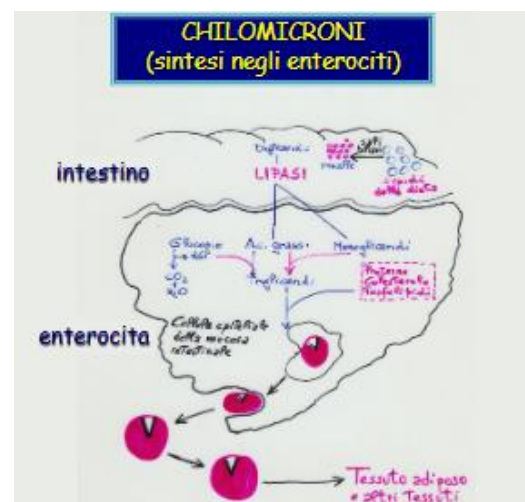
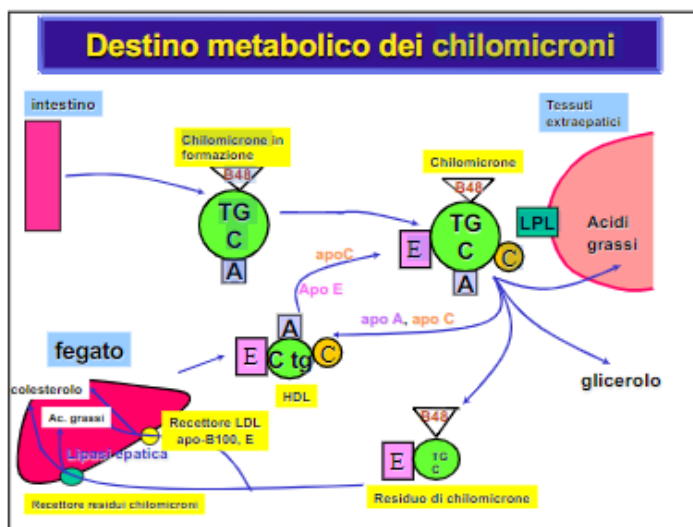


## LEZIONE N° 13 (sbobinatori: Gianbattista Spadafora, Alessia Mannarino)

### METABOLISMO LIPOPROTEINE:

I Chilomicroni: informazioni fondamentali.

I chilomicroni sono le lipoproteine che si formano durante i pasti. Questi associandosi ad alcune apolipoproteine vengono poi secreti nel sistema linfatico, passano nel torrente circolatorio e distribuiscono il loro carico (principalmente trigliceridi) ai muscoli, al tessuto adiposo, al fegato e agli organi periferici.



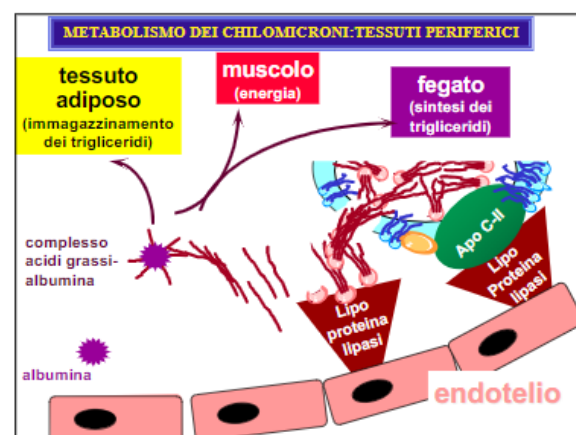
#### Destino metabolico dei chilomicroni:

Vengono sintetizzati a partire dall'intestino e riversati per prima cosa nel linfatico, si caricano di trigliceridi e colesterolo che viene in parte esterificato. Presentano varie apolipoproteine come la **Apo-B48**, che ha una funzione strutturale e di recupero per i residui che ritornano al fegato, e la **Apo-A1** che serve

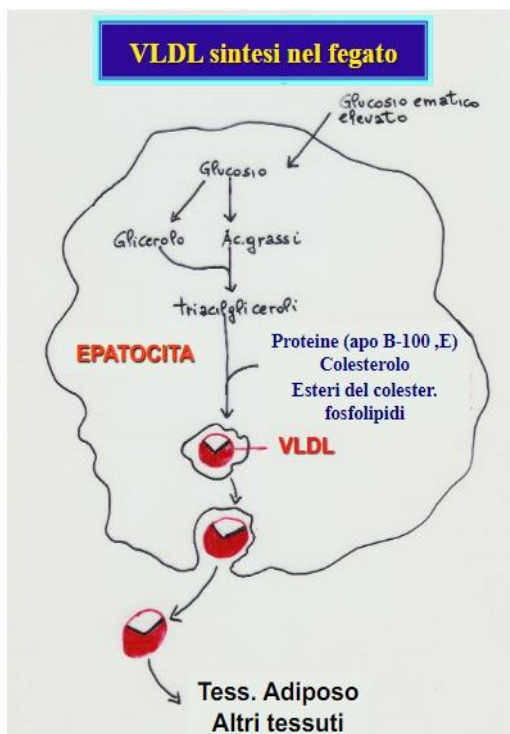
per l'esterificazione del colesterolo. Tutte le lipoproteine nascono con una serie di apolipoproteine legate ma ne acquisiscono altre (ad esempio **Apo-C** e **Apo-E**) prendendole dalle **HDL** in circolo; sotto questa forma arrivano ai tessuti extraepatici che si caricano di trigliceridi degradandoli in acidi grassi e glicerolo, cedono nuovamente Apo-A e Apo-C alle HDL, e ciò che resta si chiama **residuo dei chilomicroni** e presenta sulla superficie solo l'Apo-B48 e l'Apo-E. Questo rifiuto può essere ri-captato dal fegato o perché si lega all'Apo-E attraverso un **recettore per LDL** che riconosce anche la **Apo-B100**, oppure tramite una **lipasi A** che è diversa dalle lipasi degli altri tessuti: serve sostanzialmente per la ricaptazione dei chilomicroni ed ha una bassa attività lipasica "classica".

#### Il ruolo delle lipasi:

Per avere attività lipasica è necessaria l'interazione tra la **lipoproteina-lipasi** e la **Apo-C2** (una molecola attivatrice). I trigliceridi che vengono ridotti in acidi grassi liberi e glicerolo servono poi ai muscoli per produrre energia e in parte vengono immagazzinati nel tessuto adiposo. La componente di acidi grassi che rimane nel fegato serve per formare altre proteine come le **LDL**. Le lipoproteine lipasi reagiscono in base allo **stato nutrizionale**. Esistono infatti lipasi che rispondono all'**insulina** e altre che rispondono al glucagone. Dopo i pasti, con l'**insulina**, determinano il deposito dei trigliceridi al livello del tessuto adiposo e della ghiandola mammaria (specialmente nelle donne in allattamento). A digiuno, con il **glucagone**, le lipoproteine lipasi reagiscono alla necessità di degradare i trigliceridi per estrarre energia. La LPL, quindi, svolge il ruolo di una **porta metabolica**. Una deficienza di una lipoproteina lipasi porta a **chilomicronemia** cioè una diminuzione della degradazione di chilomicroni con accumulo massivo di trigliceridi nel plasma, specie con diete ricche di grassi. Questo tipo di deficienza è letale in topi knockout. Nel muscolo scheletrico una sovra-espressione della LPL porta ad una s e ad un aumento di acidi grassi muscolari avendo un'azione protettiva.



In sintesi: i chilomicroni si formano nell'intestino tenue, vengono versati nel sangue grazie al quale trasportano i lipidi della dieta ai tessuti e sono principalmente formati da trigliceridi. I trigliceridi vengono rilasciati per essere immagazzinati o per estrarre energia nei tessuti periferici. Le rimanenze di chilomicroni, povere di trigliceridi, vengono ri-captate poi nel fegato.



#### Le VLDL:

Trasportano, come i chilomicroni, un contenuto di trigliceridi più elevato rispetto a quello degli altri lipidi. Le VLDL vengono **sintetizzate** a livello del **fegato** principalmente a partire da **diete ricche di glucosio** perché il glucosio permette sintesi di Acetil-CoA. L'eccesso di acetil-CoA, che è substrato del ciclo di Krebs e della sintesi degli acidi Grassi, in condizioni di surplus glucidico è deviato verso la formazione di acidi grassi e di conseguenza VLDL. Sono formate quindi principalmente per eccesso di carboidrati, secondariamente per eccesso di acidi grassi liberi.

#### Destino metabolico delle VLDL:

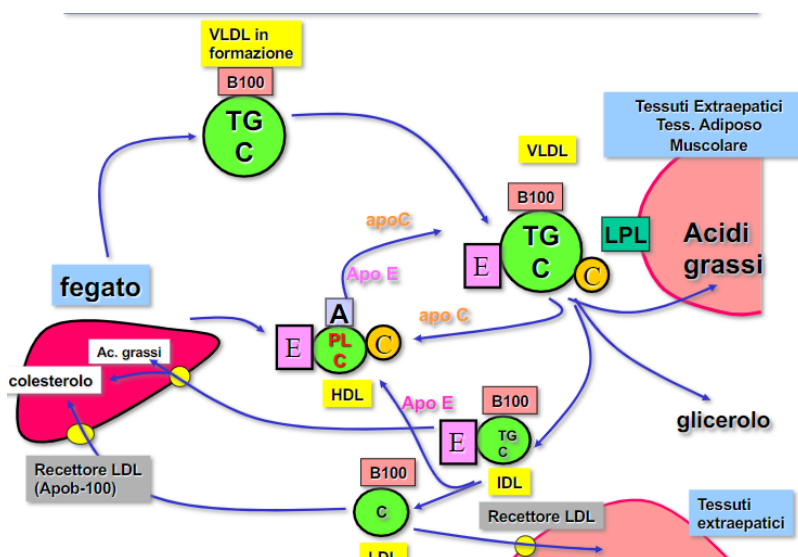
Appena sintetizzate dal fegato vengono definite VLDL in formazione, presentano come apolipoproteina **l'Apo-B100**. Così come abbiamo visto con i chilomicroni acquisiscono in seguito le Apo-E e le Apo-C dalle HDL in circolo così da poter interagire con i tessuti periferici; l'Apo-C2, ad esempio, attiva la lipasi per degradare i trigliceridi in acidi grassi e glicerolo ed

in seguito viene trasferita di nuovo all'HDL.

Una volta cedute le Apo-C le VLDL vengono chiamate **IDL**: lipoproteine intermedie. Hanno un'emivita molto breve (6h) e presentano sulla superficie solamente Apo-E e Apo-B100. Tramite le Apo-E vengono ricaptate dal fegato e **depositano** ingenti quantità di **colesterolo** nel fegato (i trigliceridi sono stati ceduti in precedenza). Per perdita delle Apo-E si convertono in **LDL** che però vengono captate non solo dal fegato ma anche dai tessuti periferici; questo determina il deposito di colesterolo anche in altri organi. Le LDL vengono ricaptate tramite dei **recettori specifici per le Apo-B100** sia nel fegato che nei tessuti periferici. La ricaptazione da parte del fegato delle lipoproteine è strettamente legata alla sintesi endogena di colesterolo epatico: **omeostasi del colesterolo**.

#### Regolazione della sintesi di VLDL:

La dieta è uno dei fattori che influenza la sintesi di VLDL, in particolare la presenza di carboidrati (quindi Acetil-CoA), in minor parte i grassi e l'etanolo in circolo. **Domanda**: perché l'etanolo viene convertito in acidi grassi? **Risposta**: l'etanolo viene trasformato in acetaldeide che tramite un secondo enzima si lega al Coenzima-A e permette la formazione di Acetil-CoA e da lì acidi grassi. Anche l'insulina aumenta la sintesi di VLDL.

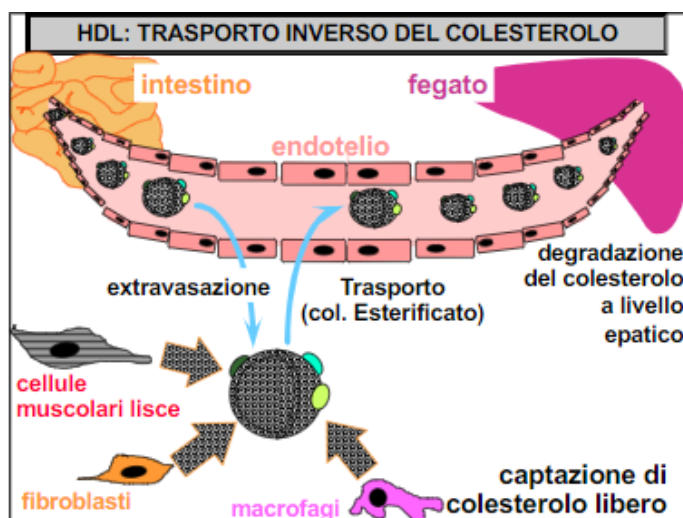


### Le LDL:

Il recettore necessario ad internalizzarle funziona meglio nei tessuti periferici rispetto al fegato. Si formano dalle rimanenze delle VLDL e hanno quindi un alto contenuto di colesterolo. Un'alta concentrazione di LDL è correlata ad **aterogenesi**.

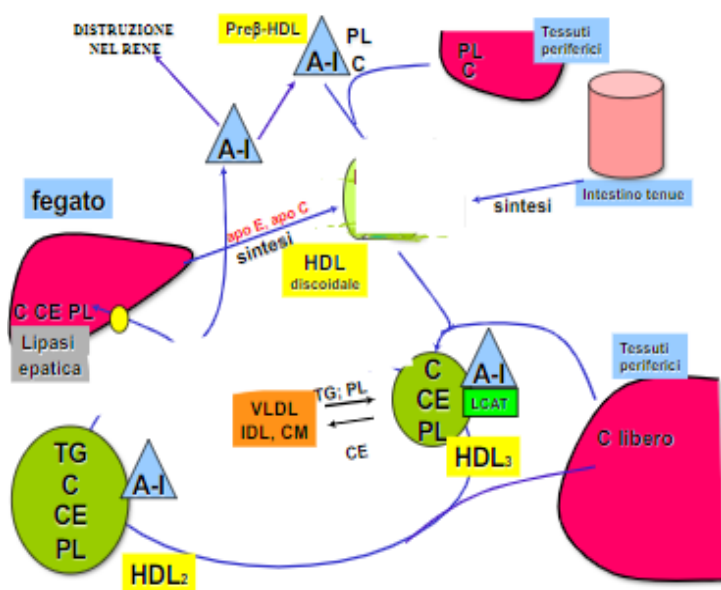
### Le HDL:

Sono sintetizzate dal fegato e dall'intestino tenue. La loro funzione principale è il **trasporto inverso dei lipidi**: dai tessuti periferici al fegato. Trasportano una bassa concentrazione di trigliceridi e un'alta concentrazione di colesterolo proteggendo dalle malattie coronariche poiché **trasportarlo al fegato significa essenzialmente eliminarlo dalla circolazione** sanguigna; per questo motivo il **rapporto tra HDL e LDL** viene utilizzato per predire il rischio di queste malattie.



### Sintesi delle HDL ed Esterificazione del colesterolo:

Avviene attraverso vari passaggi, possono essere sintetizzate dal fegato e dall'intestino tenue. Se vengono sintetizzate dal fegato la secrezione avviene in presenza delle apo E e delle apo C. Inizialmente acquisiscono fosfolipidi e colesterolo che viene esterificato grazie alla presenza sulle HDL della Apo-A1 che permette l'esterificazione del colesterolo a partire dalla lecitina; l'acido grasso presente su questa molecola viene trasferito al colesterolo tramite l'enzima **lecitina-colesterolo acil transferasi**: trasferisce un acile della lecitina (quindi un acido grasso) sull'ossidrilico del colesterolo.



L'esterificazione però può avvenire anche grazie ad un enzima specifico: l'**acil-CoA-colesterolo acil transferasi** (trasferisce un acile da una molecola qualsiasi per trasferirlo sul colesterolo).

Le lipoproteine HDL hanno inizialmente una forma discoidale ma quando esterificano il colesterolo assumono una forma sferica e diventano **HDL3**, si riempiono sempre più di colesterolo e aumentano la loro dimensione.

Le HDL3 scambiano una parte di colesterolo e trigliceridi con le rimanenze di chilomicroni e VLDL assumendo una dimensione ancora maggiore diventando **HDL2**. Alla fine sono le HDL2 ad essere ricaptate dalla lipasi epatica nel fegato.

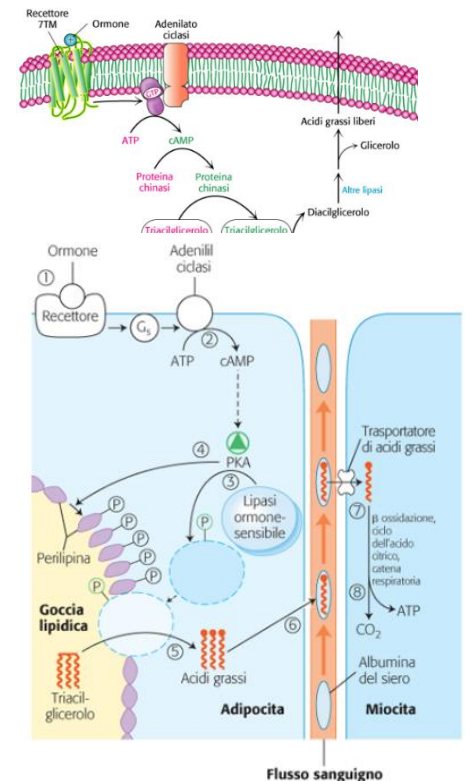
In questa ricaptazione la Apo-A1 viene restituita al circolo sanguigno. Il colesterolo esterificato non viene considerato dannoso come quello normale poiché esterificare il colesterolo significa rimuoverlo dal circolo sanguigno per riportarlo al fegato (un po' l'equivalente della fosforilazione per il glucosio).

## METABOLISMO TRIGLICERIDI E ACIDI GRASSI :

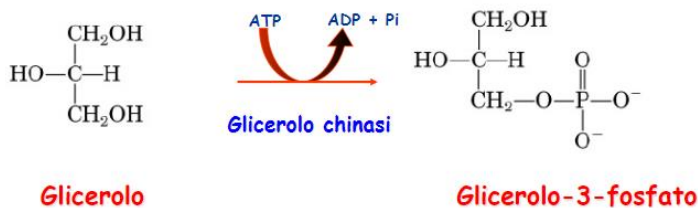
### Degradazione dei trigliceridi:

La degradazione dei trigliceridi avviene con il **digiuno** (in seguito alla degradazione dei carboidrati) a partire da quelli in circolo e da quelli depositati nell'organismo al livello del tessuto adiposo. A digiuno si è sotto il **controllo ormonale del glucagone** con la cascata enzimatica dell'cAMP e della chinasi A che **fosforila e attiva** gli enzimi destinati al metabolismo dei trigliceridi; in particolare viene attivata una **lipoproteina lipasi** che scinde i trigliceridi in acidi grassi e glicerolo. Al livello del tessuto adiposo i trigliceridi sono depositati sotto forma gocce lipidiche circondate da una proteina chiamata **perilipina** che evita la diffusione della goccia nel citoplasma. Il glucagone quindi, da una parte deve permettere la degradazione dei trigliceridi, dall'altra deve disgregare la membrana di perilipina fosforilandola. Sia gli acidi grassi liberi che il glicerolo sono substrati energetici, gli acidi grassi liberi vengono rilasciati nel circolo sanguigno complessati all'**albumina** e poi trasportati nei tessuti grazie a delle proteine di trasporto di membrana. La prima reazione è catalizzata dalla lipasi ma acidi grassi e glicerolo in seguito avranno destini metabolici diversi

### Mobilizzazione dei trigliceridi del tessuto adiposo

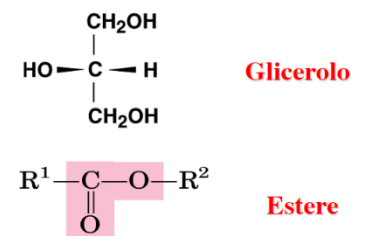


### Destino metabolico del glicerolo:



### Prima reazione:

Il glicerolo viene fosforilato da una glicerolo chinasi con spesa di ATP



### Seconda reazione:

Ossidoriduzione a carico della glicerolo-3-fosfato deidrogenasi con ottenimento del diidrossiaceton fosfato



### Terza reazione:

Il diidrossiaceton fosfato ritorna in glicolisi dopo essere stato isomerizzato a gliceraldeide 3 fosfato

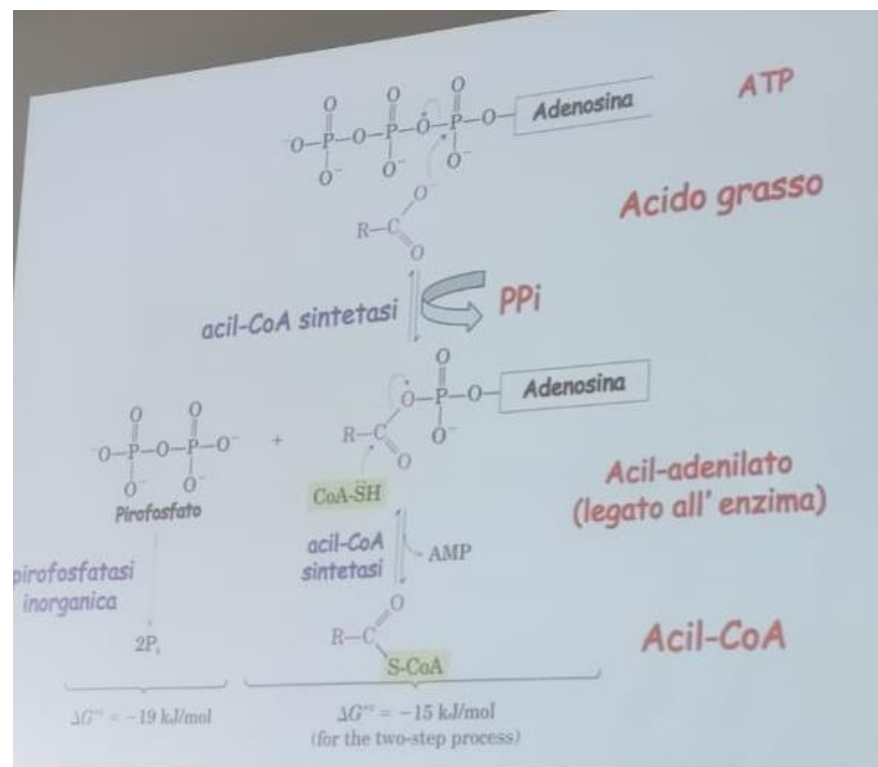


### Destino metabolico dell'acido grasso:



Il glicerolo viene scomposto a livello citoplasmatico, gli acidi grassi invece vengono degradati nella matrice mitocondriale. Innanzitutto, la molecola di acido grasso viene attivata tramite legame con il Coenzima-A. L'enzima necessario all'attivazione è l'**Acil-CoA sintetasi** e la reazione è fortemente sbilanciata verso la sintesi di Acil-CoA. Questa reazione avviene in due passaggi enzimatici. Il primo è l'attacco nucleofilo del carbossile dell'acido grasso sul fosfato in  $\alpha$  di una molecola di ATP con fuoriuscita di un gruppo pirofosfato e formazione di un intermedio: l'**acil-adenilato** (AMP legato all'acile). Una volta formato l'acil-adenilato il **gruppo SH**, che è la parte reattiva del coenzima, fa un attacco nucleofilo sul carbonio carbossilico con fuoriuscita di una molecola di AMP e formazione dell'**Acil-CoA**.

**Domanda:** quando abbiamo incontrato questo tipo di attivazione? (con Coenzima A)? **Risposta:** nel ciclo di krebs, con la formazione di Acetil-CoA da parte della piruvato deidrogenasi e con la formazione del Succinil-CoA. Il gruppo tiolico è una molecola ad alto contenuto energetico. Questa reazione è tutta catalizzata e reversibile, per spingere questa reazione verso la sintesi dell'Acil-CoA però bisogna accoppiare una reazione ad alto contenuto energetico che è l'idrolisi del pirofosfato da parte delle **pirofosfatasi inorganiche**.



### Degradazione degli acidi grassi e bilancio energetico:

l'acido grasso viene attivato a livello citoplasmatico, mentre la degradazione degli acidi grassi avviene a livello mitocondriale.

Gli acidi grassi riescono a superare la membrana mitocondriale interna solo se sono a basso numero di atomi di carbonio, quindi inferiori a 12 C.

In genere, però, gli acidi grassi presenti nei trigliceridi più comuni sono a più alto numero di atomi di C.

Quando si hanno acidi grassi ad alto numero di atomi di C (ad esempio il palmitato), per trasportare questo acido grasso dal citoplasma verso la matrice mitocondriale, bisogna utilizzare il sistema navetta (o sistema shuttle).

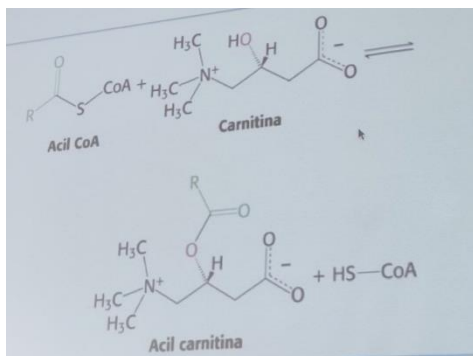
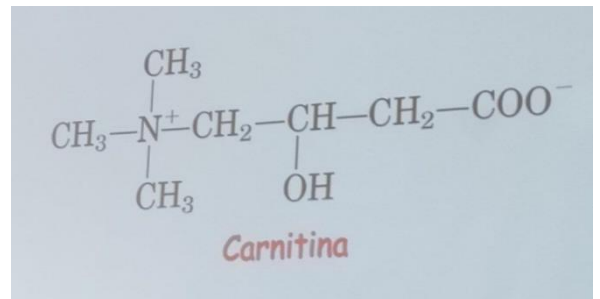
Incontreremo diversi sistemi shuttle in altri meccanismi; bisogna ricordare che i sistemi shuttle hanno tutti lo stesso principio: attraverso le membrane biologiche (da un compartimento verso l'altro) viene spostato solo il substrato che serve.

In questo caso specifico il sistema shuttle viene chiamato **sistema shuttle della carnitina**.

Nel sistema shuttle della carnitina, il substrato che serve è solo l'acido grasso, mentre il CoA deve essere lasciato nel citoplasma. Ciò succede perché il pool di Acetil-CoA presente nel citoplasma è diverso da quello presente a livello della matrice mitocondriale.

Dunque, il sistema shuttle funziona così: ci sono vari enzimi e proteine che lavorano insieme, ma alla fine del sistema, l'unica cosa che è stata trasportata è la molecola che serve (in questo caso l'acido grasso).

La carnitina (la molecola che possiamo osservare nell'immagine) presenta un gruppo ossidrilico, sul quale è possibile trasferire l'acido grasso, formando una molecola di acil-carnitina.



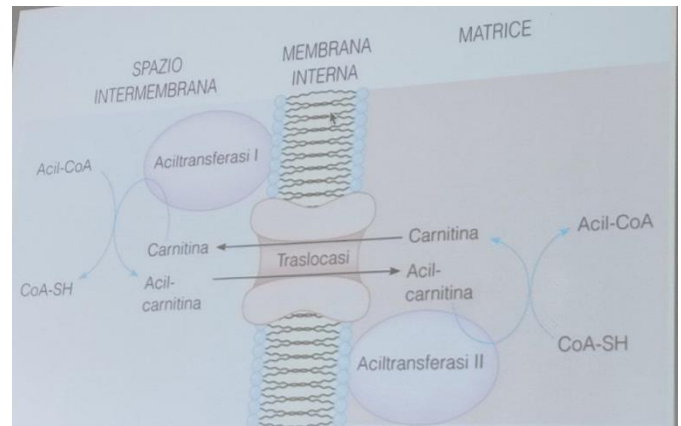
Esistono degli enzimi che, partendo da acil-CoA, prendono l'acile legato sul CoA e lo trasferiscono sull'ossidrilico della carnitina; così avviene la sintesi di **acil-carnitina**.

Queste reazioni sono di tipo reversibile, quindi si può avere la reazione che forma l'acil-carnitina e la reazione inversa, in cui l'acido grasso presente sull'acil-carnitina viene trasferito sul CoA libero per dare l'acil-CoA.

In particolare, il sistema shuttle della carnitina è formato da due enzimi (uno a localizzazione citoplasmatica e l'altro a localizzazione mitocondriale) e da una proteina di trasporto, che è presente sulla membrana interna dei mitocondri.

Nell'immagine osserviamo lo spazio intermembrana, dal momento che i mitocondri hanno due membrane: una permeabile (esterna) e una impermeabile (interna), che deve essere superata.

Nello spazio intermembrana esiste un enzima, chiamato **carnitina-aciltransferasi I**, che catalizza la reazione appena vista; dunque preleva l'acido grasso dall'acil-CoA e lo lega sull'ossidrile della carnitina formando acil-carnitina.



L'altro enzima (presente nella matrice mitocondriale) è chiamato **carnitina-aciltransferasi II** (abbiamo dunque due isoforme diverse dello stesso enzima), che è in grado di catalizzare la reazione inversa; dunque preleva l'acile legato alla carnitina e lo trasferisce sul CoA presente nella matrice mitocondriale, producendo acil-CoA.

Questo sistema ha bisogno anche di una proteina di trasporto: la proteina carrier della carnitina.

Lo shuttle della carnitina funziona così:

1. nello spazio intermembrana, l'enzima aciltransferasi I trasferisce l'acile sulla carnitina formando acil-carnitina;
2. la proteina carrier della carnitina trasporta l'acil-carnitina all'interno della matrice mitocondriale;
3. l'acil-carnitina subisce la reazione inversa per azione dell'enzima aciltransferasi II, che trasferisce l'acile sul CoA mitocondriale, formando l'acil-CoA e liberando carnitina;
4. la carnitina torna nello spazio intermembrana per dare nuovamente origine ad acil-carnitina

Alla fine di questo meccanismo, l'unica cosa che è stata spostata è il gruppo acetico dallo spazio intermembrana alla matrice mitocondriale.

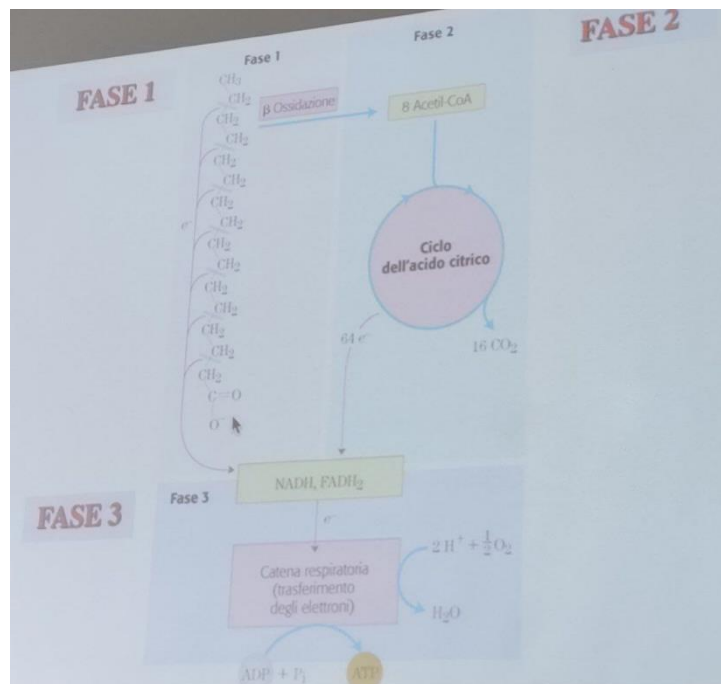
Una volta che l'acil-CoA attivato è entrato nella matrice mitocondriale può andare incontro alla degradazione.

La degradazione di un acido grasso porta sempre alla sintesi di acetil-CoA e ad una serie di equivalenti di riduzione (fase 1).

L'acetil-CoA sarà successivamente inviato al ciclo di Krebs e gli equivalenti di riduzione saranno inviati alla catena di trasporto degli elettroni.

La degradazione degli acidi grassi (indicata come fase 1) è anche chiamata **β-ossidazione** poiché è dovuta alla rottura del legame β della molecola di acil-CoA.

La β ossidazione è un meccanismo che si ripete sulla stessa molecola di acil-CoA, poiché ad ogni ciclo abbiamo l'accorciamento della molecola di acile di due unità carboniose con formazione di acetil-CoA.



In questo caso vediamo la degradazione della molecola del **palmitato**, un acido grasso a 16 atomi di carbonio.

La **prima reazione** che avviene nella degradazione di un acido grasso (visibile nell'immagine a destra) viene chiamata β-ossidazione perché si ha la rottura tra il carbonio α e il carbonio β; dunque si ha l'allontanamento del gruppo acetil-CoA alla fine della reazione.

Quindi la parte della molecola interessata è quella tra i carboni α e β.

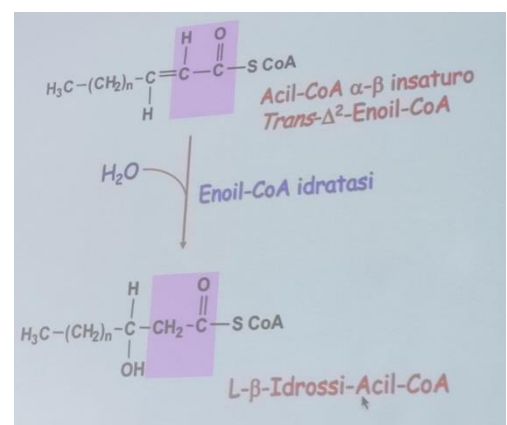
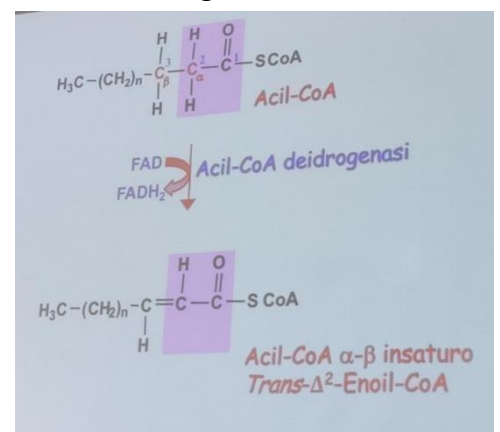
La prima reazione è una reazione di ossidoriduzione, catalizzata dall'enzima **acil-CoA deidrogenasi** e che utilizza come coenzima una molecola di FAD, che viene ridotta a  $FADH_2$  con formazione di un doppio legame e, dunque, di un **enoi-CoA**.

A questo doppio legame viene addizionata una molecola d'acqua grazie ad un'**idratasi**.

**Idratasi:** "Enzimi che catalizzano l'addizione di acqua a un doppio legame del substrato e anche la reazione inversa, per es. fumarasi."

– fonte: Enciclopedia Treccani

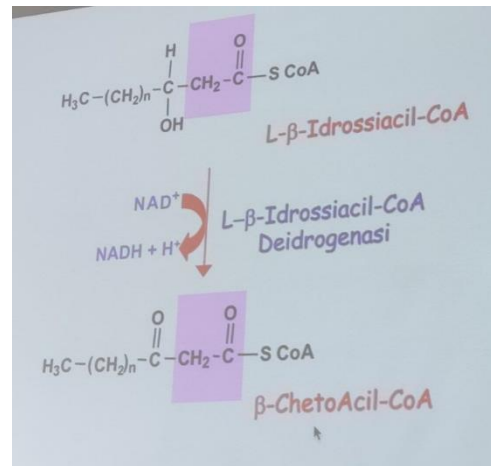
Si ha, dunque, la formazione del **β-idrossi-Acil-CoA**.





La reazione successiva è sempre una reazione di ossidoriduzione, catalizzata da una **deidrogenasi NAD dipendente**, in cui avremo:

- l'ossidazione del gruppo ossidrilico
- riduzione del NAD
- formazione di un **chetoAcil-CoA**

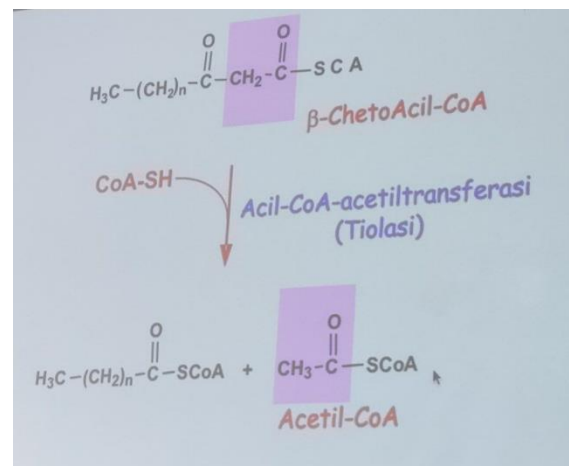


l'ultimo enzima ad intervenire è una **tiolasi**, un enzima in grado di rompere il legame tra il carbonio  $\alpha$  e il carbonio  $\beta$  trasferendo una molecola di CoA alla molecola rimanente.

Quindi avremo:

- la fuoriuscita di una molecola di acetil-CoA
- La molecola di acile accorciata di 2 unità e legata ad una molecola di CoA.

Dunque, questa molecola a 14 atomi di carbonio che abbiamo ottenuto può andare nuovamente incontro ad un ciclo di  $\beta$ -ossidazione.



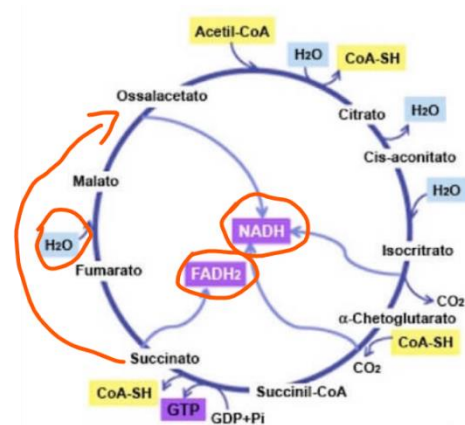
### Domande della prof:

1. "Quante volte si ripete questo meccanismo in una molecola di acido grasso a 16 atomi di carbonio?"

**Risposta 1:** "7, perché ad ogni degradazione la molecola è accorciata di 2, ma alla fine avremo una molecola a 4C, che tagliata in due ci darà 2 CoA."

1. "Questa successione di deidrogenasi FAD dipendente, idratasi e deidrogenasi NAD dipendente l'abbiamo già vista. Dove?"

**Risposta 2:** Nel ciclo di Krebs, quando dal succinato si va a riformare l'ossalacetato (sottolineato nell'immagine a destra).



### Ricorda!

La biochimica sembra difficile, ma in realtà è una ripetizione degli stessi meccanismi: basta fissarne uno in mente per averli tutti chiari.

**Il bilancio energetico**, che abbiamo già visto per la degradazione di una molecola di glucosio, adesso la vedremo per una molecola di Palmitoyl-CoA.

Sappiamo che:

- per ogni molecola di  $FADH_2$  ottenuta, si possono sintetizzare 1,5 molecole di ATP;
- per ogni molecola di NADH ottenuta, si possono sintetizzare 2,5 ATP.

table 17-1  
Yield of ATP during Oxidation of One Molecule of Palmitoyl-CoA to  $CO_2$  and  $H_2O$

Enzyme catalyzing the oxidation step	Number of NADH or $FADH_2$ formed	Number of ATP ultimately formed*
Acyl-CoA dehydrogenase	7 $FADH_2$	10.5
$\beta$ -Hydroxyacyl-CoA dehydrogenase	7 NADH	17.5
Isocitrate dehydrogenase	8 NADH	20
$\alpha$ -Ketoglutarate dehydrogenase	8 NADH	20
Succinyl-CoA synthetase		8'
Succinate dehydrogenase	8 $FADH_2$	12
Malate dehydrogenase	8 NADH	20
<b>Total</b>		<b>108</b>

Se si calcolano tutte le molecole di  $FADH_2$  e NADH sintetizzate a partire da una molecola di acido grasso fino al ciclo di Krebs, si dovrebbero ottenere 108 molecole di ATP ("numero che non vi chiederò, ma vi chiederò di spiegarmi il meccanismo").

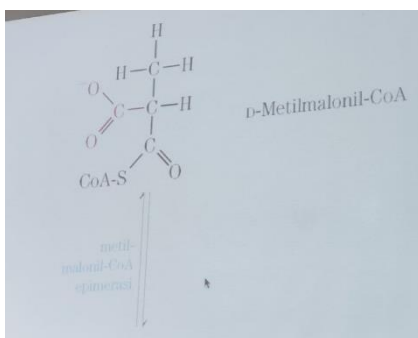
I primi due enzimi sono quelli della  $\beta$ -ossidazione, da cui otterremo 8 molecole di Acetil-CoA, che entreranno nel ciclo di Krebs.

Per ogni molecola di Acetil-CoA, il ciclo di Krebs produce 3 molecole di NADH e una di  $FADH_2$ .

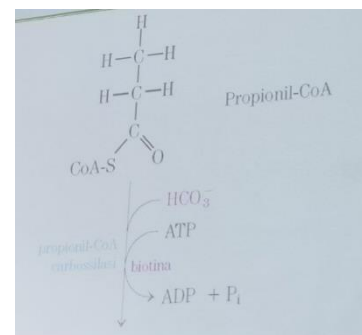
Dunque, per ogni Acetil-CoA ottenuto dalla  $\beta$ -ossidazione, otterremo 8 NADH e via scorrendo. "Dovete usare solo la calcolatrice".

Al bilancio energetico, inoltre, vanno sommate 8 molecole di ATP dirette, sintetizzate dal ciclo di Krebs.

Fin ora noi abbiamo visto l'ossidazione di un acido grasso a numero pari di C; ma cosa succede alle molecole di acidi grassi a **numero dispari di C**?



In questo caso, nell'ultimo passaggio (catalizzato dalla tiolasi) otterremo due composti: l'acetil-CoA e un acido grasso a 3 atomi di C, che prende il nome di **Propionil-CoA**.



Il Propionil-CoA può subire l'azione di una **carbossilasi**, un enzima biotina-dipendente (a spese di una molecola di ATP) e viene trasformato in

un intermedio: il **Metilmalonyl-CoA**.

Quest'ultimo, grazie all'azione di un'**epimerasi** e di una **mutasi**, viene trasformato in **succinil-CoA**.

Questa molecola di succinil-CoA può entrare nel ciclo di Krebs.

**Domanda della prof:**

"È possibile sintetizzare glucosio a partire da un acido grasso a numero dispari di atomi di C?" Si.

