

METABOLISMO LIPIDICO

Il Ciclo di Krebs non è solo il punto di arrivo del metabolismo glucidico, ma è anche il punto di arrivo del **metabolismo lipidico**. I lipidi hanno un potere di sintesi di ATP superiore a quello dei glucidi.

DIGESTIONE, MOBILIZZAZIONE E TRASPORTO DEGLI ACIDI GRASSI

Le cellule possono ottenere il combustibile metabolico sotto forma di acidi grassi da tre fonti:

- Ingestione dalla dieta
- Deposito nelle cellule sotto forma di goccioline
- Lipidi sintetizzati da un organo ed esportati in un altro

I vertebrati ingeriscono grassi con la dieta, mobilizzano i lipidi di riserva in tessuti specializzati (es. tessuto adiposo) e convertono i carboidrati in eccesso in grasso nel fegato, che poi li esporta in altri tessuti.

Digestione degli acidi grassi

Nei vertebrati, prima che possano essere assorbiti attraverso la parete intestinale, i trigliceridi ingeriti devono essere convertiti da particelle di grasso macroscopiche insolubili in goccioline microscopiche finemente disperse.

1) I **sali biliari** emulsionano i grassi nell'intestino tenue, formando goccioline miste.

La **cistifellea** è una sacca aggrappata esternamente al duodeno e contiene i sali biliari. Quando ingeriamo lipidi, lo stomaco induce la produzione una proteina che fa produrre sali biliari alla cistifellea e li fa immettere nel duodeno. È importante che vengano prodotti sali biliari, perché devono essere prodotte delle goccioline lipidiche che devono interagire con interazioni idrofobiche, respingendo l'ambiente acquoso in cui si trovano ed è ovvio che una goccia lipidica ha una superficie complessiva molto minore rispetto alla goccia completamente in soluzione, ma l'insieme delle goccioline ha una superficie maggiore della grossa goccia di partenza.

2) Le **lipasi intestinali** degradano i **trigliceridi**.

I grassi vengono emulsionati dai sali biliari e a questo punto intervengono le **lipasi**, che sono enzimi prodotti a livello pancreatico e vengono immessi nel duodeno. Le lipasi hanno la funzione di degradare i trigliceridi in acidi grassi e glicerolo.

3) Gli **acidi grassi** e altri prodotti della degradazione penetrano nella mucosa intestinale e vengono convertiti in trigliceridi.

Gli acidi grassi e il glicerolo percorrono la loro strada, finché a livello intestinale (ovviamente nella parte intestinale post-duodeno) vengono assorbiti. Essi entrano nella cellula sotto forma di glicerolo e acidi grassi e, all'interno della mucosa intestinale, si riforma la molecola di trigliceride. La mucosa intestinale assorbe anche il colesterolo, questo, però, non subisce prelievi modificazioni, come avviene per i trigliceridi.

4) I trigliceridi vengono incorporati, insieme a **colesterolo** e **apolipoproteine**, nei **chilomicroni**.

Nella mucosa intestinale vengono riformati i trigliceridi, che vengono assemblati in strutture più complesse che sono le **lipoproteine**, perché non possono viaggiare nel torrente sanguigno come semplici trigliceridi. Questa prima struttura lipoproteica che viene prodotta dalla mucosa intestinale prende il nome di **chilomicrone**, una molecola di cui il nostro sangue è ricco soprattutto dopo i pasti ricchi di lipidi. Il chilomicrone consiste in trigliceridi a cui viene aggiunta una proteina, che è presente a livello della superficie del chilomicrone. I trigliceridi e il colesterolo sono molecole estremamente idrofobiche e hanno bisogno di utilizzare dei trucchi per vincere l'ambiente acquoso del sangue. Uno di questi trucchi è di mettere insieme le molecole idrofobiche in una struttura che diverrà idrofila e, per fare in modo che questa struttura se la cavi in maniera discreta, la stessa deve essere rivestita da proteine. Le proteine, oltre a conferire le funzioni di lipoproteine, conferiscono polarità e idrofilia a questa struttura, consentendogli di muoversi nell'organismo.

5) I chilomicroni arrivano ai tessuti del corpo attraverso il sistema linfatico e il flusso sanguigno. Dopo la trasformazione in chilomicroni, queste lipoproteine escono dall'intestino ed entrano nel torrente circolatorio.

6) La **lipoproteinlipasi** attivata nei capillari converte i trigliceridi in acidi grassi e glicerolo.

Sulla parete dei vasi, e in particolare sulla parete dei vasi a contatto con le cellule adipose, c'è un enzima che è la lipoproteinlipasi, un enzima che ha la funzione di agire sui chilomicroni e di rompere ancora quei legami che erano stati rotti prima e che sono stati riformati (legami tra glicerolo e acidi grassi). I chilomicroni, a livello dell'endotelio capillare, rilasciano glicerolo e acidi grassi.

7) Gli acidi grassi entrano nella cellula.

Questi due tipi di molecole vengono assorbiti a livello della cellula adiposa e vanno a ricostituire i trigliceridi

8) Gli acidi grassi vengono ossidati per ricavarne energia o riesterificati per essere conservati.

Se è necessario utilizzare immediatamente il trigliceride, questi acidi grassi potranno non entrare nella cellula, ma andare direttamente a livello del tessuto che li necessita (es. muscolo), per essere utilizzati immediatamente per produrre ATP.

Mobilizzazione degli acidi grassi

I grassi vengono depositati negli adipociti sotto forma di goccioline lipidiche, con un nucleo costituito da esteri degli steroli e da trigliceridi circondati da uno strato di fosfolipidi. La superficie di queste gocce è rivestita da **peripiline**, una famiglia di proteine che limita l'accesso alle gocce lipidiche, evitando che possa avvenire l'intempestiva mobilizzazione dei lipidi. Quando gli ormoni segnalano una carenza di energia metabolica, i trigliceridi depositati dal tessuto adiposo vengono mobilizzati e trasferiti a quei tessuti dove gli acidi grassi possono essere ossidati per produrre energia. Gli ormoni **adrenalina** e **glucagone**, secreti in risposta a una bassa concentrazione di glucosio nel sangue, attivano l'adenilato ciclasi, che produce il secondo messaggero intracellulare **cAMP**. La **proteina chinasi A cAMP-dipendente (PKA)** determina l'apertura della gocciolina lipidica, rendendola così accessibile all'azione di tre lipasi, rilasciando glicerolo e acidi grassi.

Gli acidi grassi così rilasciati diffondono fuori dall'adipocita nel sangue, dove si legano all'**albumina**. Questa proteina, che costituisce circa la metà di tutte le proteine del siero del sangue, lega fino a 10 molecole di acido grasso per monomero proteico mediante interazioni deboli. Una volta associati a questa proteina solubile, gli acidi grassi, molecole altrimenti insolubili in acqua, sono trasportati ai tessuti che li necessitano (es. muscolo). Qui gli acidi grassi si dissociano dall'albumina e sono trasferiti da trasportatori, posti sulla membrana plasmatica, nel citosol della cellula dove sono usati come combustibile metabolico.

Trasporto degli acidi grassi

Nelle cellule degli animali, gli enzimi coinvolti nell'ossidazione degli acidi grassi sono localizzati nella matrice mitocondriale. Gli acidi grassi con catene non più lunghe di 12C possono entrare nei mitocondri senza l'aiuto di trasportatori di membrana. Gli acidi grassi con 14C o più C, che costituiscono la maggior parte degli acidi grassi liberi ottenuti dalla dieta o rilasciati dal tessuto adiposo, non possono passare direttamente attraverso la membrana mitocondriale, ma devono prima subire una serie di tre reazioni enzimatiche dette **sistema navetta (o shuttle) della carnitina**.

1) **Tioesterificazione con il CoA** (acil-CoA sintetasi): l'**acil-CoA sintetasi** catalizza la formazione di un legame tioestere tra il gruppo carbossilico dell'acido grasso e il gruppo tiolico del coenzima-A, formando un **acil-CoA**. Contemporaneamente, l'ATP subisce una scissione in AMP e PP. La reazione avviene in due tappe e coinvolge la formazione di un intermedio acil-adenilato.



Gli acil-CoA, come l'acetil-CoA, sono composti ad alta energia; la loro idrolisi ad acidi grassi liberi e CoA ha una variazione di energia libera standard molto negativa. La formazione degli 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.

2) **Transesterificazione con carnitina e successivo trasporto** (carnitina aciltrasferasi I): 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 i lipidi di membrana. Gli acidi grassi destinati all'ossidazione nei mitocondri sono legati transitoriamente al gruppo ossidrilico della **carnitina**, formando **acil-carnitina**, la seconda reazione del sistema navetta.

Questa transesterificazione è catalizzata dalla **carnitina aciltrasferasi I** presente sulla membrana mitocondriale esterna. 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. La membrana interna è ricca di trasportatori perché è selettiva, quindi non lascia passare facilmente le sostanze. La membrana esterna non è per nulla selettiva, infatti ha dei pori che consentono alle sostanze di raggiungere lo spazio intramembrana.

3) **Transesterificazione con CoA** (carnitina aciltrasferasi II): il gruppo acilico viene trasferito enzimaticamente dalla carnitina al coenzima-A intramitocondriale ad opera della **carnitina aciltrasferasi II**. Questo enzima è localizzato sulla faccia interna 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 tre tappe per il trasferimento degli acidi grassi nel mitocondrio ha l'effetto di mantenere separato il coenzima-A citosolico da quello mitocondriale, in quanto essi hanno funzioni diverse nei due compartimenti. Il coenzima-A mitocondriale è coinvolto nella degradazione ossidativa, mentre il coenzima-A citosolico viene usato per la biosintesi degli acidi grassi. L'**acil-CoA** del compartimento citosolico può essere utilizzato per la sintesi di lipidi della membrana o può essere trasferito nella matrice mitocondriale per essere ossidato e produrre ATP. La conversione del tioestere nell'estere della carnitina indirizza la parte acilica al destino ossidativo.

OSSIDAZIONE DEGLI ACIDI GRASSI

L'ossidazione mitocondriale degli acidi grassi ha luogo in tre fasi:

1) **β -ossidazione**: gli acidi grassi vanno incontro alla rimozione ossidativa di unità bicarboniose sotto forma di acetil-CoA. Per esempio, l'acido palmitico a 16C subisce 7 passaggi della sequenza ossidativa, perdendo in ogni passaggio un'unità bicarboniosa come acetil-CoA. Alla fine dei 7 cicli, anche gli ultimi 2C dell'acido grasso (in origine gli atomi C-15 e C-16) diventano acetil-CoA. Il risultato complessivo è la conversione della catena a 16C dell'acido palmitico in 8 molecole di acetil-CoA. Durante la formazione di ogni molecola di acetil-CoA vengono rimossi 4H (due coppie di elettroni e $4H^+$) dal gruppo acilico.

2) **Ciclo di Krebs**: l'unità acetilica dell'acetil-CoA viene ossidata a CO_2 nel Ciclo di Krebs, anch'esso localizzato nella matrice dei mitocondri. L'acetil-CoA prodotto dall'ossidazione degli acidi grassi entra, quindi, in una via di ossidazione comune, percorsa anche dall'acetil-CoA prodotto dal glucosio attraverso la glicolisi e l'ossidazione del piruvato. Sia questa fase che la precedente riducono i trasportatori di elettroni NAD^+ e FAD a NADH e $FADH_2$.

3) **Catena respiratoria**: questi coenzimi donano alla catena respiratoria dei mitocondri gli elettroni che hanno ricevuto. Attraverso questa via gli elettroni arrivano all'ossigeno con la concomitante fosforilazione di ADP ad ATP. L'energia rilasciata dall'ossidazione degli acidi grassi viene quindi conservata sotto forma di ATP.

Ossidazione degli acidi grassi saturi

La β -ossidazione degli acidi grassi saturi avviene in quattro fasi:

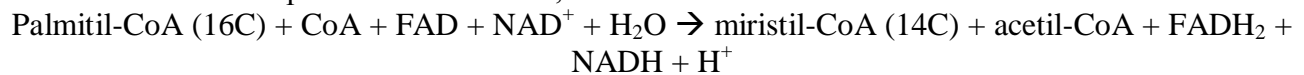
1) **Deidrogenazione**: produce un doppio legame tra C- α e C- β (C-2 e C-3). Il doppio legame appena formato è nella configurazione *trans*, mentre gli acidi grassi presenti in natura normalmente hanno doppi legami nella configurazione *cis*, quindi deve essere trasformato. Gli elettroni rimossi dall'acil-CoA sono trasferiti al FAD, con la formazione di FADH₂, e la forma ridotta della deidrogenasi dona immediatamente questi elettroni a un trasportatore di elettroni della catena respiratoria mitocondriale.

2) **Idratazione**: viene aggiunta una molecola d'acqua al doppio legame *trans*.

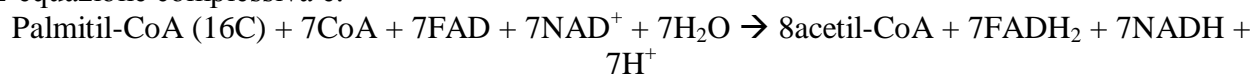
3) **Deidrogenazione**: produce un nuovo doppio legame tra C- β e un ossigeno. Gli elettroni rimossi sono trasferiti al NAD⁺, con la formazione di NADH.

4) **Tiolisi** (tiolasi): il β -chetoacil-CoA reagisce con una molecola di CoA libera, staccando un frammento a 2C sotto forma di acetil-CoA. L'altro prodotto della reazione è il tioestere dell'acido grasso con il CoA, ora accorciato di 2C.

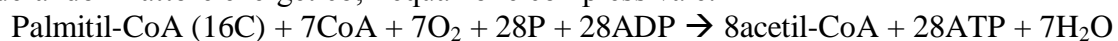
Attraverso la sequenza di reazioni della β -ossidazione degli acidi grassi vengono rimosse dalla catena dell'acil-CoA due coppie di elettroni, 4H⁺ e una molecola di acetil-CoA. La catena ciclica originale si accorcia di 2C. L'equazione complessiva di un passaggio, che inizia nel nostro esempio dell'estere dell'acido palmitico con il CoA, è:



Dopo la rimozione della prima unità di acetil-CoA dal **palmitil-CoA**, il nuovo tioestere del CoA contiene una catena acilica accorciata, in questo caso un acile a 14C (il miristile). Il **miristil-CoA** entra nella sequenza di reazioni della β -ossidazione, subendo quattro reazioni, identiche alla prima, che producono una seconda molecola di acetil-CoA e il **lauril-CoA** (12C), un tioestere del CoA con l'acile laurile a 12C. complessivamente sono necessari 7 cicli della sequenza di reazioni della β -ossidazione per ossidare una molecola di palmitil-CoA, generando 8 molecole di acetil-CoA. L'equazione complessiva è:



Considerando il fattore energetico, l'equazione complessiva è:



Ossidazione degli acidi grassi insaturi

Molti degli acidi grassi dei trigliceridi e dei fosfolipidi degli animali e delle piante sono però insaturi, cioè possiedono uno o più doppi legami. Questi legami sono nella configurazione *cis* e sono resistenti all'azione dell'enzima che agisce nella reazione della β -ossidazione che aggiunge acqua per rompere il doppio legame tra C- α e C- β . Sono necessari altri due enzimi per la β -ossidazione degli acidi grassi insaturi: una isomerasi e una reduttasi.

- Ossidazione degli acidi grassi monoinsaturi: l'**acido oleico** è un acido grasso a 18C monoinsaturo, con il doppio legame *cis* tra gli atomi C-9 e C-10. Nella prima tappa dell'ossidazione, l'acido oleico viene convertito in **oleil-CoA** e, come gli acidi grassi saturi, entra nella matrice mitocondriale attraverso lo shuttle della carnitina. L'oleil-CoA va incontro a tre cicli della sequenza di reazioni della β -ossidazione, formando 3 molecole di acetil-CoA e un tioestere con il CoA dell'acido grasso a 12C. Questo composto non può subire un altro ciclo della β -ossidazione, in quanto l'enzima che dovrebbe agire, riconosce soltanto doppi legami *trans*. A questo punto, un enzima converte il legame da *cis* a *trans*. Questo intermedio può ora proseguire nella sequenza di reazioni della β -ossidazione, formando acetil-CoA e un tioestere con il CoA dell'acido grasso saturo a 10C. Mediante altri quattro passaggi attraverso la sequenza di reazioni della β -ossidazione, anche quest'ultimo composto viene convertito in 5 molecole di CoA. Partendo da una molecola di acido oleico di 18C, si sono ottenute 9 molecole di acetil-CoA.

- Ossidazione degli acidi grassi poliinsaturi: l'**acido linoleico** è un acido grasso a 18C poliinsaturo, con due doppi legami *cis* tra gli atomi C-9 e C-10 e tra gli atomi C-12 e C-13. Il **linoeil-CoA** va incontro a tre cicli di β -ossidazione, formando 3 molecole di acetil-CoA e un tioestere con il CoA di

acido grasso a 12C, con una configurazione *cis* tra gli atomi C-3 e C-4 e tra gli atomi C-6 e C-7. Questo intermedio non può essere utilizzato dagli enzimi della β -ossidazione. I suoi doppi legami sono nella posizione non corretta e hanno la configurazione sbagliata (*cis*, invece che *trans*). L'azione combinata di una enzima con una reduttasi consente a questo intermedio di rientrare nella via della β -ossidazione e di essere degradato a 6 molecole di acetil-CoA. Il risultato complessivo è la conversione dell'acido linoleico in 9 molecole di acetil-CoA.

Ossidazione degli acidi grassi con C dispari

La maggior parte dei lipidi presenti in natura contiene acidi grassi con un numero pari di C, mentre gli acidi grassi a catena dispari sono presenti in quantità significative nei lipidi delle piante e in alcuni organismi marini. I ruminanti producono grandi quantità dell'acido a 3C chiamato **acido propionico**, durante la fermentazione dei carboidrati nel rumine. L'acido propionico viene assorbito nel sangue e ossidato nel fegato e in altri tessuti.

Gli acidi grassi a catena lunga con un numero dispari di C sono ossidati nello stesso modo degli acidi grassi a catena pari. Il substrato che entra nell'ultimo ciclo della β -ossidazione è però un acido grasso a 5C. quando viene ossidato e poi scisso in due frammenti, i prodotti sono da una parte l'acetil-CoA e dall'altra il **propionil-CoA**. L'acetil-CoA viene poi ossidato nel Ciclo di Krebs, mentre il propionil-CoA entra in una via insolita, costituita da tre reazioni enzimatiche:

1) **Carbossilazione del propionil-CoA in D-metilmalonil-CoA**: il propionil-CoA viene carbossilato in metilmalonil-CoA dalla biotina, nello stesso modo che avviene per il piruvato. La CO_2 viene attivata dal legame alla biotina e poi trasferita al substrato, in questo caso l'acido propionico. La formazione dell'intermedio carbossibiotina richiede energia, fornita dalla scissione dell'ATP in ADP e P.

2) **Epimerizzazione del D-metilmalonil-CoA in L-metilmalonil-CoA**: il legame tra C e CoA cambia di posizione con un H.

3) **Mutazione del L-metilmalonil-CoA in Succinil-CoA**: l'L-metilmalonil-CoA va incontro a un riarrangiamento intramolecolare, formando succinil-CoA, che entra nel Ciclo di Krebs. Questo riarrangiamento è catalizzato da un enzima che ha come coenzima un derivato della **vitamina B₁₂**.

Regolazione dell'ossidazione degli acidi grassi

Poiché l'ossidazione degli acidi grassi consuma sostanze nutrienti importanti, questo processo è sottoposto a regolazione in modo che si possa attivare solo quando la cellula richiede energia. Nel fegato, gli acil-CoA sintetizzati a livello citosolico possono andare incontro a due destini:

- La β -ossidazione da parte di enzimi presenti nei mitocondri.
- La conversione a trigliceridi o fosfolipidi da parte degli enzimi presenti nel citosol.

La via metabolica scelta dipende dalla velocità di trasferimento degli acil-CoA a catena lunga nei mitocondri. Il processo a tre tappe (shuttle della carnitina), che trasferisce gli acili dal citosol nella matrice mitocondriale, limita la velocità di ossidazione degli acidi grassi e rappresenta un importante punto di regolazione. Una volta entrato nella matrice mitocondriale, l'acido grasso è ormai destinato all'ossidazione ad acetil-CoA.

La concentrazione del **malonil-CoA**, il primo intermedio della biosintesi citosolica degli acidi grassi a catena lunga a partire dall'acetil-CoA, aumenta quando l'animale è ben rifornito di carboidrati. L'eccesso di glucosio, che non può essere ossidato o conservato sotto forma di glicogeno, viene convertito in acidi grassi che sono poi conservati come trigliceridi. L'inibizione della carnitina aciltrasferasi I da parte del malonil-CoA assicura che l'ossidazione degli acidi grassi sia inibita quando il fegato dispone di molto glucosio come combustibile e quando sta sintetizzando trigliceridi dall'eccesso di zucchero.

Due enzimi coinvolti nella β -ossidazione sono regolati anche da meccanismi che segnalano un'abbondanza energetica. Quando il rapporto tra NADH e NAD^+ è elevato, la β -idrossiacil-CoA deidrogenasi viene inibita; inoltre le concentrazioni elevate di acetil-CoA inibiscono la tiolasi.

Durante l'esercizio fisico intenso, o durante il digiuno, la diminuzione della concentrazione di ATP e l'aumento della concentrazione dell'AMP attivano l'AMPK, una chinasi attivata dall'AMP. Questo enzima fosforila molti enzimi bersaglio, fra cui l'acetil-CoA carbossilasi che catalizza la sintesi del malonil-CoA. La fosforilazione inibisce l'acetil-CoA carbossilasi e determina una diminuzione della concentrazione del malonil-CoA, rimuovendo l'inibizione del trasporto dell'acil-carnitina nei mitocondri; la β -ossidazione può così riprendere e contribuisce a ripristinare i livelli di ATP.

Bilancio energetico della β -ossidazione

Gli 8 acetili danno origine a 24 NADH e 8 FADH₂.

In totale si hanno:

- 24NADH + 7NADH = 31NADH

- 8FADH₂ + 7FADH₂ = 15FADH₂

Si formano:

- 77.5ATP dal NADH

- 22.5ATP dal FADH₂

Si ottengono **100ATP** in totale.

CORPI CHETONICI

Un destino alternativo per l'acetil-CoA è la sintesi di **corpi chetonici** nel fegato (**chetogenesi**). I corpi chetonici sono tre, due dei quali derivano da uno dei tre:

- Acetoacetato

- Acetone
- β -idrossibutirrato

L'acetone, prodotto in piccole quantità rispetto agli altri corpi chetonici, viene eliminato con la respirazione, perché è volatile. L'acetoacetato e il β -idrossibutirrato sono trasportati dal sangue ai tessuti extraepatici, dove sono ossidati nel Ciclo di Krebs per soddisfare la richiesta energetica di tessuti come il muscolo scheletrico, il cuore e la corteccia renale. Il cervello preferisce di norma il glucosio, ma, in condizioni di digiuno prolungato, quando il glucosio non è più disponibile, può adattarsi a usare acetoacetato e β -idrossibutirrato. La produzione e l'esportazione dei corpi chetonici dal fegato ai tessuti extraepatici consente di continuare l'ossidazione degli acidi grassi nel fegato quando l'acetil-CoA non viene ossidato dal Ciclo di Krebs.

Deposito energetico (fattore positivo dei corpi chetonici)

I corpi chetonici hanno dei forti aspetti positivi, perché sono di fatto una forma di deposito energetico, un deposito che non avviene in un organo specifico, come nel caso del glicogeno nel fegato o dei trigliceridi nel tessuto adiposo, ma avviene nel sangue e vengono rapidamente utilizzati quando ce n'è bisogno.

Il β -idrossibutirrato sintetizzato nel fegato viene trasportato dal flusso sanguigno agli altri tessuti, dove viene convertito in tre tappe in acetil-CoA. Il β -idrossibutirrato viene prima trasformato in acetoacetato e in seguito attivato mediante il legame al CoA donato dal succinil-CoA, formando **acetoacetil-CoA**. La tappa finale è la scissione dell'acetoacetil-CoA in due molecole di acetil-CoA per mezzo della tiolasi. L'acetil-CoA così formato viene usato per produrre energia.

Diabete (fattore negativo dei corpi chetonici)

Il digiuno prolungato e il diabete portano alla sovrapproduzione di corpi chetonici, che generano a loro volta alcuni problemi medici.

Durante il digiuno, la gluconeogenesi sottrae intermedi al Ciclo di Krebs, indirizzando l'acetil-CoA verso la produzione di corpi chetonici. L'acetil-CoA viene indirizzato a compiere questa azione dal glucagone che cerca di estrapolare glucosio dagli epatociti, ma, dato che è assente, costringe l'acetil-CoA alla produzione di corpi chetonici.

Nel diabete, l'insulina è presente in quantità insufficienti e i tessuti extraepatici non possono assumere glucosio dal sangue per usarlo come combustibile o per convertirlo in grassi di riserva. In queste condizioni, il malonil-CoA (il materiale di partenza per la sintesi di acidi grassi) non si forma e quindi la carnitina aciltrasferasi I non viene inibita. Gli acidi grassi entrano, quindi, nei mitocondri per essere degradati ad acetil-CoA, che però non può essere ossidato attraverso il Ciclo di Krebs, in quanto alcuni intermedi del Ciclo stesso sono stati sottratti per la glucoenogenesi. L'accumulo di acetil-CoA provoca una produzione di corpi chetonici in quantità superiori alle capacità degli organi extraepatici di utilizzarli. L'aumento di acetoacetato e di β -idrossibutirrato abbassa il pH del sangue (perché sono acidi), generando una condizione nota con il nome di **acidosi**. Se si immette un acido nell'organismo, entrano in azione i poteri tampone dei tamponi fisiologici organici (es. proteine) e inorganici (es. fosfato e bicarbonato). I tamponi hanno il compito di abbassare il livello degli ioni H^+ nel sangue. In particolare, i tamponi inorganici, in presenza di acidi, li neutralizzano e li trasformano in sali neutri dei corpi chetonici. Questi tamponi, però, se continuano a neutralizzare corpi chetonici, diminuiscono e non ce ne sono abbastanza per future neutralizzazioni, quindi il sangue si acidifica e va incontro ad acidosi. Questi sali vengono eliminati con le urine, ma, se ce ne sono troppi, aumentano la densità dell'acqua e il filtrato renale non viene assorbito nella concentrazione corretta, quindi l'acqua non viene assorbita completamente, perché, appunto, aumenta il peso specifico delle urine, che è maggiore rispetto a quello dell'acqua. L'acidosi estrema porta al coma e in alcuni casi alla morte. I corpi chetonici possono raggiungere, nel sangue e nelle urine dei soggetti diabetici, concentrazioni molto elevate. Questa condizione viene detta **chetosi**. Negli individui che seguono diete ipocaloriche, gli acidi grassi del tessuto adiposo diventano la principale fonte di energia. In questi casi bisogna controllare i livelli dei corpi chetonici nel sangue e nelle urine, che in queste condizioni aumentano, per evitare il pericolo di acidosi e di chetosi.

SINTESI DEGLI ACIDI GRASSI

Dato che l'ossidazione degli acidi grassi avviene mediante la rimozione di unità bicarboniose successive, si potrebbe pensare che la biosintesi degli acidi grassi possa essere semplicemente l'inverso delle tappe enzimatiche usate per l'ossidazione di questi composti. La biosintesi e la degradazione degli acidi grassi sono invece vie diverse, catalizzate da una serie di enzimi diversi e localizzate in compartimenti cellulari diversi (la biosintesi nel citosol e l'ossidazione nel mitocondrio). Inoltre, l'intermedio a 3C **malonil-CoA** partecipa alla biosintesi degli acidi grassi, ma non entra nella via degradativa.

Il palmitato è il principale prodotto del complesso dell'acido grasso sintasi nelle cellule animali ed è il precursore degli acidi grassi a catena lunga. Questo acido grasso può essere allungato per formare stearato (18C) o acidi grassi a catena ancora più lunga, mediante l'aggiunta successiva di unità acetiliche, catalizzata dal **sistema di allungamento degli acidi grassi**.

Formazione del malonil-CoA

La formazione del malonil-CoA dall'acetil-CoA è un processo irreversibile, catalizzato alla **acetil-CoA carbossilasi**, che ha come cofattore la **biotina**. La reazione, che avviene in due tappe, è molto simile alle altre reazioni di carbossilazione biotina-dipendenti, come quelle catalizzate dalla piruvato carbossilasi e dalla propionil-CoA carbossilasi. Il gruppo carbossilico, che deriva dal bicarbonato, viene prima trasferito alla 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 due malonil-CoA.

Complesso multienzimatico

In tutti gli organismi, le lunghe catene carboniose degli acidi grassi vengono sintetizzate mediante una sequenza di quattro tappe che si ripetono, 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. In ogni passaggio attraverso questa via anabolica, la catena dell'acido grasso si allunga di 2C.

Sia il cofattore trasportatore di elettroni, sia i gruppi attivati impegnati nella sequenza di reazioni anaboliche, differiscono da quelli del processo catabolico ossidativo. Nelle β -ossidazione, infatti, il NAD^+ e il FAD fungono da accettori di elettroni e il gruppo attivatore è il tiolo (SH) del CoA. L'agente riducente nella via di biosintesi è, invece, il **NADPH** e i gruppi attivatori sono due differenti gruppi SH legati a due proteine enzimatiche.

I domini multipli del complesso multienzimatico agiscono come enzimi distinti, pur essendo tutti sulla stessa catena polipeptidica legati l'uno all'altro in sequenza. Il sito attivo di ciascun enzima si trova in domini separati nel lungo polipeptide. Attraverso il processo della sintesi degli acidi grassi, gli intermedi rimangono legati covalentemente come tioesteri a uno dei due gruppi tiolici:

- SH di un residuo di cisteina di uno dei due domini della sintasi.
- SH della proteina trasportatrice di acili (**ACP**), un dominio separato dello stesso polipeptide. L'ACP è la navetta che mantiene unito il sistema.

Il complesso varia nei diversi organismi viventi:

- Nei **batteri** il complesso è costituito da 6 enzimi strutturalmente correlati tra di loro, che avvolgono una settima proteina al centro delle prime 6, che è la proteina alla quale si attacca il braccio mobile che serve per trasportare il prodotto della reazione da un enzima all'altro.
- Nell'**uomo** la situazione è diversa. Le proteine non sono 6, ma sono una sola, che ha 6 attività catalitiche, cioè 6 domini che hanno attività catalitiche differenti.
- Nei **lieviti** ci sono 3 enzimi collocati nella stessa proteina, con tre attività enzimatiche collocate nella stessa proteina, e altre tre attività collocate in proteine differenti.

L'idrolisi del tioestere è notevolmente esoergonica e l'energia rilasciata serve a rendere termodinamicamente favoriti i due diversi passaggi di condensazione della sintesi degli acidi grassi.

Reazioni della biosintesi

Prima che abbiano inizio le reazioni di condensazione che portano alla sintesi dell'acido grasso, i due gruppi SH del complesso multienzimatico devono essere caricati con i due gruppi acilici corretti:

- SH di un residuo di cisteina di uno dei due domini della sintasi viene legato al gruppo malonilico del malonil-CoA.
- SH dell'ACP viene legato al gruppo acetilico dell'acetil-CoA.

Ora, i due gruppi acetilico e malonilico sono legati al complesso in forma attivata, per dare inizio e mandare avanti il processo di allungamento.

1) **Condensazione**: la prima reazione della via di biosintesi degli acidi grassi è una semplice condensazione, che coinvolge i gruppi acetilici e malonilici attivati, con formazione dell'**acetiacetil-ACP**, un gruppo acetoacetilico legato all'ACP tramite il gruppo SH della fosfopanteteina; allo stesso tempo si libera una molecola di CO_2 . In questa reazione il gruppo acetilico viene trasferito dal gruppo SH a cui era legato al gruppo malonilico del malonil-CoA legato all'altro SH dell'ACP, diventando l'unità bicarboniosa metil-terminale del gruppo acetoacetilico neosintetizzato.

Il C della CO_2 formata in questa reazione è lo stesso C che era stato introdotto nella molecola di malonil-CoA durante la reazione dell'acetil-CoA con il bicarbonato, catalizzata dall'acetil-CoA carbossilasi. Quindi, nella biosintesi degli acidi grassi, la CO_2 viene fissata covalentemente solo transitoriamente e viene allontanata quando nella catena carboniosa in fase di allungamento viene inserita un'unità bicarboniosa.

Nella β -ossidazione degli acidi grassi, la rottura del legame tra due gruppi acilici (il distacco di un'unità di acetil-CoA da una catena acilica) è notevolmente esoergonica; di conseguenza la condensazione di due gruppi acilici (es. due molecole di acetil-CoA) è una trasformazione notevolmente endoergonica. La reazione di condensazione viene resa termodinamicamente favorevole dall'uso di unità maloniliche attivate al posto dell'acetil-CoA. L'accoppiamento della

condensazione con la decarbossilazione del gruppo malonilico rende il processo nel suo complesso molto esoergonico.

Usando unità maloniliche attivate nella biosintesi degli acidi grassi e unità acetiliche attivate nella degradazione, le cellule sono in grado di rendere entrambi i processi termodinamicamente favorevoli, anche se uno è in effetti l'inverso dell'altro. L'energia necessaria a rendere favorevole la sintesi degli acidi grassi viene fornita dall'ATP consumato per la formazione di malonil-CoA a partire da acetil-CoA e bicarbonato.

2) **Riduzione del gruppo carbonilico:** l'acetiacetil-ACP, formato nella tappa di condensazione, subisce la riduzione del suo gruppo carbonilico presente sul C-3, trasformandosi in **β -idrossibutiril-ACP**. Questa reazione ha come donatore di elettroni il **NADPH**.

3) **Disidratazione:** da C-2 e C-3 del β -idrossibutiril-ACP viene mossa una molecola di acqua per formare un doppio legame nel prodotto, il **butenoil-ACP**.

4) **Riduzione del doppio legame:** il doppio legame del butenoil-ACP viene ridotto (saturato), producendo **butiril-ACP**. Anche questa reazione ha come donatore di elettroni il **NADPH**.

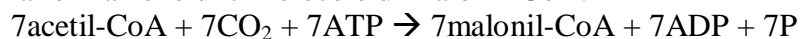
La formazione dell'acil-ACP saturo a 4C completa il primo passaggio attraverso il complesso dell'acido grasso sintasi.

5) Il gruppo butirrico viene ora trasferito dal gruppo SH dell'ACP al gruppo SH del residuo di cisteina di uno dei due domini della sintasi, che inizialmente era occupato dal gruppo acetilico.

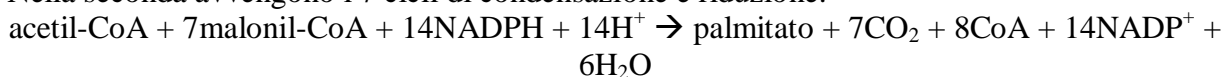
6) Per iniziare un nuovo ciclo delle quattro reazioni, necessario per allungare la catena di altri 2C, un altro malonile viene legato al gruppo SH dell'ACP ora libero. La condensazione avviene tra il gruppo butirrico, che si comporta esattamente come il gruppo acetilico nel primo ciclo, e 2C del malonile legato all'ACP; l'altro è perso sotto forma di CO₂. Il prodotto della reazione è un acile a 6C, legato covalentemente all'SH dell'ACP. Il suo gruppo β -chetonico viene ridotto nelle tre tappe successive, formando un acile saturo a 6C, come è accaduto nel precedente ciclo di reazioni.

Per produrre il palmitato a 16C, sempre legato all'ACP, sono necessari 7 cicli di reazioni di condensazione e di riduzione. In genere l'allungamento della catena termina a questo punto e il palmitato viene staccato dall'ACP per azione di un'attività idrolitica (tioesterasi) presente nella proteina multifunzionale. La reazione complessiva della sintesi del palmitato a partire dall'acetil-CoA può essere divisa in due parti:

1) Nella prima vi è la formazione di 7 molecole di malonil-CoA:

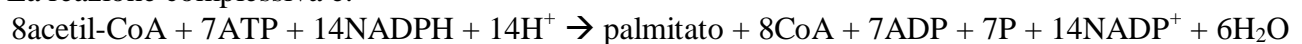


2) Nella seconda avvengono i 7 cicli di condensazione e riduzione:



Si noti che vengono prodotte solo 6 molecole di acqua, in quanto una molecola di acqua è utilizzata per idrolizzare il legame tioestere tra il palmitato, prodotto dalla reazione, e l'enzima.

La reazione complessiva è:



La biosintesi di un acido grasso come il palmitato richiede acetil-CoA e un rifornimento di energia chimica in due forme:

- Il potenziale di trasferimento di gruppo dell'ATP. L'ATP è necessario per legare la CO₂ all'acetil-CoA e produrre malonil-CoA.

- Il potere riducente del NADPH. Il NADPH è necessario per ridurre il gruppo chetonico β e i doppi legami.

Trasporto dell'acetato

Poiché la membrana mitocondriale interna è impermeabile all'acetil-CoA, il gruppo acetilico viene trasferito all'esterno dei mitocondri con un sistema navetta indiretto. L'acetil-CoA all'interno dei mitocondri reagisce con l'ossalacetato formando citrato nella prima reazione del Ciclo di Krebs, catalizzata dalla **citrato sintasi**. Il citrato passa poi nel citosol attraversando la membrana mitocondriale interna mediante il **trasportatore del citrato**. Nel citosol, il citrato viene scisso dalla

citrato liasi, che rigenera l'acetil-CoA; questa reazione è favorita da un apporto energetico fornito dall'ATP. L'ossalacetato non può rientrare direttamente nei mitocondri, in quanto non esiste un trasportatore in grado di promuoverne il trasferimento. Nel citosol, l'ossalacetato viene quindi ridotto dalla **malato deidrogenasi** a malato, che ritorna nella matrice mitocondriale mediante il trasportatore **malato- α -chetoglutarato** in cambio di citrato e viene riossidato a ossalacetato per completare il processo, tuttavia, la maggior parte del malato prodotto nel citosol viene usato per generare NADPH citosolico attraverso l'attività dell'**enzima malico**. Il piruvato prodotto viene trasportato nei mitocondri dal trasportatore del piruvato e riconvertito in ossalacetato dalla **piruvato carbossilasi** della matrice. Il ciclo metabolico che ne risulta comporta il consumo di 2 molecole di ATP (ad opera della citrato liasi e della piruvato carbossilasi) per ogni molecola di acetil-CoA che entra a far parte della sintesi degli acidi grassi. Dopo la scissione del citrato per generare l'acetil-CoA, conversione dei 4C rimanenti a piruvato e CO₂, catalizzata dall'enzima malico, fornisce circa la metà del NADPH necessario per la sintesi degli acidi grassi. La via del pentosio fosfato contribuisce a generare il rimanente NADPH necessario.

Regolazione

Quando una cellula o un organismo dispongono di una quantità di sostanze nutrienti sufficiente alle proprie esigenze energetiche, l'eccesso eventualmente presente viene convertito in acidi grassi e conservato sotto forma di lipidi, come i trigliceridi. La reazione catalizzata dall'acetil-CoA carbossilasi è la tappa che limita la velocità della biosintesi degli acidi grassi, e questo enzima è un importante sito di regolazione metabolica. Nei vertebrati, il palmitil-CoA, il principale prodotto della sintesi degli acidi grassi, si comporta da inibitore retroattivo dell'enzima e il citrato è invece il suo attivatore allosterico, che ne aumenta la V_{max} . Il citrato svolge un ruolo essenziale nell'invertire la direzione del metabolismo cellulare dal consumo (ossidazione) di sostanze nutrienti alla conservazione attraverso la sintesi degli acidi grassi. Quando all'interno dei mitocondri l'acetil-CoA e l'ATP aumentano, viene esportato **citrato**, che diventa il precursore dell'acetil-CoA citosolico e il segnale allosterico per l'attivazione dell'acetil-CoA carbossilasi. Allo stesso tempo il citrato inibisce l'attività della fosfofruttochinasi-1, riducendo il flusso degli C attraverso la glicolisi. L'acetil-CoA carbossilasi viene regolata anche mediante una modificazione covalente. La fosforilazione innescata dagli ormoni **glucagone** e **adrenalina** inattiva l'enzima e riduce la sua sensibilità all'attivazione del citrato, producendo l'arresto della sintesi degli acidi grassi. Nella sua forma attiva (defosforilata), l'acetil-CoA carbossilasi polimerizza in lunghi filamenti. La fosforilazione è accompagnata dalla dissociazione in monomeri e dalla perdita dell'attività catalitica.

Se la sintesi degli acidi grassi e la β -ossidazione potessero avvenire simultaneamente, i due processi genererebbero un ciclo futile, disperdendo energia. La β -ossidazione viene bloccata dal malonil-CoA, che inibisce la carnitina aciltrasferasi I. Quindi, durante la sintesi degli acidi grassi, la produzione del primo intermedio, il malonil-CoA, inibisce la β -ossidazione a livello del sistema di trasporto degli acidi presente nella membrana mitocondriale esterna.

SINTESI DEI TRIGLICERIDI E DEI GLICEROFOSFOLIPIDI

La maggior parte degli acidi grassi sintetizzati o ingeriti da un organismo va incontro a uno di questi due destini:

- Incorporazione nei trigliceridi per la conservazione della loro energia metabolica.
- Incorporazione nei fosfolipidi, i componenti delle membrane.

La scelta tra i due diversi destini, a cui possono andare incontro gli acidi grassi, dipende dalle necessità dell'organismo. Durante una rapida crescita la sintesi di nuove membrane genera una notevole richiesta di fosfolipidi; gli organismi che hanno soddisfatto il loro bisogno energetico e che non sono in una fase di crescita particolarmente attiva destinano molti degli acidi grassi verso la loro forma di conservazione. Entrambe le vie partono dallo stesso punto: la formazione di esteri del glicerolo con acidi grassi.

Precursori comuni di sintesi

Gli animali possono sintetizzare e conservare grandi quantità di trigliceridi da utilizzare in seguito come riserve energetiche.

I trigliceridi e i glicerofosfolipidi vengono prodotti nei tessuti animali a partire da due precursori, mediante una serie di reazioni enzimatiche:

- Acil-CoA: si forma dagli acidi grassi in una reazione catalizzata dall'acil-CoA sintetasi, lo stesso enzima che attiva gli acidi grassi per farli entrare nella β -ossidazione.
- Glicerolo 3-fosfato: si forma per la maggior parte nel citosol a partire dall'intermedio glicolitico **diidrossiacetone fosfato**, per azione della **glicerolo 3-fosfato deidrogenasi**. Una piccola quantità di glicerolo 3-fosfato si forma anche nel fegato e nel rene, dal glicerolo ad opera della **glicerolo chinasi**.

Sintesi dei trigliceridi

La prima fase della biosintesi dei trigliceridi è l'acilazione di due gruppi ossidrilici liberi di glicerolo 3-fosfato con 2 molecole di acil-CoA, per generare **diacilglicerolo 3-fosfato**, meglio conosciuto come **acido fosfatidico**. L'acido fosfatidico è presente solo in tracce nella cellula, ma è comunque un intermedio fondamentale per la sintesi dei lipidi. Esso può essere convertito in trigliceridi o in glicerofosfolipidi. Nella via che porta alla formazione dei trigliceridi, l'acido fosfatidico viene idrolizzato dalla **fosfatidato fosfatasi** per formare **1,2-diacilglicerolo**. I diacilgliceroli possono essere convertiti in trigliceridi per transesterificazione con una terza molecola di acil-CoA.

Sintesi dei glicerofosfolipidi

Tutte le vie biosintetiche hanno alcune caratteristiche di base comune. In generale, la produzione dei fosfolipidi da precursori semplici richiede:

- 1) La sintesi dello scheletro carbonioso (glicerolo o sfingosina).
- 2) Il legame degli acidi grassi allo scheletro, mediante legami ammidici ed esterici.
- 3) L'aggiunta di una testa polare idrofilica unita allo scheletro mediante un ponte fosfodiesterico.
- 4) In alcuni casi, la modificazione o lo scambio della testa polare per produrre il fosfolipide finale.

Le prime tappe della sintesi dei glicerofosfolipidi sono le stesse della sintesi dei trigliceridi: due gruppi acilici vengono esterificati al C-1 e C-2 del glicerolo 3-fosfato, per formare l'acido fosfatidico. Di solito, ma non sempre, l'acido grasso in C-1 è saturo e quelli in C-2 è insaturo. Una seconda via che porta alla formazione dell'acido fosfatidico è la fosforilazione di un diacilglicerolo da parte di una specifica chinasi.

La testa polare dei glicerofosfolipidi viene legata tramite un legame fosfodiesterico, in cui ciascuno dei due ossidrili alcolici (uno sulla testa polare e l'altro sul C-3 del glicerolo) forma un estere con l'acido fosforico. Nel processo biosintetico, uno degli ossidrili viene prima attivato legandosi al nucleotide, la **citidina difosfato (CDP)**. La **citidina monofosfato (CMP)** viene poi rilasciata in seguito a un attacco da parte dell'altro ossidrile. Il CDP si lega al diacilglicerolo, generando una forma attivata dell'acido fosfatidico, il **CDP-diacilglicerolo** (strategia 1) oppure al gruppo ossidrilico della testa polare (strategia 2). Le cellule eucariotiche adottano ambedue le strategie, mentre i batteri adottano solo la prima.

- Strategia 1: la prima strategia utilizzata per l'attacco della testa polare nella sintesi della **fosfatidilserina** è esemplificata dalla sintesi della fosfatidilserina, della fosfatidiletanolamina e del fosfatidilglicerolo. Il diacilglicerolo viene attivato per condensazione dell'acido fosfatidico col **CTP**, con eliminazione del pirofosfato e formazione del **CDP-diacilglicerolo**. Il distacco del CMP, a seguito dell'attacco del gruppo ossidrilico della serina o del gruppo ossidrilico in C-1 del glicerolo 3-fosfato, produce rispettivamente la fosfatidilserina o il fosfatidilglicerolo 3-fosfato. Quest'ultimo viene ulteriormente modificato, per scissione dal monoestere fosforico (con rilascio del P) per produrre il **fosfatidilglicerolo**.

La fosfoatidilserina e il fosfatidilglicerolo sono i precursori di altri lipidi di membrana dei batteri. La decarbossilazione del residuo di serina della fosfatidilserina produce la **fosfatidiletanolamina**. La condensazione di due molecole di fosfatidilglicerolo, con eliminazione di una molecola di glicerolo, forma la **cardiolipina**, nella quale due diacilgliceroli sono uniti a un'unica testa polare.

- Strategia 2: negli eucarioti, il fosfatidilglicerolo, la cardiolipina e i fosfatidilinositoli sono sintetizzati seguendo la stessa strategia usata dai batteri per la sintesi dei fosfolipidi. Il fosfatidilglicerolo è sintetizzato esattamente come nei batteri. La sintesi della cardiolipina, negli eucarioti, è leggermente diversa. Il fosfatidilglicerolo condensa con il CDP-diacilglicerolo, non con un'altra molecola di fosfatidilglicerolo, come nella strategia 1.

Il fosfatidilinositolo è sintetizzato per condensazione del CDP-diacilglicerolo con l'inositolo. Specifiche **fosfatidilinositolo chinasi** poi convertono il fosfatidilinositolo nei suoi derivati fosforilati. Il fosfatidilinositolo e i suoi derivati fosforilati svolgono un ruolo centrale nel processo di trasduzione dei segnali negli eucarioti.

LIPOPROTEINE

Il colesterolo e gli esteri del colesterolo, come i trigliceridi e i fosfolipidi, sono essenzialmente insolubili in acqua. Questi lipidi devono però essere trasportati dai tessuti dove sono prodotti a quelli in cui sono conservati o utilizzati. Essi sono trasportati attraverso il plasma sanguigno da un tessuto all'altro sotto forma di **lipoproteine**, aggregati di macromolecole costituiti da specifiche proteine trasportatrici, chiamate **apolipoproteine**, a cui si associano in proporzioni diverse fosfolipidi, colesterolo e trigliceridi.

Le apolipoproteine si associano ai lipidi formando diverse classi di particelle lipoproteiche, strutture sferiche contenenti all'interno un nucleo idrofobico di lipidi e all'esterno le catene laterali degli amminoacidi idrofilici delle apolipoproteine. Le diverse combinazioni di lipidi e di proteine generano particelle con densità diversa:

Chilomicroni (densità pari a quella dell'olio: $0.95 < \text{VLDL} < \text{LDL} < \text{HDL}$)

Ogni classe di lipoproteine ha la sua specifica funzione, determinata dal sito in cui è stata sintetizzata, dalla sua composizione in lipidi e dal contenuto in apolipoproteine. Quindi, apolipoproteine diverse → lipoproteine con funzioni diverse.

Quando il colesterolo in superficie forma dei legami esterici, esso perde l'OH in superficie e la molecola idrofila diventa idrofobica, quindi deve stanziarsi all'interno della lipoproteina, stando lontano dall'ambiente acquoso. Un eccesso di esteri del glicerolo può causare gravi danni all'organismo, perché le cellule vanno incontro ad apoptosi.

In linea di massima si può dire che maggiore è la componente lipidica, minore è la densità. I chilomicroni a densità più bassa sono quelli più ricchi di trigliceridi, quindi i trasportatori prevalentemente di trigliceridi, come i chilomicroni. Nelle LDL il livello di trigliceridi comincia ad abbassarsi fino ad essere uguale a zero nelle HDL, infatti aumenta la densità.

Le lipoproteine non sono delle strutture che si formano a caso per trasportare i lipidi nell'organismo a seconda delle esigenze, ma sono strutture sintetizzate in maniera guidata, in maniera specifica, sottoposta a controllo che fa in modo che l'equilibrio tra le diverse lipoproteine sia mantenuto costante.

Sono quattro le lipoproteine importanti per l'organismo:

- Chilomicroni
- VLDL
- LDL
- HDL

I chilomicroni (prodotti dall'intestino), le VLDL (prodotte dal fegato) e le LDL (prodotte dal fegato) partono dalla base (intestino o fegato) e raggiungono la periferia (organi extraepatici), mentre le HDL (prodotte dal fegato) partono dalla periferia (organi extraepatici) per raggiungere la base (fegato).

Chilomicroni

Il **chilomicrone** consiste in trigliceridi a cui viene aggiunta una proteina, che è presente a livello della superficie del chilomicrone. I trigliceridi e il colesterolo sono molecole estremamente idrofobiche e hanno bisogno di utilizzare dei trucchi per vincere l'ambiente acquoso del sangue. Uno di questi trucchi è di mettere insieme le molecole idrofobiche in una struttura che diverrà idrofilica e, per fare in modo che questa struttura se la cavi in maniera discreta, la stessa deve essere rivestita da proteine. Le proteine, oltre a conferire le funzioni di lipoporteine, conferiscono polarità e idrofilia a questa struttura, consentendogli di muoversi nell'organismo.

La superficie di un chilomicrone è rivestita da uno strato di fosfolipidi, disposti con le teste polari rivolte verso la fase acquosa. I trigliceridi sono raggruppati all'interno e rappresentano più dell'80% della massa della particella. Sulla superficie sporgono diverse apolipoproteine che agiscono come segnali per la captazione dei chilomicroni e per il metabolismo del loro contenuto.

VLDL (very low density lipoprotein)

I resti dei chilomicroni, particelle da cui sono stati rimossi quasi completamente i trigliceridi, ma che contengono ancora colesterolo e apolipoproteine, passano dal sangue al fegato, dove vengono internalizzati per endocitosi, un processo mediato da recettori specifici che riconoscono le apolipoproteine presenti nella particella. I trigliceridi che entrano nel fegato mediante questa via possono essere ossidati per ricavare energia. Quando la dieta contiene più acidi grassi di quanto non sia necessario per ottenere energia e per formare precursori, essi sono convertiti nel fegato in trigliceridi e associati a specifiche apolipoproteine. Queste particelle sono trasportate dal sangue fino al tessuto adiposo, dove i trigliceridi sono incorporati e conservati sotto forma di gocce lipidiche all'interno degli adipociti.

I trigliceridi formati non sono altro che esteri del colesterolo e, venendo associati a specifiche apolipoproteine, formano le **VLDL**. Anche l'eccesso di carboidrati della dieta può essere trasformato in trigliceridi nel fegato ed esportato attraverso le VLDL. Oltre ai trigliceridi e agli esteri del colesterolo, le VLDL contengono le apolipoproteine **apoB-100**. Le VLDL sono trasportate attraverso il sangue dal fegato al muscolo e al tessuto adiposo. Nei capillari di questi tessuti, l'attivazione della lipoproteinlipasi determina il rilascio di acidi grassi liberi dai trigliceridi presenti nelle VLDL. Gli adipociti assumono queste molecole e risintetizzano trigliceridi, conservandoli sotto forma di gocce lipidiche intracellulari. I miociti, al contrario, ossidano gli acidi grassi per produrre energia. Quando il livello di insulina è elevato, come dopo un pasto, la funzione delle VLDL consiste principalmente nel trasferire i lipidi introdotti con la dieta al tessuto adiposo per il loro immagazzinamento e conservazione. Nello stato di digiuno tra i pasti, invece, gli acidi grassi utilizzati nel fegato per produrre le VLDL provengono principalmente dal tessuto adiposo e l'obiettivo principale delle VLDL sono i miociti del muscolo scheletrico o cardiaco.

LDL (low density lipoprotein)

La perdita di trigliceridi converte le VLDL in rimanenze di VLDL che, mediante un'ulteriore rimozione di trigliceridi, sono convertite in **LDL**. Le LDL sono molto ricche di colesterolo e di esteri del colesterolo e l'**apoB-100** è la loro principale apolipoproteina. Esse trasportano il colesterolo ai tessuti periferici extraepatici (es. muscolo, ghiandole surrenali e tessuto adiposo), che possiedono specifici recettori per le LDL che riconoscono l'apoB-100 e mediano l'assunzione del colesterolo e dei suoi esteri. Le LDL trasportano anche il colesterolo ai macrofagi. Le LDL, che non sono state utilizzate dai tessuti e dalle cellule periferiche, ritornano nel fegato e vengono assorbite tramite i recettori delle LDL presenti sulla membrana plasmatica dell'epatocita. Il colesterolo che entra negli epatociti attraverso questa via può essere incorporato nelle membrane, convertito in acidi biliari o riesterificato per essere immagazzinato e conservato all'interno di goccioline lipidiche citosoliche.

Ogni particella di LDL che si trova in circolo contiene la proteina apoB-100, che viene riconosciuta da specifici recettori proteici, i recettori delle LDL, localizzati sulla superficie delle cellule che

devono assumere colesterolo. Il legame delle LDL al recettore delle LDL innesca il processo di endocitosi, che trasferisce l'LDL e il suo recettore all'interno della cellula dentro un endosoma. L'endosoma si fonde poi con un lisosoma, che contiene gli enzimi che idrolizzano gli esteri del colesterolo, rilasciando il colesterolo e gli acidi grassi nel citosol. Anche l'apoB-100 delle LDL viene degradata ad amminoacidi, che vengono rilasciati nel citosol. L'apoB-100 è presente anche nelle VLDL, ma il suo dominio di legame non è disponibile per il legame al recettore delle LDL. È la conversione delle VLDL in LDL, che spona il dominio di legame della apoB-100 al suo recettore. Le LDL presentano due tipologie di recettori:

- **LDL-Receptor**: sono presenti a livello delle cellule del fegato, del muscolo scheletrico e delle ghiandole surrenali. Riconosce l'apoproteina apoB-100, la lega, endocita l'LDL e lo fonde con i lisosomi per liberare il colesterolo da usare per produrre sali biliari o ormoni sessuali.
- **Scavenger receptors**: sono presenti a livello dei macrofagi che riconoscono l'apoproteina apoB-100, la legano e fagocitano l'LDL.

HDL (high density lipoprotein)

Il quarto tipo di lipoproteina più importante nei mammiferi, la lipoproteina **HDL**, ha origine nel fegato e nell'intestino tenue sotto forma di piccole particelle ricche di proteine, contenenti quantità limitate di colesterolo e nessun estere del colesterolo (es. trigliceridi). Le HDL contengono principalmente apolipoproteine **apoA-I** ed enzimi.

La struttura prematura delle lipoproteine è a disco piatto, perché è quasi assente il contenuto in colesterolo, ma la struttura matura delle HDL è sferica, come quelle delle altre lipoproteine. Le HDL che si stanno formando possono incorporare colesterolo anche dalle cellule extraepatiche ricche di colesterolo. Le HDL mature ritornano poi al fegato, dove il colesterolo viene scaricato. Alcuni esteri del colesterolo delle HDL possono essere trasferiti anche alle LDL mediante la proteina che trasferisce gli esteri del colesterolo. La maggior parte del colesterolo recuperato viene convertita in sali biliari nel fegato, che vengono poi trasportati e immagazzinati nella cistifellea. Dopo un pasto, i sali biliari vengono secreti nell'intestino tenue, dove disperdono le particelle macroscopiche di grasso formando micelle microscopiche che possono essere facilmente attaccate dalle lipasi. I sali biliari vengono riassorbiti nel fegato e riciclati attraverso la cistifellea.

Il meccanismo di scarico degli steroli non coinvolge l'endocitosi, il meccanismo utilizzato per l'assunzione delle LDL. Quando l'HDL si lega ai recettori presenti sulla membrana plasmatica degli epatociti, questi recettori promuovono un parziale e selettivo trasferimento del colesterolo e di altri lipidi dall'HDL all'interno delle cellule. L'HDL così svuotata si dissocia dal recettore e passa di nuovo nel sangue, per estrarre altri lipidi dalle rimanenze di chilomicroni e di VLDL e dalle cellule sovraccariche di colesterolo.

METABOLISMO DEL COLESTEROLO

Il **colesterolo** è un costituente delle membrane, quindi ha un ruolo strutturale importante ed è una molecola che è precursore di tanti ormoni, come quelli sessuali, e ha un metabolismo differente da tutti gli altri tipi di lipidi.

- **Catabolismo** (demolizione): il colesterolo è una delle poche molecole che non va incontro a demolizione, a differenza di tutte le altre molecole (es. lipidi, amminoacidi e glucidi). E' impossibile demolire il **ciclopentanoperidrofenantrene**, cioè la componente ciclica e aromatica del colesterolo. Il colesterolo fa parte degli acidi biliari prodotti dal fegato, che vanno a finire nella cistifellea.

- **Anabolismo** (sintesi): i disordini del colesterolo sono parecchi e si traducono nella ipercolesterolemia, cioè nel disordine delle lipoproteine. Il colesterolo arriva da due fonti diverse:

- Esterno della cellula: arriva con la dieta e ne arriva tanto quanto è più piena di colesterolo la dieta.
- Interno della cellula: esiste anche un pool di colesterolo sintetizzato all'interno della cellula. Nella cellula si ha il colesterolo che deriva dalla sintesi che parte dall'acetil-CoA. La sintesi

di acetil-CoA verso il colesterolo parte quando c'è tanta insulina, che va anche ad attivare un enzima chiave nella biosintesi del colesterolo. La sintesi è possibile quando c'è tanta insulina e tanta insulina vuol dire tanti glucidi, quindi tanta energia e quindi si può utilizzare l'acetil-CoA per fare qualcosa di fondamentale che non produca ATP, quindi l'insulina dice all'acetil-CoA di essere utilizzato il più possibile per produrre colesterolo o acidi grassi. Il glucagone fa esattamente l'azione opposta.

Il colesterolo può essere sintetizzato dalla cellula, ma può derivare anche dall'esterno della cellula. Il colesterolo contenuto nelle **LDL** (glicoproteine cattive) può entrare nella cellula e può andare ad arricchire il contenuto di colesterolo. Il colesterolo intracellulare (quello prodotto dalla cellula) ovviamente cerca di controllare la concentrazione del LDL. La massiccia endocitosi di colesterolo LDL inibisce, grazie a degli enzimi, la sintesi del colesterolo intracellulare. Questa è una delle cause principali di ipercolesterolemia, poiché c'è un aumento di LDL e una diminuzione di colesterolo buono prodotto intracellularmente.

Quando l'LDL arriva vicino alla cellula bersaglio, gli LDL-Receptors riconoscono la proteina apoB-100, la legano e lasciano entrare la LDL nella cellula sotto forma di **endosoma** (in questo caso il complesso recettore-LDL), cioè una struttura vescicolare che è circondata da uno strato di fosfolipidi. L'endosoma ha un pH acido, perché presenta una pompa protonica che espelle ioni dall'interno dell'endosoma verso il citosol cellulare. L'endosoma verrà mosso verso il lisosoma, avverrà la fusione tra le membrane di essi, il contenuto endosomiale si riverserà nel lume del lisosoma e gli enzimi idrolitici provvederanno a degradare le sostanze contenute nell'LDL, a parte il colesterolo che verrà utilizzato per diversi scopi, come quello di produrre ormoni sessuali. Il recettore verrà staccato dall'LDL poco prima della degradazione nel lisosoma e verrà trasportato nuovamente alla membrana plasmatica.

Regolazione della sintesi di colesterolo

Il colesterolo deve essere mantenuto ad un livello tale da mantenere un equilibrio con le necessità delle cellule, perché il colesterolo presente all'interno delle cellule può arrivare dall'esterno con le LDL, ma può essere sintetizzato attraverso l'acetil-CoA dalle cellule stesse. La maggior parte delle cellule è capace di sintetizzare il colesterolo. Il livello intracellulare di colesterolo è controllato in maniera estremamente precisa, tramite tre tipologie di regolazione. Il colesterolo, attraverso un intermedio non noto, va a controllare il livello di attività dell'enzima **β -idrossi- β -metilglutaril-CoA reduttasi**, che viene inibito da livelli alti di colesterolo. Questo è l'enzima che produce colesterolo endogeno, quindi, se viene inibito, la cellula non lo produce più.

- La cellula può limitare l'ingresso di colesterolo extracellulare, andando a ridurre la sintesi del recettore. Se c'è tanto colesterolo all'interno della cellula, viene inibito il meccanismo di endocitosi, inibendo la produzione di recettore di membrana per le LDL.

- Il colesterolo viene biosintetizzato nei periodi di ricchezza molecolare, quindi quando ci sono tanti nutrienti disponibili, quindi tanta insulina, in cui il Ciclo di Krebs funziona ampiamente. L'insulina può attivare la sintesi di colesterolo defosforilando l'enzima β -idrossi- β -metilglutaril-CoA reduttasi. Il glucagone inibisce l'utilizzo di acetil-CoA per la sintesi di colesterolo, quindi ha l'azione opposta rispetto all'insulina.

- Se il colesterolo dovesse superare certi limiti, verrebbe esterificato, perché attiva l'enzima **ACAT** (acil-colesterolo acil-trasferasi), che è l'enzima che esterifica il colesterolo sull'OH in posizione 3 con un acile.

Se la cellula rileva un'eccessiva quantità di colesterolo proveniente dalle LDL (quindi quando è ancora fuori dalla cellula), può inibire la sintesi di recettori specifici per le LDL, che non possono più entrare. Se la cellula rileva un'eccessiva quantità di colesterolo all'interno di essa (quindi quando è già dentro la cellula), può defosforilare l'enzima che produce colesterolo endogeno e può esterificare quello in eccesso entrato con le LDL.

Aterosclerosi

L'**aterosclerosi** è una patologia estremamente diffusa ed è discutibile che si possa parlare di patologia, perché i depositi di placche lipidiche esistono anche nei neonati. Quindi è una malattia che nasce molto presto e progredisce molto lentamente e che può causare danni molto importanti, essendo la causa dei disordini circolatori come infarti e ictus.

Il primo danno è endoteliale e può essere una sofferenza della cellula endoteliale, che smette di fare da filtro diventando più permeabile, o la morte di essa. Il fattore predisponente a questi problemi è la **pressione alta** e, in alcuni punti del torrente circolatorio, il sangue esercita una pressione più elevata. Nell'arco aortico e negli archi carotidei, il sangue arriva a grande pressione e si trova ad affrontare una curva ad U, quindi c'è una grande probabilità che a quei livelli possano formarsi placche aterosclerotiche.

Questo danno endoteliale determina il fatto che le LDL possono entrare nel sotto-endotelio e quindi rendono permeabile l'endotelio alle LDL. Le LDL, che di norma entrano nelle cellule per rifornirle di colesterolo, possono penetrare nel sotto endotelio. Queste LDL, depositatesi nel sotto-endotelio, vanno incontro a ossidazione. Questo è un fatto normale anche per le LDL in circolo o in quelle che sono entrate nella cellula sotto forma di endosoma. In sostanza, si ossidano le proteine e gli acidi grassi che formano le LDL. Il fatto, però, che ossidino le LDL depositatesi nel sotto-endotelio può essere un fattore negativo, perché sono rintracciabili dagli scavenger receptors dei **macrofagi**. I **monociti** sono cellule del sangue, che, all'occorrenza, si trasformano in macrofagi, che sono in grado di fagocitare le sostanze ritenute dannose. I monociti possono entrare e uscire dal torrente sanguigno, quindi andare nel sotto-endotelio, e, se dovessero trovarvi delle LDL ossidate, si trasformerebbero in macrofagi, che fagocitano le LDL.

L'azione dei macrofagi si potrebbe pensare che sia un bene, ma, se le LDL dovessero essere troppo numerose, il macrofago si riempirebbe talmente tanto di LDL, che assumerebbe una nuova forma cellulare, quella di **foam cell** (cellula schiumosa). Raggiunta questa forma, i macrofagi tendono a morire e l'accumulo di questi macrofagi morti nel sotto-endotelio richiama le proteine della coagulazione (es. fibrina), per ricoprire di piastrine la zona costituita dal pool di macrofagi morti, riformando lo strato di endotelio.

Questo accumulo può finire per danneggiare l'endotelio, perché questa lesione può amplificarsi, non più a un fenomeno dovuto all'aumento della pressione del sangue, che porta a un deposito di materiale di scarto, ma all'aumento di LDL ossidate e fagocitate da macrofagi che muoiono e che vanno a stanziarsi lì dove c'erano quelli precedenti, formando vere e proprie **placche aterosclerotiche**.

Le placche sono formate solo ed esclusivamente da **materiale fibrotico**, senza più la presenza dell'endotelio, dato che, ora, le placche prendono il posto di una porzione di endotelio. La cellula endoteliale è una cellula che produce inibitori della coagulazione, impedendo la formazione di coaguli sull'endotelio, ma, se le cellule endoteliali non ci sono più, allora gli inibitori non vengono più prodotti e le cellule circolanti nel flusso sanguigno mettono in moto una serie di meccanismi a cascata che causano dei coaguli a livello della placca. E' come se fosse riconosciuta una lesione del vaso, ma senza lesione. Le piastrine sono il primo evento dell'emostasi e fanno crescere la placca aterosclerotica, che può aumentare di volume fino ad occludere il vaso, ma ancor più peggiore può rompersi in pezzi più o meno grandi che vanno in circolo e, senza adattarsi alle strettoie, possono occludere dei vasi. I pezzi di placca sono rigidi e, quando trova una strettoia, si fermano, occludono il vaso e provocano un fenomeno ischemico. Inoltre, si può notare come sia più rigido un vaso fibrotico.

