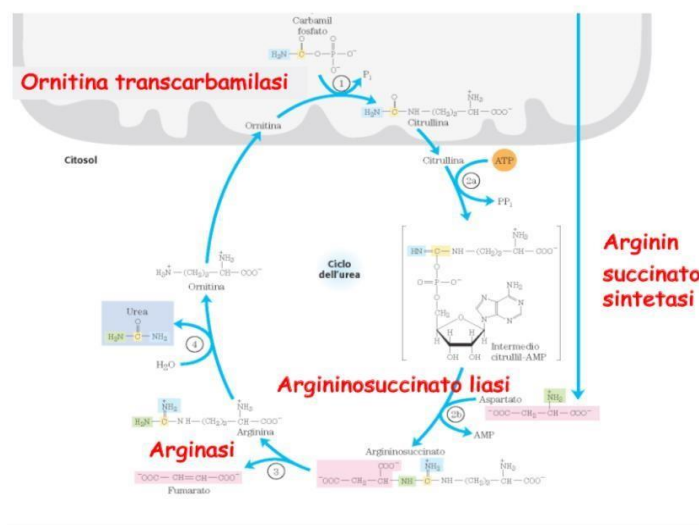
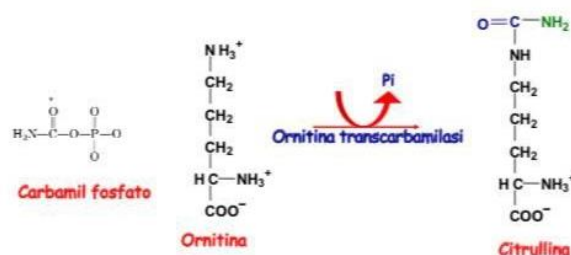


Lezione 17 - Prima parte: Sintesi dell'urea

Sbobbinautore: Bina salvati

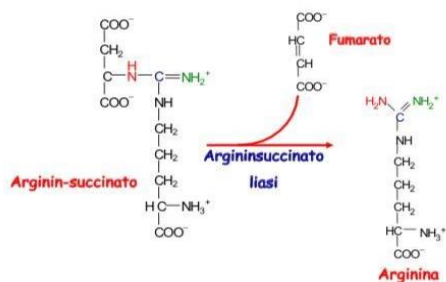
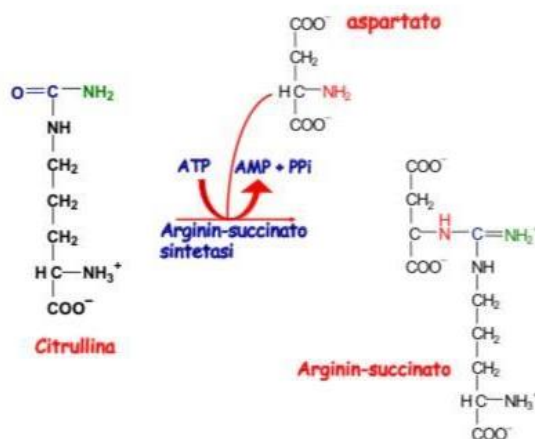
Il carbamil-fosfato all'interno dei mitocondri condensa con l'**ornitina** (amminoacido non canonico) per formare la **citrullina** (il secondo degli amminoacidi non canonici).



A questo punto la citrullina esce dai mitocondri e lega una molecola di aspartato grazie all'azione dell'arginin-succinato sintetasi.

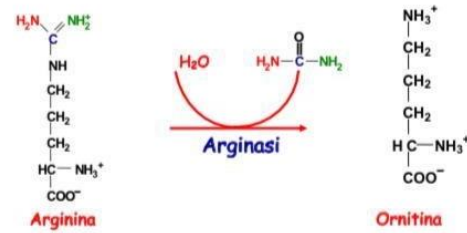
Bisogna ricordare che la molecola di aspartato si è formata nei mitocondri sempre a partire dal glutammato per transaminazione dell'ossalacetato; è sempre, quindi, una molecola che in qualche modo giunge dalla degradazione degli amminoacidi.

La reazione di condensazione tra la citrullina e l'aspartato è una reazione che viene spinta verso la sintesi del composto finale che è l'**arginin-succinato** grazie all'idrolisi dell'ATP che in questo caso viene idrolizzato prima come AMP + pirofosfato. Il pirofosfato, essendo un composto ad alto contenuto energetico ed essendo nuovamente idrolizzabile, spinge la reazione verso la sintesi dell'arginin-succinato.

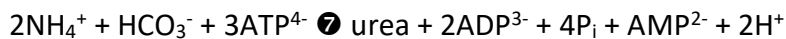


Una volta formato l'arginin-succinato, interviene l'arginin-succinato liasi che idrolizza il legame tra azoto e carbonio dell'aspartato e l'idrolisi di questo legame fa sì che si abbia l'uscita di una molecola di fumarato e quindi la sintesi di una molecola di **arginina**.

L'ultima reazione della sintesi dell'urea è l'idrolisi dell'arginina, da parte di una arginasi, che libera **urea** e contemporaneamente risintetizza l'**ornitina**, cioè il substrato che non viene né sintetizzato e né consumato in questo ciclo.



Reazione complessiva:

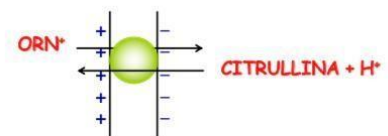


In questo ciclo dell'urea abbiamo visto che c'è una fuoriuscita di citrullina dai mitocondri, la quale, al termine del ciclo dell'urea, risintetizza in qualche modo l'ornitina che a questo punto è citoplasmatica ma dev'essere portata a livello mitocondriale. Quindi, deve esserci questo scambio di substrati tra citrullina che esce e ornitina che entra all'interno dei mitocondri.

In effetti, sulla membrana mitocondriale interna è presente una proteina di trasporto che è in grado di effettuare uno scambio tra questi due substrati: quindi, esiste un trasportatore ornitina-citrullina che scambia ornitina con citrullina. Se questo scambio avvenisse così come viene descritto si avrebbe, però, un problema: l'ornitina, in realtà, ha una carica positiva netta mentre la citrullina è un composto neutro e questo passaggio di cariche verso una membrana che è polarizzata negativamente determinerebbe una variazione del pH e anche un cambiamento del potenziale di membrana.

Studi più recenti hanno dimostrato che in realtà la citrullina, per evitare questo scompenso di cariche, viene trasportata in co-trasporto con un protone e, quindi, si neutralizzano le cariche.

Trasporto Ornitina /Citrullina

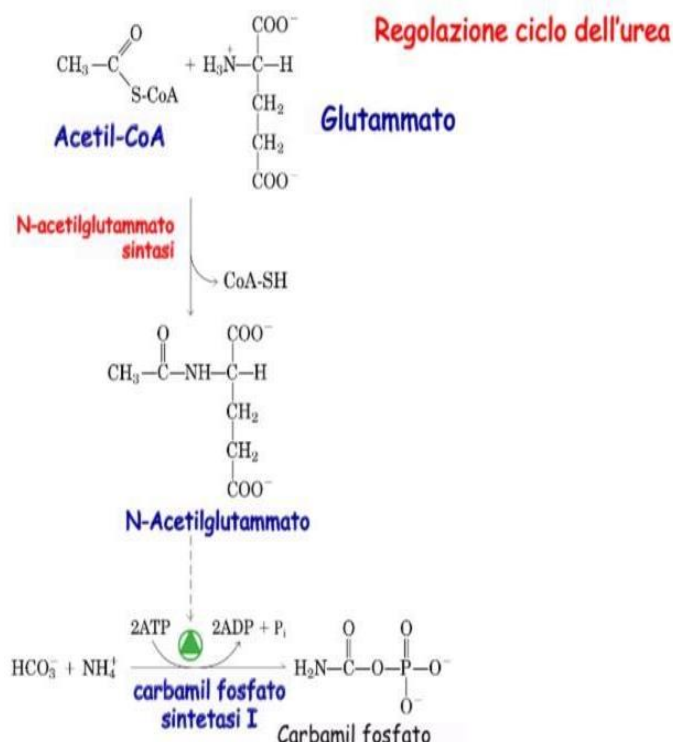


NON C'È ABBATTIMENTO DEL pH

Regolazione del ciclo dell'urea

Il ciclo dell'urea, come tutti i metabolismi che abbiamo visto, subisce una regolazione. La regolazione del ciclo dell'urea interessa la sintesi del carbamilfosfato, quindi, l'enzima interessato è il carbamil-fosfato sintetasi I che viene attivato dall'N-acetil glutammato che è stato sintetizzato per condensazione del glutammato e dell'acetilCoA dall'enzima N-acetil glutammato sintasi. Questa sintesi è agevolata dalla presenza di arginina: arginina e glutammato sono due substrati

della sintesi dell'urea, se aumentiamo il glutammato e abbiamo un aumento di arginina nell'epatocita vuol dire che dobbiamo mandare avanti il ciclo dell'urea.



Il ciclo dell'urea e il ciclo di Krebs sono due cicli strettamente correlati tra loro. Infatti, la velocità del ciclo dell'urea, oltre a questa regolazione che essendo di tipo allosterico è blanda, è legata più che altro alla velocità del ciclo di Krebs. Il fatto che questi due cicli siano legati viene spiegato in più modi:

1. Il ciclo dell'urea e il ciclo di Krebs scambiano tra di loro substrati perché, per sintetizzare l'arginin-succinato, innanzitutto abbiamo bisogno dell'aspartato che è stato formato nel mitocondrio a partire da ossalacetato, cioè uno dei substrati del ciclo di Krebs.
2. A livello citoplasmatico abbiamo una sintesi di fumarato che è uno dei substrati del ciclo di Krebs. Inoltre, il fumarato può essere trasformato in malato da una fumarasi, e rientrare quindi nel mitocondrio e nel ciclo di Krebs.

Quindi, questo scambio di substrati rende i due cicli in qualche modo coordinati e chiaramente, poiché è il ciclo di Krebs che deve cedere i suoi substrati al ciclo dell'urea, per far andare veloce il ciclo dell'urea bisogna far andare veloce il ciclo di Krebs. Se il ciclo di Krebs rallenta, non avendo ossalacetato, rallenta anche il ciclo dell'urea.

Sindrome HHH ⑦ patologia rara legata al ciclo dell'urea caratterizzata da iperammonemia, iperornitinemia, e omocitrullinemia. La sigla "HHH" deriva dalle iniziali di questi tre in inglese. Questa sindrome è dovuta principalmente al deficit dell'arginasi o dell'arginin-succinico sintetasi, ma anche al deficit del trasportatore mitocondriale. L'omocitrullinemia si spiega perché, bloccando questi enzimi, si ha un aumento della concentrazione del carbamil-fosfato che condensa con la lisina dando, appunto, questo composto. L'iperornitinemia si spiega con

l'accumulo dell'ornitina e anche con il malfunzionamento dell'enzima mitocondriale ornitina aminotransferasi.

Il ciclo dell'urea, dal punto di vista energetico, è parecchio dispendioso ma ha dei vantaggi:

- trasforma l'ammoniaca derivante dalla degradazione degli amminoacidi in urea e in questo modo si eliminano due gruppi amminici alla volta
- questo ciclo metabolico è regolabile secondo le esigenze dell'organismo
- l'urea non è un composto tossico per il nostro organismo e quindi può essere espulso senza ulteriori modifiche
- l'urea è un composto solubile e quindi può raggiungere concentrazioni elevate nel sangue senza precipitare

Vie di degradazione degli amminoacidi

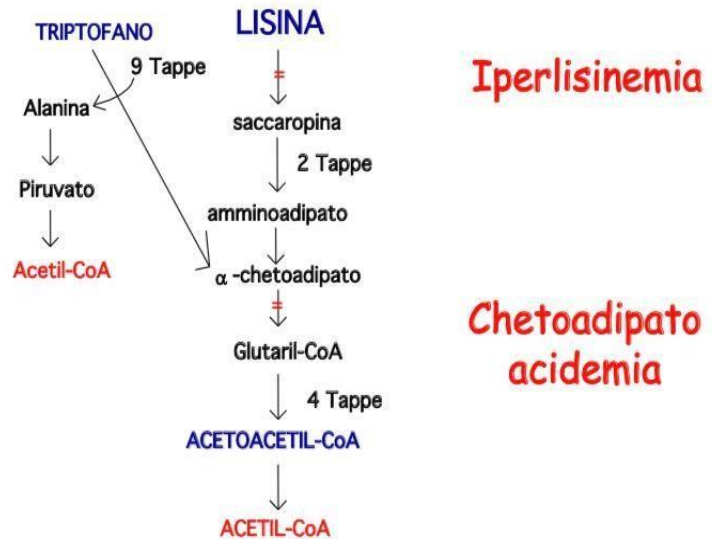
Le degradazioni degli amminoacidi partono tutte dalla sintesi dello scheletro carbonioso. Abbiamo 20 vie cataboliche per la degradazione di tutti gli amminoacidi che possono essere utilizzati per produrre una certa quota di energia per l'uomo. Chiaramente, la degradazione degli amminoacidi varia a seconda dello stato dell'organismo: in linea di massima, l'organismo tende a preservare gli amminoacidi dal catabolismo perché spesso gli amminoacidi possono essere riutilizzati in altri processi biosintetici. Il catabolismo degli amminoacidi si ottiene principalmente in stati di digiuno prolungati o in stati di diabete non controllato.

Sostanzialmente abbiamo visto che gli amminoacidi si dividono in due grosse categorie: quelli glucogenetici che quindi danno come precursori o intermedi del ciclo di Krebs o piruvato, e quelli chetogenetici che danno come precursore o l'acetilCoA o l'aceto acetilCoA. Nella degradazione degli amminoacidi intervengono una serie di meccanismi motori:

1. Transamminazione ⑦ sposta il gruppo amminico sul glutammato e successivamente sulla glutammina trasformando il glutammato in glutammina
2. Trasferimento di unità monocarboniose ⑦ rompe lo scheletro degli amminoacidi ed è catalizzato da una serie di coenzimi diversi:
 - biotina: trasferimento di gruppi a un atomo di carbonio nella forma più ossidata (CO_2) - tetraidrofolato: trasferimento di gruppi a un atomo di carbonio in tre diversi stati di ossidazione (CH_3 , CH_2OH , CHO)
 - S-adenosilmetionina: trasferimento di gruppi a un atomo di carbonio nella sua forma più ridotta (CH_3)

Difetti del catabolismo della lisina

Triptofano e lisina convergono entrambi nella sintesi dell' α -chetoadipato. Questo tipo di catabolismo, se bloccato a livello o della prima tappa della degradazione della lisina o nella tappa che da α -chetoadipato dà il glutaril-CoA, è causa di insorgenza di alcune malattie metaboliche chiaramente di origine genetica.

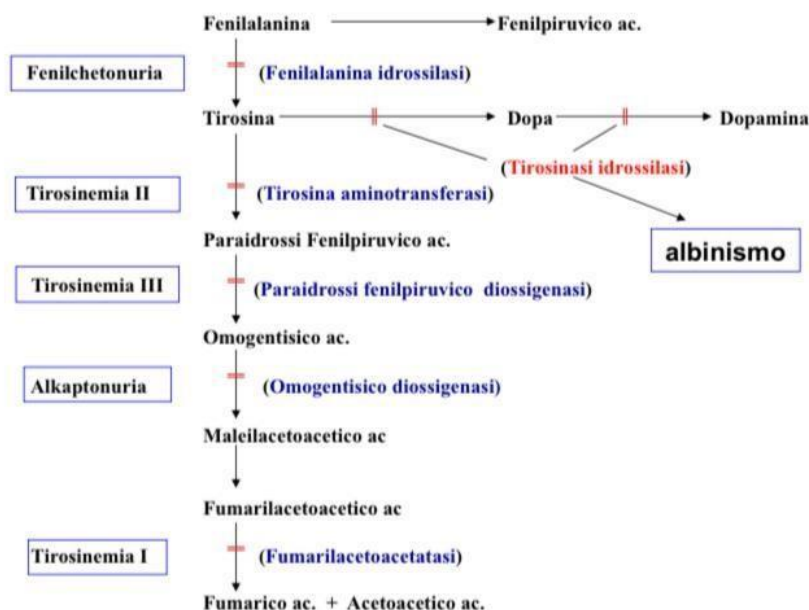


Iperlisinemia ⑦ una malattia piuttosto diffusa, che si spiega chiaramente perché, bloccando la degradazione della lisina, ci sarà un aumento della sua concentrazione. La causa biochimica è ancora oscura: solo in pochi pazienti la si è associata al deficit della deidrogenasi che nel primo step metabolico dà luogo alla produzione di saccaropina. Ovviamente, i pazienti affetti da questa malattia devono evitare diete ricche di lisina che possono portare ad intossicazione da ammoniaca con vomito, alterazioni elettroencefaliche e coma.

α -chetoadipato acidemia ⑦ provocata dall'accumulo di α -chetoadipato che interessa contemporaneamente sia la lisina che il triptofano. I segni clinici sono rappresentati da ritardo mentale, ritardo dello sviluppo motorio e incapacità di apprendimento. Questa malattia è stata messa in relazione con la deficienza dell'enzima α -chetoadipato-DH (o glutaril-CoA-DH) che catalizza la decarbossilazione ossidativa dell' α -chetoadipato a glutarilCoA. Tuttavia, in alcuni pazienti non si osserva il deficit dell' α -chetoadipato-DH: in questi casi la malattia è determinata da un deficit del trasportatore che trasporta l' α -chetoadipato ai mitocondri. Infatti, questa degradazione avviene a cavallo tra il citoplasma e il mitocondrio e in particolare, mentre le prime reazioni che portano ad α -chetoadipato sono citoplasmatiche, l' α -chetoadipato poi deve entrare nei mitocondri per dare la sintesi del glutaril-CoA.

Si osserva che per ogni passaggio della degradazione della fenilalanina è nota una diversa malattia.

Difetti del metabolismo della fenilalanina



Fenilchetonuria (PKU) ⑦ La fenilchetonuria blocca il passaggio da fenilalanina a tirosina e questo passaggio interessa, quindi, anche il metabolismo della tirosina. Questa malattia è dovuta ad un deficit della fenilalanina idrossilasi. L'accumulo di fenilalanina prevede un metabolismo secondario che causa la sintesi di altri due composti che, però, contrastano la malattia. La fenilchetonuria è abbastanza diffusa, è una malattia autosomica recessiva, caratterizzata da deficit mentale ed è accompagnata a deficit di tirosina. È una malattia che facilmente può essere tenuta sotto controllo ed è anche presente un test neonatale per diagnosticarla.

Albinismo ⑦ Il metabolismo della tirosina, a sua volta, è correlato con la sintesi della dopa e della dopamina (neurotrasmettitori); quindi, il blocco della sintesi della tirosina, è causa dell'insorgenza dell'albinismo.

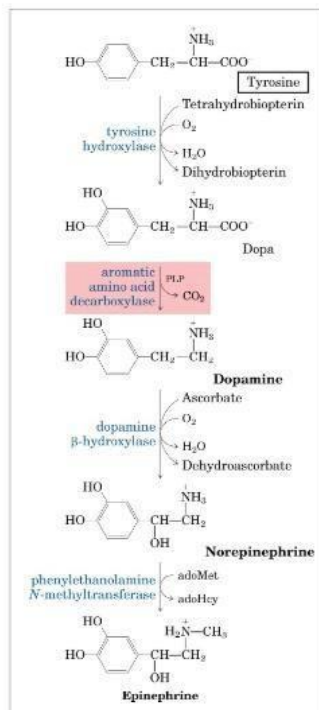
Tirosinemia II ⑦ blocca il secondo passaggio ed è causata da un deficit dell'enzima tirosina amminotrasferasi, provoca lesioni cutanee e oculari ed è accompagnata a ritardo mentale da cui a volte il nome cretinismo.

Tirosinemia III ⑦ viene anche indicata come tirosinemia neonatale, blocca il terzo passaggio ed è causata da un deficit dell'enzima para-idrossi fenil piruvato diossigenasi e, quindi, un deficit della sintesi dell'acido omogentisico. È una malattia generalmente transitoria, risponde spesso al trattamento con acido ascorbico che sembra proteggere dall'inibizione da substrato.

Alkaptonuria ⑦ è la sindrome più benevola, è facilmente diagnosticabile in quanto caratterizzata, nei primi anni di vita, da urine nerastre e, se non curata, l'accumulo di acido omogentisico polimerizza e a lungo andare si deposita nelle ossa dando complicanze artritiche. Questa malattia ha un'importanza storica perché è stata la prima ad essere scoperta come errore congenito del metabolismo.

Tirosinemia I ⑦ provocata dal deficit dell'enzima fumarilacetoacetasi. È caratterizzata da disfunzioni epatorenali, rachitismo e polineuropatie. Si accompagna ad eliminazione di tirosina e altri amminoacidi con le urine.

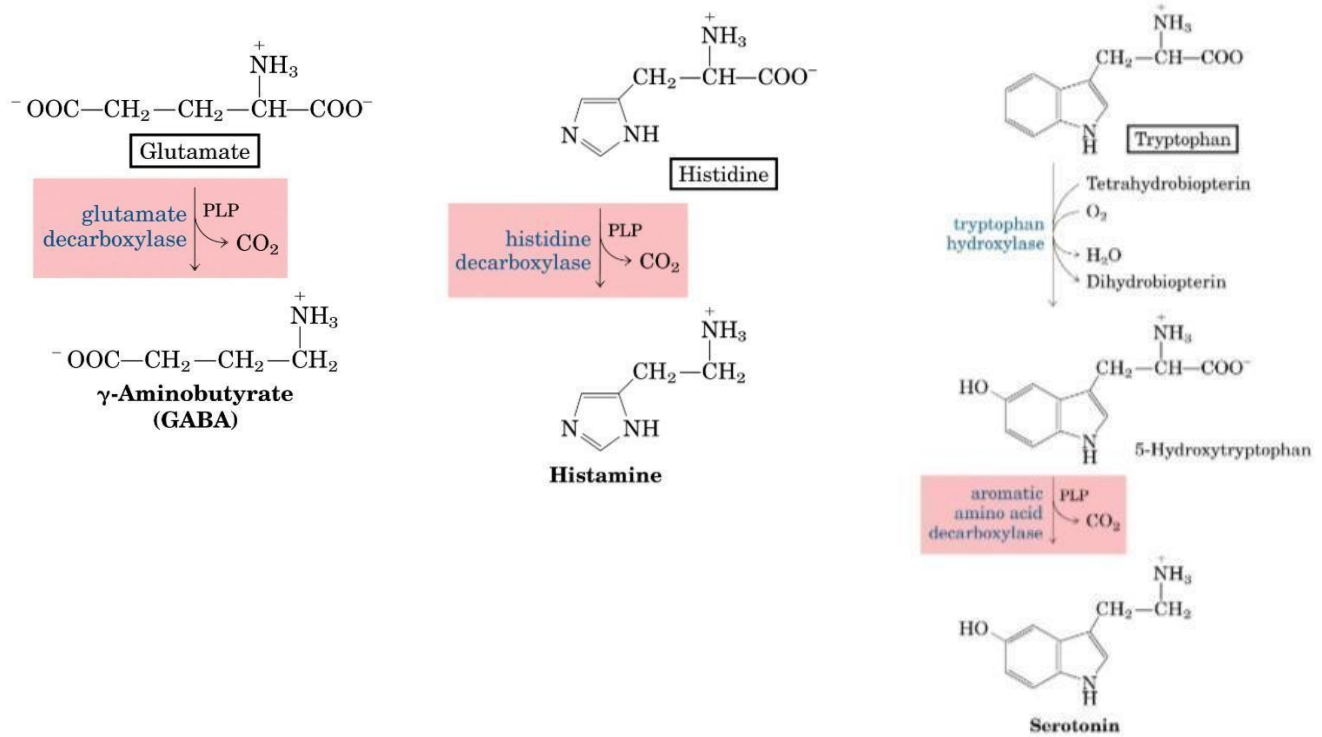
Mentre la maggior parte dei catabolismi degli amminoacidi avviene nel fegato, i tre amminoacidi con catena ramificata sono usati come fonte energetica principalmente in muscoli, reni, tessuto adiposo e tessuto nervoso, che contengono un amminotrasferasi in grado di agire su tutti e tre gli amminoacidi e che non è presente nel fegato. Se questo complesso enzimatico che interviene, cioè l' α -chetoacido deidrogenasi, è assente, si ha una malattia conosciuta come **malattie delle urine a sciroppo d'acero** ⑦ malattia autosomica recessiva che da accumulo di chetoacidi nel sangue, è caratterizzata da sviluppo anormale del cervello, ritardo mentale e morte infantile. Se diagnosticata, può essere curata tramite una dieta povera in leucina, isoleucina e valina.



Gli amminoacidi sono i precursori di molti neurotrasmettitori, ad esempio, come già detto, la tirosina è il precursore della dopamina e inoltre, a partire dalla dopamina, si ha la sintesi della norepinefrina e dell'epinefrina.

Tra i meccanismi che accomunano tutte le vie di sintesi dei neurotrasmettitori a partire dagli amminoacidi c'è una reazione di decarbossilazione degli amminoacidi che utilizza come coenzima il piridossal fosfato con degli esiti chiaramente differenti per avere i diversi composti.

La semplice decarbossilazione del glutammato porta alla formazione del γ -amminobutirrato (GABA), a partire dall'istidina si ottiene l'istamina, a partire dal triptofano si ottiene la serotonina.



Seconda parte - La Biosintesi degli acidi grassi

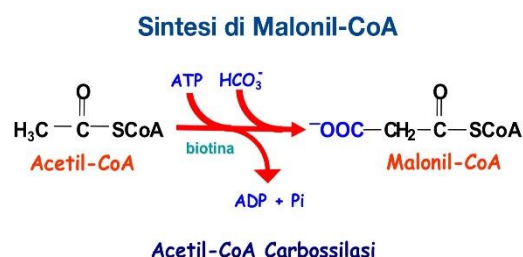
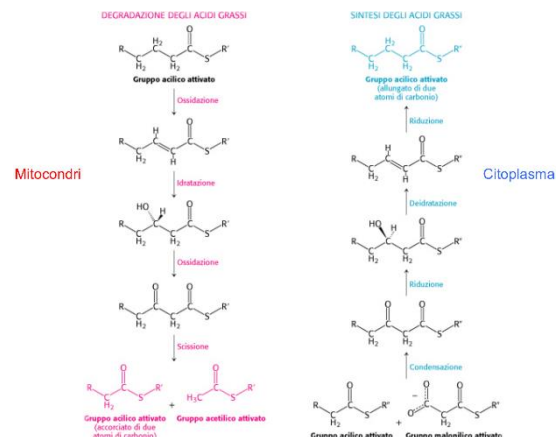
Sbobbinate: Antonio Mainente

La sintesi degli acidi grassi ricorda la degradazione degli stessi ma poiché, in un organismo, se si ha la sintesi di un composto, non si può avere contemporaneamente la sua degradazione. In quanto non avrebbe senso attuare contemporaneamente entrambi i processi, queste due vie (sintesi e degradazione) sono differenti. Così come abbiamo visto per il glucosio: gli enzimi di degradazione e sintesi sono diversi, vi è una separazione del compartimento cellulare (infatti la sintesi degli acidi grassi avviene nel citoplasma, mentre la degradazione avviene nella matrice mitocondriale) e mentre nella degradazione degli acidi grassi sono usati come coenzimi il NADH e il FADH, **nella sintesi è usato in NADPH**, che è il coenzima delle sintesi. La sintesi degli acidi grassi utilizza sostanzialmente due enzimi: l'**Acetil-CoA carbossilasi** e l'**Acido grasso sintasi**; inizialmente si pensava che gli enzimi fossero 3: veniva considerata anche la presenza della **Tioesterasi** (che è ciò che libera l'acido grasso quando è terminata la sua sintesi. In realtà, recentemente, si è scoperto che la Tioesterasi fa parte dell'Acido grasso sintasi. La degradazione degli acidi grassi è nota avvenire per allontanamento di unità bicarboniose, al contrario, la sintesi avviene per aggiunta di unità bicarboniose. In poche parole, ciò che verrà trattato nella lezione è la **sintesi del Palmitato** (acido grasso a 16 atomi di carbonio).

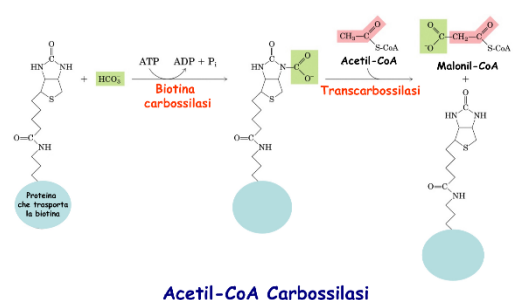
Di fatto sintesi e degradazione sono uno il contrario dell'altra, ma non vi è problema per l'organismo poiché si usano enzimi e compartimenti cellulari differenti. Osservando l'immagine, si può notare come, a sinistra, è presente la via di degradazione degli acidi grassi, in cui si ha una successione di reazioni che sono:

1. ossidazione,
2. idratazione,
3. ossidazione,
4. scissione (allontanamento dell'unità bicarboniosa);

A destra, invece, vi è la sintesi, che ripercorre esattamente al contrario questi processi: in primis vi è **una condensazione** dove nella degradazione vi è una scissione, **una riduzione** dove vi era un'ossidazione, **una deidratazione** al posto dell'idratazione e **un'ultima riduzione** al posto dell'altra ossidazione.

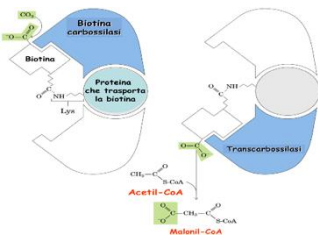


Per far sì che la sintesi di acidi grassi avvenga, il primo composto da sintetizzare è il **Malonil-CoA**: sintetizzato



dall'Acetil-CoA carbossilasi a partire dall'Acetil-CoA.

Questa è una reazione ATP dipendente per la quale la biotina trasferisce una molecola di CO_2 per sintetizzare, per l'appunto, il Malonil-CoA.

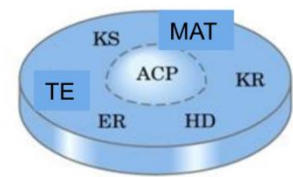


Quest'enzima, Acetil-CoA carbossilasi, è formato da tre domini: uno che lega la biotina, un dominio che è una carbossilasi e uno che agisce come trans-carbossilasi.

Azione dell'enzima: il dominio che lega la biotina funge da braccio mobile fra i domini di carbossilazione e trans-carbossilazione, la biotina inizialmente si sposta nel dominio della carbossilasi legando a sé la CO_2 , dopodiché prende contatto con il dominio della trans-carbossilasi e quindi trasferisce la molecola di CO_2 su una molecola di Acetil-CoA formando il Malonil-CoA. Inizialmente si ha la carbossilazione della biotina e dopo il trasferimento della CO_2 sull' Acetil-CoA per dare il Malonil-CoA.

L'acido grasso sintasi è l'enzima che catalizza tutto il resto della sintesi degli acidi grassi. Questo enzima può:

- 1) essere costituito da un **unico polipeptide che ha vari domini enzimatici** (come nel nostro organismo)
- 2) Essere **costituito dall'unione di più subunità proteiche**, le quali ognuna ha una particolare attività enzimatica (nei batteri)



Acido grasso sintasi eucariotica

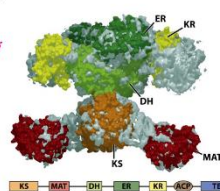
Ovviamente qui verrà trattato l'enzima eucariote, dove avremo tutte le attività enzimatiche su un unico polipeptide. I domini dell'acido grasso sintasi sono i seguenti:

- 1) Proteina che trasporta gli acili (ACP)
- 2) β-chetoacil-ACP sintasi (KS)
- 3) Malonil/acetil-CoA-ACP transferasi (MAT): questo può trasferire sia una molecola di Malonile che una di acetile. (questo enzima è considerato un enzima unico nelle ultime versioni dei libri, in quelle più vecchie i due enzimi sono separati)
- 4) β-chetoacil-ACP reductasi (KR)
- 5) β-chetoacil-ACP deidratasi (HD)
- 6) Enoil-ACP reductasi (ER)
- 7) Tioesterasi (TE) (libera l'acido grasso)

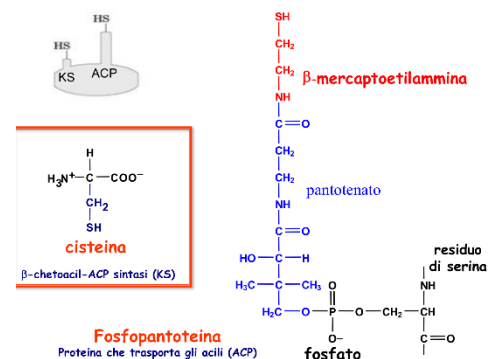
Acido grasso sintasi (FAS)

I sette differenti domini della FAS I:

KS: β-chetoacil-CoA sintasi
MAT: malonil/acetil-CoA ACP transferasi
DH: β-idrossiacil-ACP deidratasi
ER: enoil-ACP reductasi
KR: β-chetoacil-ACP reductasi
ACP: proteina trasportatrice di acili
TE: tioesterasi

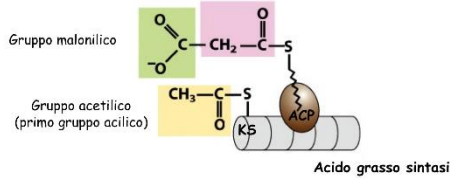


vengono poi legate tramite legame tioestere su due dei domini indicati in foto, in particolare o sul dominio dell'ACP (non è presente nell'immagine 😊) o sul dominio KS; quindi, sia sull'ACP che sul KS esistono dei **gruppi SH** in grado di formare questi legami. In particolare, su KS vi è un particolare residuo di cisteina (che, come sappiamo, termina con un gruppo SH, vedi pag 3 sbobina 2), in grado di formare un legame tioestere. Sull'ACP, l'SH che lega la molecola è dato da un residuo di β-mercatoetilammina, legato mediante una struttura che prende il nome di Fosfopantoteina.



L'utilizzo di questa β -mercatoetilammina è stato visto nel CoA, poiché il gruppo reattivo del CoA che lega gli acili è l'SH di questa β -mercatoetilammina.

Quindi, la sintesi degli acidi grassi inizia con una condensazione tra una molecola di Acetil-CoA e una

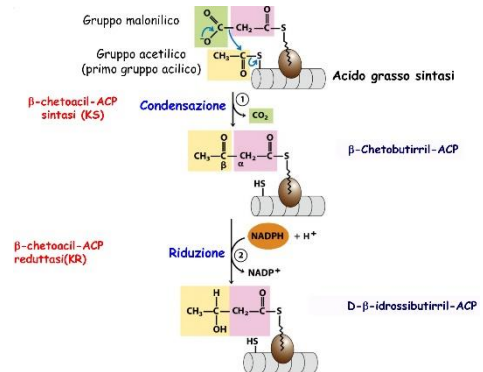


malonil/acetil-CoA ACP trasferasi

molecola di Malonile. Per poter legare i residui SH, uno dell'ACP e l'altro del KS, interviene il dominio transferasico MAT, che lega una molecola di acetile alla sintasi e una molecola di Malonile all'ACP. Una volta che le due molecole sono state legate ai rispettivi domini enzimatici, si ha la

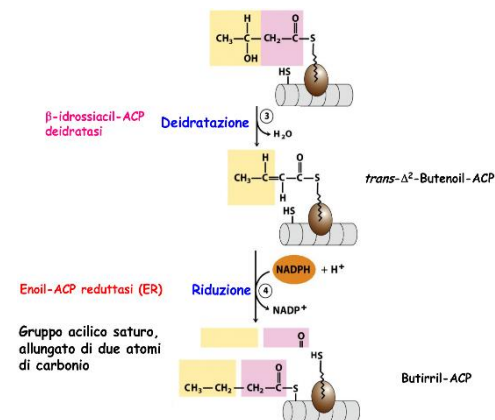
condensazione tra

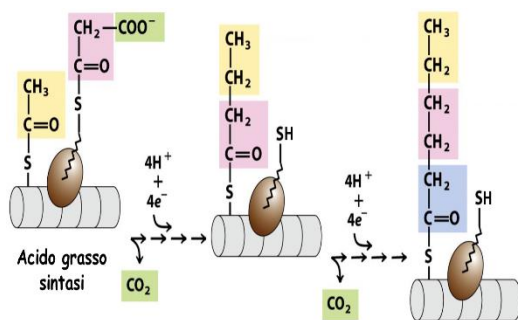
Malonile e l'acetile nell'attacco nucleofilo del Malonile sul legame tioestere dell'acetile. Ciò porta alla fuoriuscita di una molecola di CO_2 e alla formazione sull'ACP di un acido grasso a 4 atomi di carbonio: il β -chetobutiril-ACP (*in poche parole: l'attacco nucleofilo del Malonile, ovvero il gruppo che cede un doppietto elettronico, che in questo caso è COO^- , esce per condensazione, permettendo il legame tra il Malonile e quel gruppo dell'acetile che crea un legame tioestere; così facendo legato all'ACP vi sarà un acido grasso*).



Successivamente alla condensazione del primo composto si susseguono le tre reazioni: **ossidoriduzione, deidratazione e ossidoriduzione**.

1. La prima è una **reazione di riduzione** dove il donatore degli equivalenti di riduzione è il NADPH e quindi si ha la riduzione di questo gruppo chetonico in ossidrilico: il **D- β -idrossibutiril-ACP**.
2. Successivamente vi è un fenomeno di **deidratazione** (fuoriuscirà quindi una molecola di H_2O), che porta alla formazione di un doppio legame tra il carbonio α e il carbonio β , si formerà quindi il **trans- Δ^2 -Butenoil-ACP**
3. Infine, vi è una **seconda riduzione** del doppio legame, ad opera della seconda riduttasi, e quindi la formazione del **Butiril-ACP**.

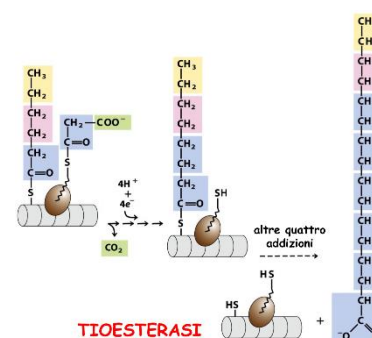




Una volta ottenuto il Butirrill-ACP, questo viene spostato sul dominio KS, quello che inizialmente era occupato dall'Acetil-CoA, liberando così il dominio dell'ACP che può legare una seconda molecola di Malonil-CoA.

Gli enzimi della sintesi, proprio come quelli della degradazione, funzionano ciclicamente: si ha l'aggiunta ciclica di unità bicarboniose. Quindi, una volta formato il primo acido grasso a 4 atomi di carbonio, questo è trasferito su un dominio KS e sul dominio ACP arriva una nuova molecola di Malonil-CoA, che si condensa con la molecola legata su KS, subendo nuovamente le reazioni di riduzione, deidratazione e riduzione.

Chiaramente ogni volta che questo meccanismo viene ripetuto si allunga l'acido grasso, fino ad arrivare, nel caso del **palmitato**, alla formazione di un acido grasso a 16 atomi di carbonio legato a KS. Interviene, a questo punto la Tioesterasi, ultima attività enzimatica dell'acido grasso sintasi, che rompe il legame tioestere e libera l'acido grasso.



Chiaramente la sintesi del composto necessita di energia maggiore rispetto a quella che si ottiene dalla degradazione, questo perché per ottenere una molecola di palmitato noi abbiamo bisogno di: Acetil-CoA, 7 Malonil-CoA, 14NADPH e 14 H⁺, mentre per ottenere 7 molecole di Malonil-CoA abbiamo bisogno di rompere sette molecole di ATP.



Desaturazione ed allungamento degli ACIDI GRASSI



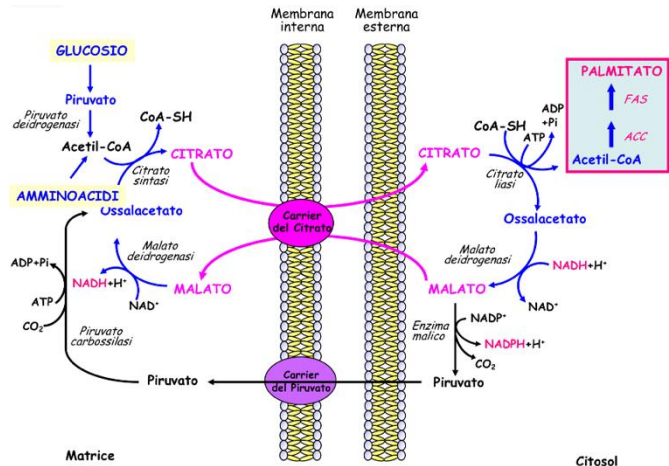
Le desaturazioni si ottengono per opera di ossidasi a funzione mista

Ovviamente il palmitato non è l'unico acido grasso presente nel nostro organismo, per questo avverranno alcuni fenomeni di allungamento o desaturazione che permetteranno la sintesi di altri acidi grassi come l'oleato o acidi arachidonici ecc.

Per far sì che la sintesi avvenga vi è però un problema da risolvere: **“Cosa serve per effettuare effettivamente la sintesi degli acidi grassi?”**

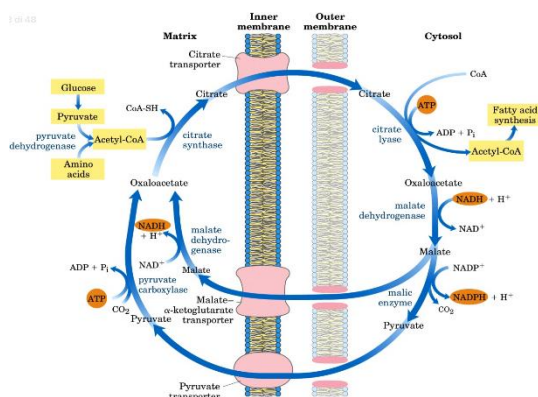
Risposta: l'Acetil CoA, sintetizzato per mezzo del piruvato deidrogenasi presente nella matrice mitocondriale, deve essere trasportato nel citoplasma per mezzo di un sistema shuttle, il quale sposta a cavallo delle membrane solo il substrato che serve.

A livello mitocondriale l'Acetil-CoA, che è stato formato prevalentemente dalla degradazione del glucosio o dalla degradazione degli amminoacidi, è destinato al ciclo di Krebs, il quale inizia con la condensazione tra l'Acetil-CoA e l'Ossalacetato per ottenere **citrato** (sintetizzato dal **citrato sintasi**). Sulla superficie della membrana mitocondriale interna è presente un trasportatore di citrato dalla matrice mitocondriale verso il citoplasma, qui avviene la reazione inversa del citrato sintasi per mezzo di un enzima apposito: il **citrato liasi**, il quale porta alla formazione di Acetil-CoA e Ossalacetato. Per poter sintetizzare Acetil-CoA e Ossalacetato è necessaria l'idrolisi dell'ATP, poiché il legame tioestere dell'Acetil-CoA è un legame ad alto contenuto energetico. Svolto il suo ruolo, lo scopo del citrato liasi viene raggiunto: l'Acetil-CoA è nel citosol. A questo punto, però, l'Ossalacetato presente nel citosol deve tornare nella matrice mitocondriale:



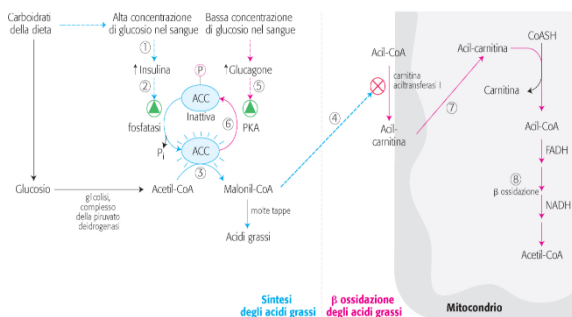
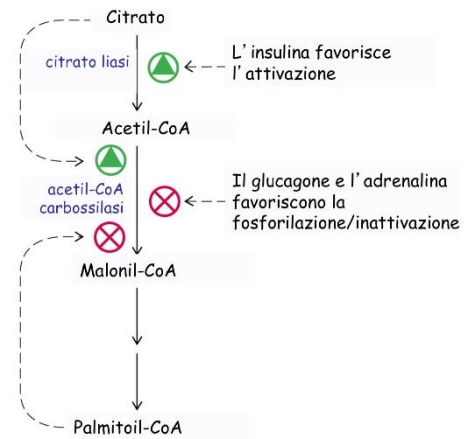
- 1) Possibilità di trasformare l'Ossalacetato in **Malato** per mezzo del **malato deidrogenasi citosolica**, ciò avviene perché il carrier del citrato è in grado di fare un contro-trasporto tra citrato e malato. Tornato nel mitocondrio, la malato deidrogenasi trasformerà il malato in Ossalacetato
- 2) Possibilità di seguire una seconda strada nel caso della sintesi degli acidi grassi. Partendo da malato si può ottenere, tramite l'**enzima malico** (enzima considerato reazione anapleotica del ciclo di Krebs, poiché sintetizza il piruvato e utilizza come coenzima il NADP che viene ridotto in NADPH), il **piruvato**. Questo ha un suo trasportatore che lo riporta nella matrice mitocondriale e successivamente, per mezzo del **piruvato carbossilasi**, viene trasformato in Ossalacetato.

Tra le due, per la sintesi degli acidi grassi, è più vantaggioso il trasporto del piruvato perché rilascia il NADPH che verrà poi usato per la sintesi.



Sul Leningher è riportato che il malato, invece di rientrare con il citrato, rientra per mezzo del trasportatore **alfa-chetoglutarato-malato**. Questa **via non è corretta** perché se il malato rientrasse in questo modo, è vero che il malato tornerebbe nella matrice mitocondriale, ma è vero anche che avremmo spostato il chetoglutarato nel citosol e quindi l'alfachetoglutarato non funzionerebbe.

La via di sintesi degli acidi grassi è ovviamente regolata, è regolata sulla sintesi del Malonil-CoA (poiché è la tappa più dispendiosa); quindi l'enzima che viene regolato nella via degli acidi grassi è l'Acetil-CoA carbossilasi, che sintetizza il Malonil-CoA. Tale enzima viene inibito da alte concentrazioni di acidi grassi e viene invece attivato dal citrato, inoltre subisce anche una regolazione di tipo covalente, ovvero una regolazione da parte di insulina e glucagone (l'insulina su questo enzima agisce in maniera positiva, poiché quest'ormone agisce su tutte le sintesi ad eccezione della glicolisi). Ovviamente il glucagone inibisce l'enzima mentre l'insulina lo attiva insieme al citrato liasi, che è l'enzima che determina la sintesi di Ossalacetato e Acetil-CoA quando il citrato è trasportato nel citosol.



Questa è la concomitante regolazione della sintesi e della degradazione degli acidi grassi. La parte di dx ci dice che la degradazione degli acidi grassi è regolata dal Malonil-CoA, che agisce sull'enzima **carnitina aciltransferasi I** e poiché il Malonil-CoA è il substrato della carbossilasi ed è il primo substrato della sintesi, è ovvio che quando il Malonil aumenta si attiva la sintesi e si blocca la degradazione: in maniera indiretta, poiché l'enzima è regolato non solo

allostericamente, ma anche per via ormonale, insulina e glucagone regolano anche la degradazione degli acidi grassi regolando la sintesi del Malonil-CoA.