ma molto meno grave (si parla semplicemente di chetosi e non di chetoacidosi), si verifica nelle persone che seguono una dieta particolarmente povera di carboidrati o rimaste a digiuno per lungo tempo. Durante il digiuno, la gluconeogenesi sottrae intermedi al ciclo dell'acido citrico, indirizzando l'acetilCoA verso la sintesi di CK. Concentrazioni urinarie di 5 gr/24h (v.n. 125 mg/24h) e plasmatiche di 90 mg/ml (v.n. 0.03 mg/ml) indicano la condizione di chetosi.

### 18. SINTESI DEI LIPIDI

Avviene nel reticolo endoplasmatico, in condizioni di nutrizione. La biosintesi degli FA avviene in una sequenza di 4 reazioni ripetute che, ad ogni passaggio, allungano la catena acilica nascente di 2 atomi di carbonio: condensazione, riduzione, deidratazione, riduzione. Entrambe le due riduzioni usano NADPH proveniente dalla via del pentoso fosfato. Le reazioni sono catalizzate da un complesso multienzimatico chiamato acido grasso sintasi.

L'acido grasso sintasi è costituita da diverse porzioni:

- **ACP:** Acil Carrier Protein. Trasporta acili uniti con legame tioestereo.
- **AT:** acetilCoA-ACP transacetilasi. Trasferisce i gruppi acilici dal CoA al residuo cys della KS
- **KS:** β-Ketoacil-ACP sintasi. Condensa I gruppi acilici e malonilici (almeno 3 isozimi).
- **MAT:** malonilCoA-ACP transferasi. Trasferisce gruppi malonilici dal CoA all'ACP

- **KR:**  $\beta$ -Ketoacil reduttasi. Riduce i  $\beta$ chetoacidi a  $\beta$ idrossiacidi
- **HD:**  $\beta$ -idrossiacil-ACP deidratasi. Rimuove  $H_2O$  dal  $\beta$ idrossiacil-ACP, formando un doppio legame
- **ER:** Enoil-ACP reduttasi. Riduce il doppio legame, formando un acil-ACP saturo

Struttura dell'ACP: ha una catena laterale a cui è attaccata la serina, abbiamo l'acido pantotenico e il gruppo fosfato che danno la fosfo pantoteina. Struttura non molto diversa da quella di un acido grasso. MalonilCoA e acetilCoA carbossilasi: il meccanismo è simile ad altre reazioni di carbossilazione biotina-dipendenti (es. piruvato e propionilCoA carbossilasi). L'enzima (rate limiting step) ha 3 regioni funzionali: la proteina che trasporta la biotina; la biotina carbossilasi (attiva la  $CO_2$  legandola all'N della biotina con consumo di ATP); la transcarbossilasi: trasferisce la  $CO_2$  attivata dalla biotina all'acetilCoA per formare il malonilCoA, il lungo braccio flessibile della BCP trasporta la  $CO_2$  attivata dalla biotina carbox al sito attivo della transcarbossilasi.

**1. La condensazione:** coinvolge  $\beta$ Ketoacil-ACP sintasi (KS) e  $\beta$ -Ketoacil reduttasi (KR). La prima reazione è una condensazione di Claisen che coinvolge gruppi acetilici e malonilici. Ma perché il malonile? La condensazione è una reazione fortemente endoergonica, ma viene resa termodinamicamente favorevole dalla decarbossilazione del maloniCoA (ricorda la carbox/decarbox per la formazione di PEP da piruvato!).

**2. La riduzione del gruppo carbonilico:** coinvolge  $\beta$ -Ketoacil-ACP reduttasi (KR); donatore di elettroni: NADPH. Riduzione del gruppo carbonilico in C3. Il prodotto che si forma D- $\beta$ -idrossibutirrile ha una forma stereoisomerica diversa del butirrile che si forma nell'ossidazione dei FA (L- $\beta$ ).

**3. Deidratazione:** Enzimi coinvolti:  $\beta$ -idrossiacil-ACP deidratasi (DH).

**4. Riduzione del doppio legame:** Enzimi coinvolti: enoil-ACP reduttasi (ER), donatore di equivalenti riducenti: NADPH proveniente dalla via dei pentoso fosfati o dall'enzima malico.

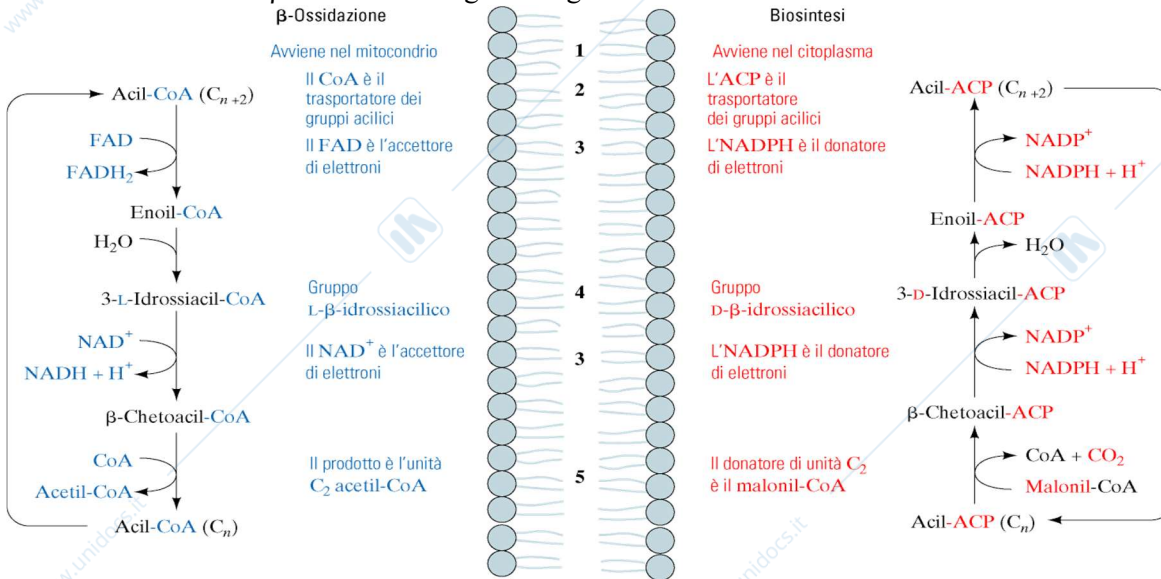
Il ciclo si ripete fino alla formazione del palmitato. Il butirrile viene traslocato sulla  $\beta$ -Ketoacil-ACP sintasi, legato al gruppo Cys —SH. La KR è pronta ad accettare un nuovo malonilSCoA e a ricominciare il ciclo di reazioni, fino ad arrivare alla formazione di palmitato.

2° ciclo delle reazioni del complesso della sintesi dei lipidi: Il malonilCoA entrante si posiziona sulla fosfopanteteina-SH.

Nello step di condensazione, il butirrile viene scambiato con il gruppo carbossilico che viene perso come  $CO_2$  (in verde). Questo step è simile allo step 1. Il prodotto, un gruppo  $\beta$ -ketoacilico a 6 C, contiene 4C del malonil-CoA e due derivati dall'acetil-CoA iniziale. Il  $\beta$ -ketoacile subisce le reazioni prima descritte dalla 2 alla 4. Per ragioni non ancora note, la catena si allunga fino a C16, poi il palmitato viene staccato dal ACP per l'attività idrolitica del complesso enzimatico.

Quindi la sintesi degli acidi grassi è divisa in sintesi del malonilCoA e sintesi del palmitato. La reazione complessiva è:  $8 \text{ acetyl CoA} + 7 \text{ ATP} + 14 \text{ NADPH} + 14 \text{ H}^+ \rightarrow \text{palmitate} + 14 \text{ NADP} + 8 \text{ CoA} + 6 \text{ H}_2\text{O} + 7 \text{ ADP} + 7 \text{ Pi}$

Ma da dove arriva tutto l'acetil-CoA per la sintesi degli acidi grassi? Negli eucarioti non fotosintetici l'acetil-CoA necessario viene prodotto nel mitocondrio da: ossidazione del piruvato; catabolismo dello scheletro carbonioso degli AA. NON DAL CATABOLISMO DEGLI FA altrimenti avremmo un ciclo futile. Ma la membrana mitocondriale NON è permeabile all'acetilCoA che esce con un sistema navetta. L'acetilCoA esce perché viene trasformato a citrato. L'acetilCoA viene coniugato all'ossalacetato per formare citrato tramite la citrato sintasi. Il citrato può uscire nel citosol grazie al trasportatore del citrato. Nel citosol il citrato viene riconvertito in ossalacetato che tramite la malatodh viene convertito in malato che rientra con il trasportatore malato  $\alpha$ chetoglutarato o viene associato all'enzima malico che produce piruvato ma anche NADPH che può essere usato per la sintesi dei lipidi. Il NADPH supera quello della via dei pentoso fosfati quando il carico di glucosio è molto elevato e questo viene trasformato in lipidi. Ma in generale con l'enzima malico si produce circa la metà del NADPH richiesto per la sintesi degli FA. Il resto lo fornisce lo shunt dei pentoso fosfati. Quindi la sintesi degli acidi grassi comporta la cooperazione di diverse vie metaboliche localizzate in vari distretti cellulari.

Confronti tra sintesi e  $\beta$  ossidazione degli acidi grassi:

**Regolazione del metabolismo degli acidi grassi:** il primo enzima è l'acetilcoA carbossilasi ma è anche l'enzima chiave e il suo stato è regolato dalla proteina chinasi AMP attivata che è un sensore dei livelli di AMP, quindi, è attiva quando aumentano i livelli di AMP e in questo caso va a fosforilare l'acetilcoA carbossilasi rendendola inattiva bloccando la sintesi degli acidi grassi. I livelli di AMP saranno elevati in uno stato di digiuno. Quando l'acetilcoA deve essere attivata viene defosforilata da una proteina fosfatasi 2 A regolata dall'insulina. È una regolazione: allosterica, inibizione da prodotto (palmitato) e per modificazione covalente. La forma defosforilata è attiva anche in assenza di citrato.

La sintesi degli acidi grassi è regolata anche dall'acetilcoA. La produzione di malonil-CoA è regolata mediante modificazione covalente ormone-dipendente (fosforilazione/defosforilazione) o allostericamente (citrato). La forma attiva è defosforilata e polimerizza in lunghi filamenti. La fosforilazione porta a dissociazione dei filamenti e perdita dell'attività catalitica. Il citrato promuove la glicolisi ed inibisce l'attività della PFK1 (riduce il flusso glicolitico). Quindi:

**Segnali positivi:** citrato che attiva allostericamente l'acetilcoA carbossilasi; l'insulina che attiva la proteinfosfatasi 2 A che defosforila l'acetilcoA carbossilasi. Incrementa anche l'ingresso di glucosio negli adipociti e la sua conversione a glicerolo3P per esterificazione degli acidi grassi.

**Segnali negativi:** l'AMP attiva la protein chinasi che fosforila l'acetilcoA carbossilasi; il glucagone e l'epinefrina attivano la PKA che fosforila la protein fosfatasi 2 A rendendola inattiva; il palmitoilcoA antagonizza l'effetto del citrato. Regola anche il trasporto di citrato dal mitocondrio al citoplasma e glucosio 6Pdh.

Gli acidi grassi a lunga catena sono sintetizzati dal palmitato, ma linoleato e  $\alpha$ -linoleato sono FA essenziali, (ricavati dalla dieta). Il processo è catalizzato dal "sistema di allungamento degli FA" ed avviene nel mitocondrio, ma soprattutto nel REL. Sono coinvolti enzimi differenti e il trasportatore di acili è il CoA, ma il meccanismo di allungamento è lo stesso della sintesi.

L'insaturazione degli FA richiede una ossidasi a funzione mista: l'acil-CoA desaturasi. Da acido grasso saturo, grazie ad un acido grasso desaturasi introduciamo un doppio legame. I due substrati perdono elettroni che fluiscono in una via costituita da un citocromo (Citb<sub>5</sub>) ed una flavoproteina (Citb<sub>5</sub> riduttasi) nel REL. Le reazioni avvengono sulla porzione interna della membrana del reticolo endoplasmico liscio. L'arachidonato che arriva da diacil o triacilgliceroli o dai fosfolipidi, è il principale precursore di prostanoidei ed eicosanoidi, ormoni autacoidi. Ma dall'arachidonato possiamo sintetizzare anche prostaglandine come prostaciline e trombossani.

Gli acidi grassi vengono incorporati nei fosfolipidi di membrana o nei trigliceridi. Il primo step è la disponibilità di 1-glicerolo 3P che può essere ottenuto dalle due vie come mostrato. Il glicerolo3P deriva dal DHAP o dal glicerolo stesso convertito tramite la glicerolo chinasi.

**Gliceroneogenesi:** il piruvato viene convertito ad ossalacetato e poi a PEP, a DHAP e poi a glicerolo. La PEP carbossichinasi regola la via in quanto limita sia la velocità della gluconeogenesi che della gliceroneogenesi. La gliceroneogenesi avviene prevalentemente a livello del tessuto adiposo dove la PEP carbossichinasi non è coinvolta nella sintesi degli acidi grassi ma in quella di glicerolo3P. L'FA attivato come CoA viene trasferito sul glicerolo con un legame estereo. L'acido fosfatidico prodotto è mostrato con la corretta stereochimica.

L'acido fosfatidico è il precursore sia dei TG che dei PL. La sintesi dei PL avviene nel REL e nella membrana mitocondriale interna. Di solito il FA in posizione 1 è saturo mentre quello in posizione 2 è insaturo. Per l'attacco della base, il PL deve prima essere attivato con il legame alla citidina diP (CDP), la CMP viene poi rilasciata in seguito all'attacco nucleofilo del gruppo OH sulla testa della base (I strategia) o sul C3 del DAG (II strategia). Le cellule eucariotiche le utilizzano entrambe.

**Regolazione della sintesi dei TG:** Insulina stimola la conversione dei carboidrati e proteine della dieta in lipidi. Individui con diabete mellito presentano bassi livelli di insulina; se non viene tenuto sotto controllo, l'acetilCoA, aumentato per alterato catabolismo di proteine e carboidrati, è dirottato verso la sintesi di CK. Soggetti con una severa chetosi odorano di acetone e questo viene scambiato per ubriachezza! Nei mammiferi, i trigliceridi vengono degradati nel digiuno o nel ciclo dei triacilgliceroli. Alcuni degli FA rilasciati dalla lipolisi dei triacilgliceroli nel tessuto adiposo passano nel circolo sanguigno e i rimanenti sono usati per la sintesi dei triacilgliceroli. Alcune degli acidi grassi rilasciati nel circolo sanguigno sono usati per dare energia (muscoli) ed altri sono presi dal fegato e usati nella sintesi dei triacilgliceroli. I triacilgliceroli formati nel fegato sono trasportati dal sangue al tessuto adiposo dove gli acidi grassi sono rilasciati da una lipoprotein lipasi extracellulare, presi dagli adipociti e rilasciati sotto forma di triacilgliceroli.

Gli ormoni glucocorticoidi stimolano la gliceroneogenesi e la gluconeogenesi nel fegato mentre sopprimono la gliceroneogenesi nel tessuto adiposo (tramite regolazione reciproca del gene che esprime la PEP carbossichinasi nei due tessuti). Questo incrementa il flusso attraverso il ciclo dei triacilgliceroli. Il glicerolo liberato dalla rottura dei triacilgliceroli nel tessuto adiposo è rilasciato al sangue e trasportato al fegato dove è principalmente convertito a glucosio anche se una parte è convertito a glicerolo 3P dalla glicerolo chinasi. Una classe di droghe chiamate tiazolinedione sono oggi usate per trattare il diabete di tipo 2. In questa patologia, elevati livelli di acidi grassi nel sangue interferiscono con l'utilizzo di glucosio nel muscolo e promuovono insulino resistenza. Le tiazolinedione vengono attivate da un recettore nucleare chiamato peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$  che induce l'attività della PEP carbossichinasi. Terapeuticamente, le tiazolinedione promuovono un incremento della gliceroneogenesi, incrementando la risintesi dei triacilgliceroli nel tessuto adiposo e riducendo la quantità di acidi grassi liberi nel sangue.

### **19. BIOSINTESI DEL COLESTEROLO**

Viene anche chiamato via del mevalonato perché si forma questo intermedio che poi da origine ad altri intermedi utili anche per altre vie metaboliche. Si tratta di una via anabolica quindi avverrà prevalentemente in condizioni di nutrizione, quando lo stato energetico della cellula è buono. La struttura degli steroli è quella dell'anello ciclopentanoperidrofenantrene data da quattro anelli, il colesterolo ha poi una catena laterale che lo porta ad avere una struttura a 27 atomi di carbonio e un'idrossilazione in posizione 3.

Il colesterolo viene scoperto nel 1964 da Konrad Bloch che riceve il premio Nobel per la medicina e fisiologia.

L'acetilCoA è il precursore del colesterolo, i vari metabolismi possono portare alla formazione di citrato a livello del ciclo di Krebs che può uscire dal mitocondrio ed essere convertito in acetilCoA e ossalacetato. Essendo sia la sintesi degli FA che quella del colesterolo, vie anaboliche, l'acetilCoA viene usato come punto di partenza per la sintesi mentre l'ossalacetato viene convertito in malato catturato dall'enzima malico che

produce NADPH che è la quota principalmente prodotta. C'è anche la quota proveniente dallo shunt dei pentoso fosfati ma una buona parte proviene da qui.

1. AcetilcoA da acetoacetilcoA (già vista per i corpi chetonici, troveremo passaggi simili ma la differenza è la compartimentalizzazione perché la sintesi del colesterolo avviene nel citoplasma mentre quella dei corpi chetonici avviene nel mitocondrio), l'enzima è l'acetoacetilcoA tiolasi citosolica.
2. l'HMG coA sintetasi citosolica (isofroma1) prende l'acetoacetilcoA e forma un βidrossimetilglutarilcoA o HMGcoA. Durante questa reazione di forma un intermedio detto enzimaSactil
3. reazione limitante di tutta la via di sintesi. L'HMG coA reductasi usando due molecole di NADPH produce il mevalonato. L'intervento del NADPH indica che questa via è una via anabolica. L'enzima HMGcoA reductasi viene inibito dalle statine (farmaci ipocolesterolemizzanti). Anche alti livelli di mevalonato vanno ad inibire l'azione dell'enzima stesso che lo produce.
4. Mevalonato trasformato in isopentenil pirofosfato dalla mevalonato chinasi tramite una fosforilazione.
5. La fosfomevalonato chinasi aggiunge un P in posizione 1 e produce mevalonato pirofosfato
6. Decarbossilazione ad opera della pirofosfomevalonato decarbossilasi a isopentenilpirofosfato
7. Isomerizzazione dall'isomerasi a dimetilallilpirofosfato
8. Il dimetilallilpirofosfato coniugato al suo isomero ovvero l'isopentenilpirofosfato portano alla formazione di geranilpirofosfato tramite la farnesilpirofosfato transferasi. Prodotti trans
9. Se entra un altro isopentenilpirofosfato si forma il farnesil pirofosfato. Anche questa reazione è catalizzata dalla farnesilpirofosfato sintetasi. In queste ultime due reazioni non abbiamo fatto altro che aggiungere due unità isopreniche in modo tale da formare una molecola sempre più lunga.

Il farnesilpirofosfato è uno dei branching point: può portare alla formazione del colesterolo o essere utilizzato per geranilgeranilare alcune proteine o farnesilarle alcune proteine... Farnesilazione: il farnesilpirofosfato viene attaccato direttamente ad una proteina ed essendo questo composto idrosolubile permette alla proteina di attaccarsi per esempio alla membrana. La geranilgeranilazione è uguale solo che abbiamo il geranilpirofosfato al posto del farnesil.

Prenilazione delle proteine: è un tipo di modificazione lipidica che implica il legame covalente di isoprenoidi a 15 atomi di carbonio (farnesile) o 20 atomi di carbonio (geranilgeraniolo) a proteine, in corrispondenza di residui conservati di cys all'estremità C-terminale. Proteine che vanno incontro a questa modificazione sono: laminine nucleari, proteine Ras, GTP-binding proteins (small G proteins), subunità di proteine G trimeriche (big G proteins), protein kinasi, ..... Nella maggior parte dei casi la prenilazione promuove le interazioni con la membrana; inoltre, la prenilazione ha effetti sulle diverse interazioni proteina-proteina.

**FTase (protein farnesyl transferase)**  
 farnesyl group to CaaX proteins (X = ser, met, ala)  
 proteolysis + carboxy methylation

**GGTase-I (protein geranylgeranyl transferase)**  
 geranylgeranyl group to CaaX proteins (X = leu)  
 proteolysis + carboxy methylation

**GGTase-II (protein geranylgeranyl transferase)**  
 geranylgeranyl group to CC: no methylation  
 CxC proteins (X = leu): carboxy methylation

IMPARA

La biosintesi del colesterolo è prevalentemente citosolica ma gli enzimi coinvolti si possono trovare in diverse parti della cellula. In particolare l'ultima parte di tale sintesi avviene nel Golgi dove abbiamo l'esterificazione del dolicolo e la sintesi dell'ubichinone.

10. 2 molecole di farnesilpirofosfato danno una molecola a 30 atomi di C, reazione catalizzata dalla squalene sintasi con l'intervento del NADPH.

11. La squalene epossidasi forma squalene 2,3 epossido da squalene e poi da squalene epossido otteniamo il precursore del colesterolo, il lanosterolo tramite ossido squalene ciclasi. Dal lanosterolo abbiamo altre 19 tappe che coinvolgono un'ossidazione e la perdita di tre gruppi metilici che portano alla formazione di colesterolo.

**Regolazione della sintesi del colesterolo:** riguarda principalmente l'HMG coA reduttasi. La regolazione può avvenire tramite modificazioni covalenti come fosforilazioni (a carico del glucagone) che inattiva l'HMG e la defosforilazione (a carico dell'insulina) l'attiva. Queste fosforilazioni avvengono a livello dei residui di serina ad opera di diverse chinasi e fosfatasi. La pp2 defosforila l'HMG mentre sarà la pKa a fosforilare. Il mevalonato può inibire la sintesi del colesterolo se viene prodotto in grande quantità spegne l'HMG, altri prodotti che possono spegnere questa sintesi sono farmaci come le statine (prodotti del metabolismo dei funghi). Un altro tipo di regolazione è il turnover della proteina mediata a livello trascrizionale. Infine la degradazione mediata da derivato sia sterolico che non sterolico del mevalonato: se abbiamo troppi prodotti di ossidazione degli steroli questi inibiscono la sintesi dell'HMG reduttasi.

Come avviene in particolare quest'ultimo meccanismo di regolazione: dei fattori di trascrizione detti sterol response element binding protein (SREBP) sono di solito presenti nel reticolo endoplasmatico. Il complesso SREBP/SCAP viene trattenuto nel reticolo endoplasmatico. In risposta agli stimoli (steroli, insulina, etc.) il complesso SREBP-SCAP si stacca da Insig. Il distacco del complesso SREBP-SCAP da Insig permette la migrazione nel Golgi e l'attacco della proteasi S1P. A questo punto interviene la proteasi S2P che libera la porzione trascrizionalmente attiva di SREBP. SREBP attivo migra nel nucleo per regolare l'espressione dei geni bersaglio. A seconda del tipo di SREBP si lega sullo specifico promotore stimolando la trascrizione di uno specifico gene ovviamente dipende dagli elementi del promotore, le SREBP si legano a promotori con enhancer; uno dei promotori a cui si legano è l'LDLreceptor.

**Funzioni biologiche del colesterolo:** precursore di ormoni steroidei, vitamina D<sub>3</sub> e acidi biliari; componente delle membrane cellulari; ruolo nella formazione e nella funzione delle caveole; modificazione covalente di proteine segnale embrionali (ad es. Sonic Hedgehog, SHh). Per eliminare colesterolo dobbiamo eliminare acidi biliari. Le proteine hedgehog (Hh) appartengono ad una famiglia di molecole di secrezione, essenziali nelle fasi di sviluppo durante l'embriogenesi. Durante la biosintesi Hh va incontro ad una reazione di autoproteolisi, mediata dal proprio dominio C-terminale, che produce un frammento modificato in modo lipofilo, all'estremità N-terminale, responsabile dell'attività segnale. Il colesterolo è la molecola lipofila che viene legata in modo covalente al dominio N-terminale durante l'autoprocessamento di queste proteine Hh ed il dominio C-terminale delle stesse agisce da colesterolo transferasi intramolecolare. Il fatto che il colesterolo modifichi proteine segnale embrionali può spiegare come mai alterazioni della biosintesi del colesterolo abbiano effetto sullo sviluppo.

**Eliminazione del colesterolo:** l'unico modo per eliminare il colesterolo è convertirlo in acidi biliari che vengono prodotti a partire dal colesterolo delle LDL nel fegato. Gli acidi biliari vengono accumulati nella cistifellea e grazie alla colecistochinina vengono secreti perché vengono mandati tramite coledoco all'intestino e a livello dell'ileo terminale circa il 90% degli acidi biliari torna al fegato dove inibiscono la sintesi degli acidi biliari tramite la colesterolo 7 $\alpha$  idrossilasi. Il 5% degli acidi biliari viene eliminato con le feci. La colesterolo 7 $\alpha$ -idrossilasi catalizza la reazione limitante nella biosintesi degli acidi biliari. Si trova nel reticolo endoplasmico dell'epatocita. Gli acidi biliari si distinguono in primari (acido taurochenodesossicolico e taurocolico) e secondari (acido litocolico e acido desossicolico). I secondari vengono prodotti solo quando questi sono riversati nell'intestino perché lì sono presenti degli enzimi che ne permettono la conversione.

Vitamina D<sub>3</sub>: si produce a partire dal colesterolo. il 7idrocolesterolo tramite esposizione a radiazioni uv (sole) porta alla formazione di colecalciferolo (vitamina D<sub>3</sub>). Oggi si dà ai neonati soprattutto quelli nati in inverno. Ormoni steroidei: sono tutti prodotti del colesterolo e sono testosterone, progesterone, estradiolo e cortisone.

