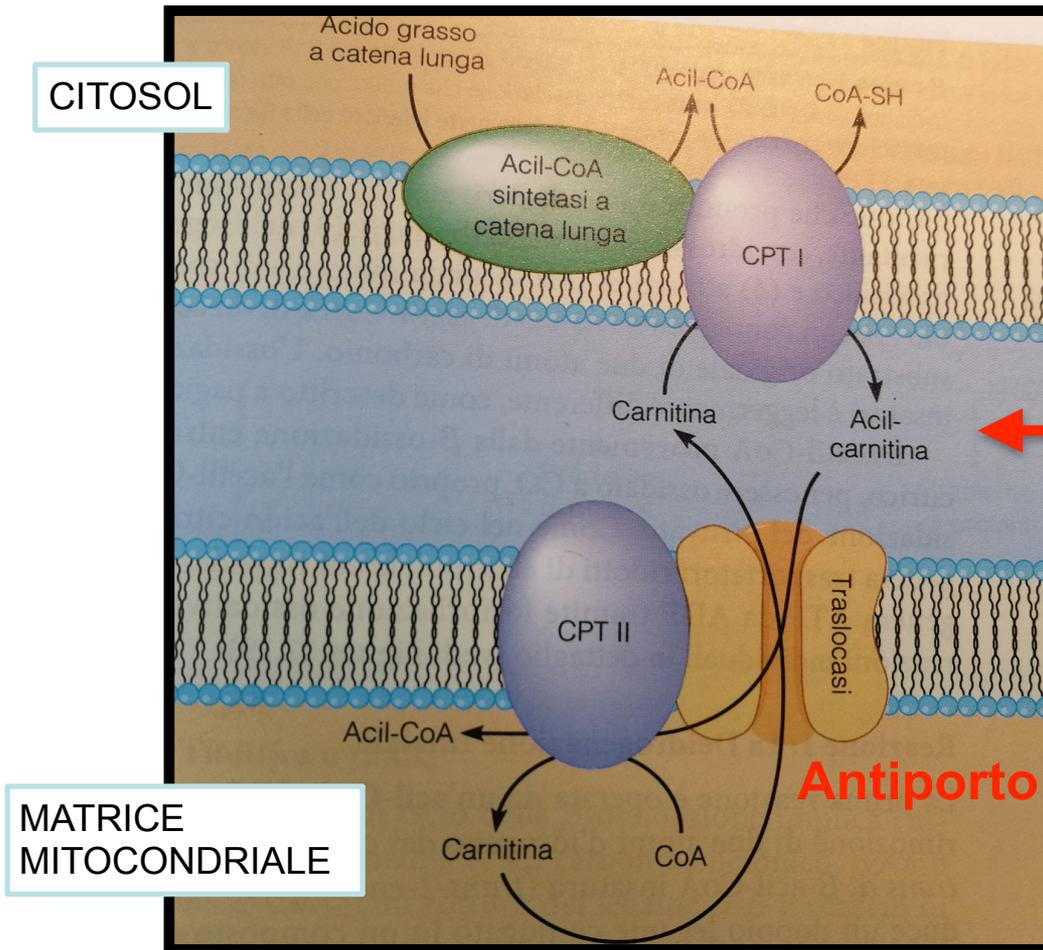


Trasporto - Shuttle della carnitina

(ingresso degli acidi grassi nella matrice mitocondriale è la **tappa limitante** per l'ossidazione degli acidi grassi)



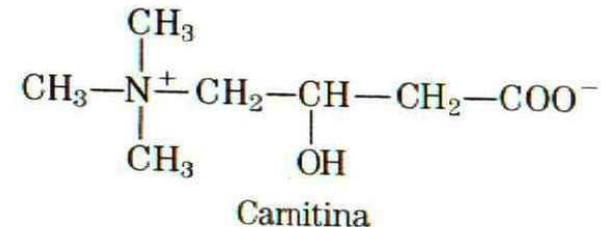
CPT 1: Carnitina acil-trasferasi (o palmitoil-trasferasi) 1

(la P sta per palmitoil, l'acido grasso su cui sono stati effettuate le prime osservazioni in merito al trasporto mitocondriale)

Membrana mit. Esterna

Carnitina: tra i principali integratori...
Vera o falsa la sua efficacia?

Membrana mit. Esterna (carrier antiporto)



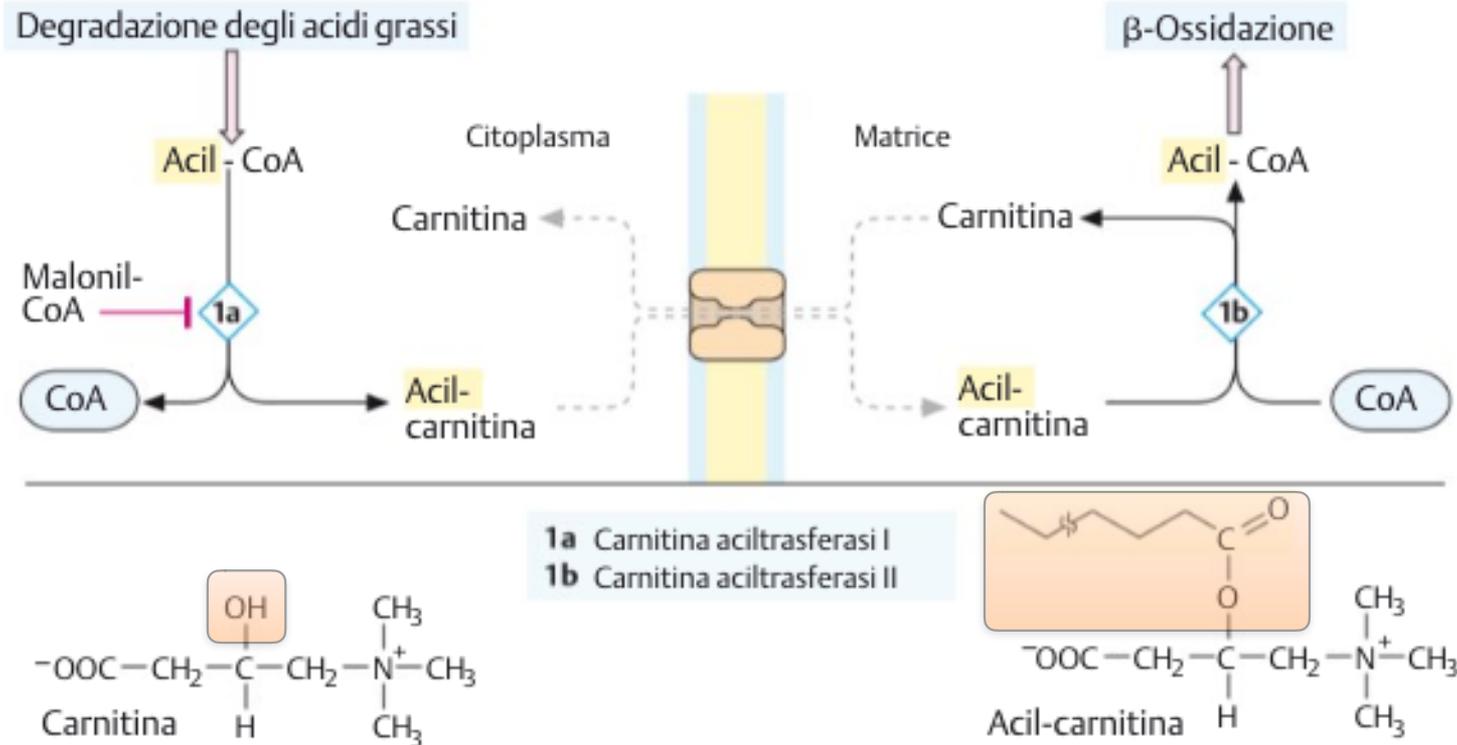
CPT: carnitina acil trasferasi (Carnitina Palmitoil Trasferasi)

Malonil-CoA → CPT1

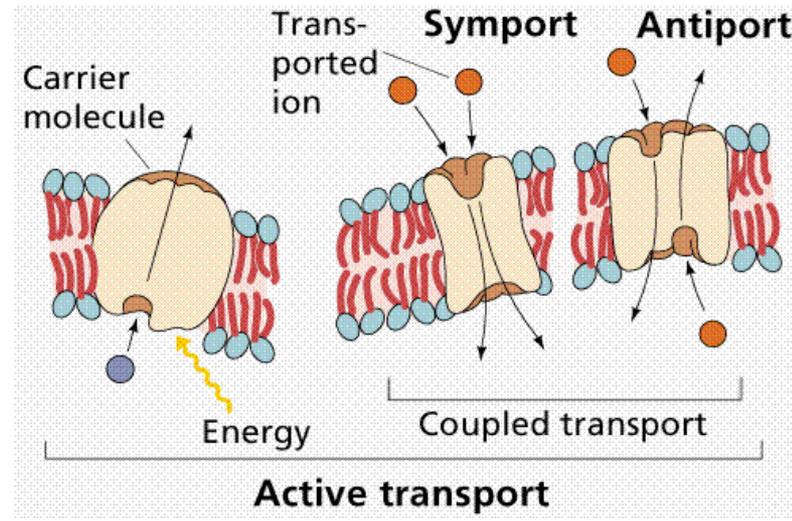
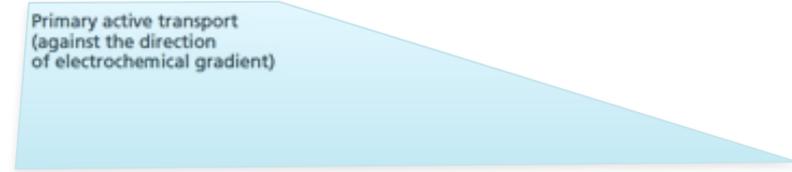
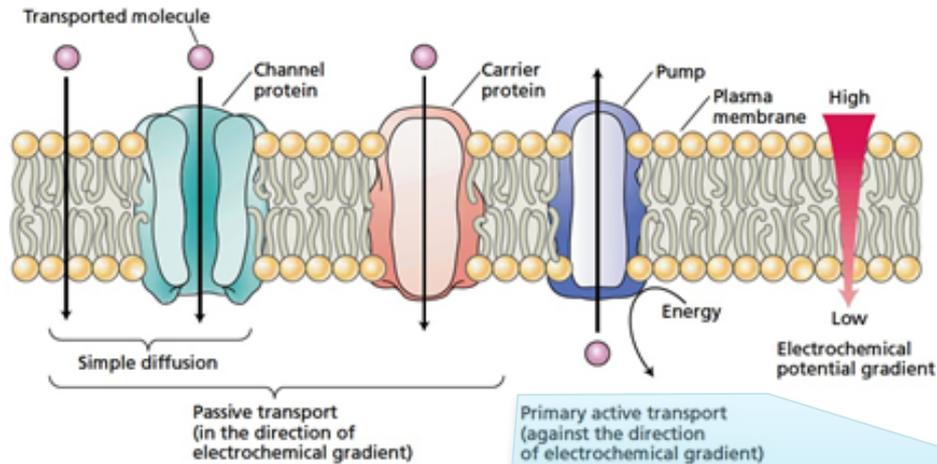
(primo intermedio sintesi acidi grassi)

NB: sintesi e degradazione acidi grassi avviene in compartimenti separati per evitare un ciclo futile:
Sintesi => citoplasma
Degradazione => mitocondrio

A. Trasporto di acidi grassi a catena lunga

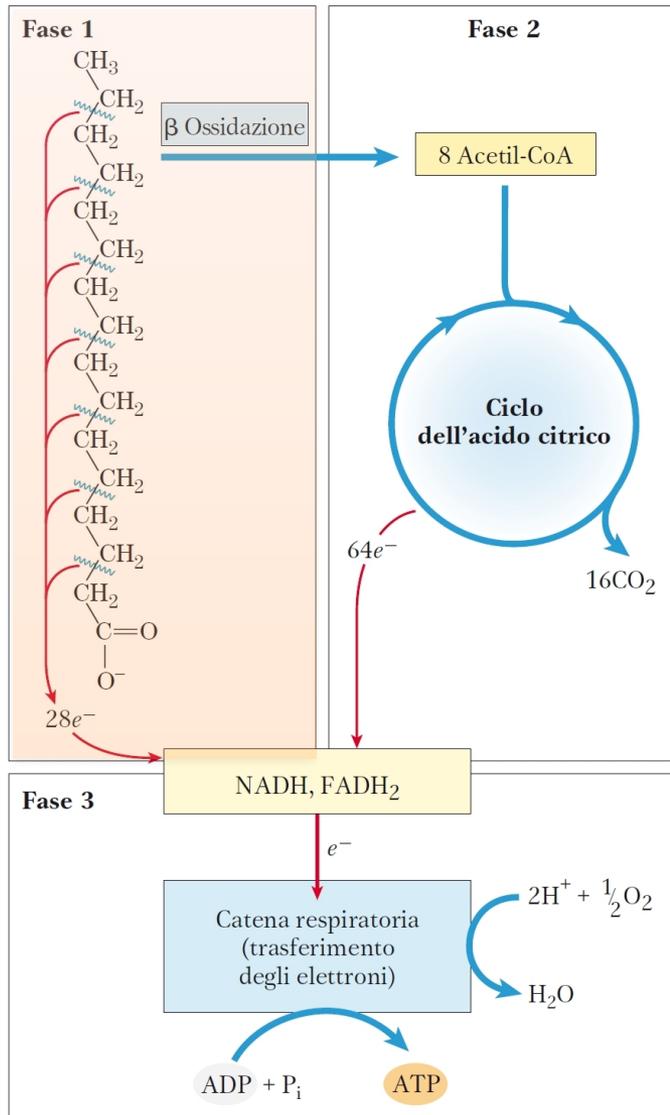


Trasporto di membrana (un piccolo riassunto)



Ossidazione degli acidi grassi

Una visione d'insieme...



Beta-ossidazione:

si diversifica per alcune tappe a seconda che:

- Acido grasso - C n° pari, saturo
- Acido grasso - con insaturazioni
- Acido grasso - C n° dispari

Dopo la beta-ossidazione:

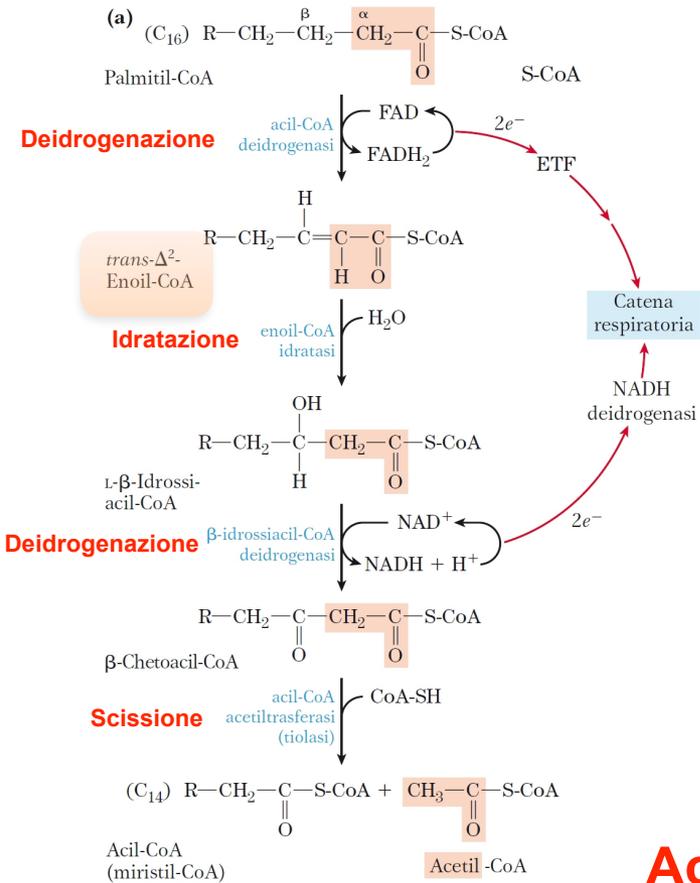
Acetil-CoA => **ciclo dell'acido citrico**

NADH e FADH₂ => **Fosforilazione ossidativa**

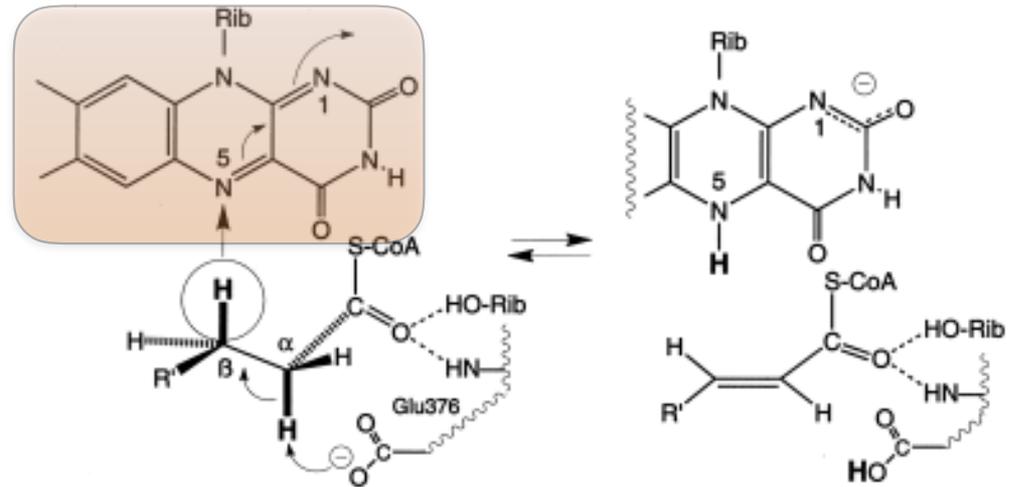
Beta ossidazione (ossidazione in 3)

Perchè beta-ossidazione:

Deriva dalla nomenclatura dei C della catena alchilica dell'acido grasso: Primo C dopo COOH: carbonio alfa, secondo beta, etc....(NB: rivedere nomenclatura acidi grassi)



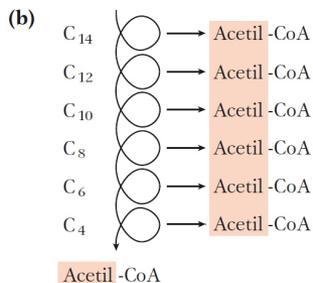
Catena respiratoria



Acil-CoA deidrogenasi:

Tre isoforme a seconda della lunghezza acido grasso:

- 1) VLCAC (12-18) - membrana (very long)
- 2) MCAC (4-14) - matrice (medium)
- 3) SCAC (4-8) - matrice (short)



NB: $FADH_2 \Rightarrow 1,5$ ATP (fosforilazione ossidativa)

$NADH \Rightarrow 2,5$ ATP (fosforilazione ossidativa)

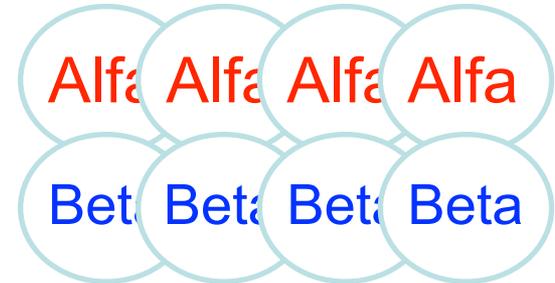
Acil-CoA \geq 12 C

Enoil-CoA Idratasi (**alfa**)

Beta-idrossiacil-CoA deidrogenasi (**alfa**)

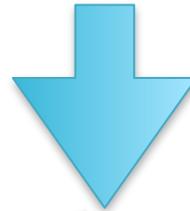
Acil-CoA acetiltrasferasi (**beta**)

TFP
(proteina trifunzionale)



Eteroottamero

Associato alla membrana mitocondriale

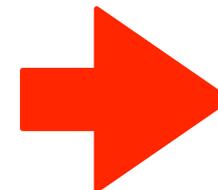


Acil-CoA $<$ 12 C

Enoil-CoA Idratasi

Beta-idrossiacil-CoA deidrogenasi

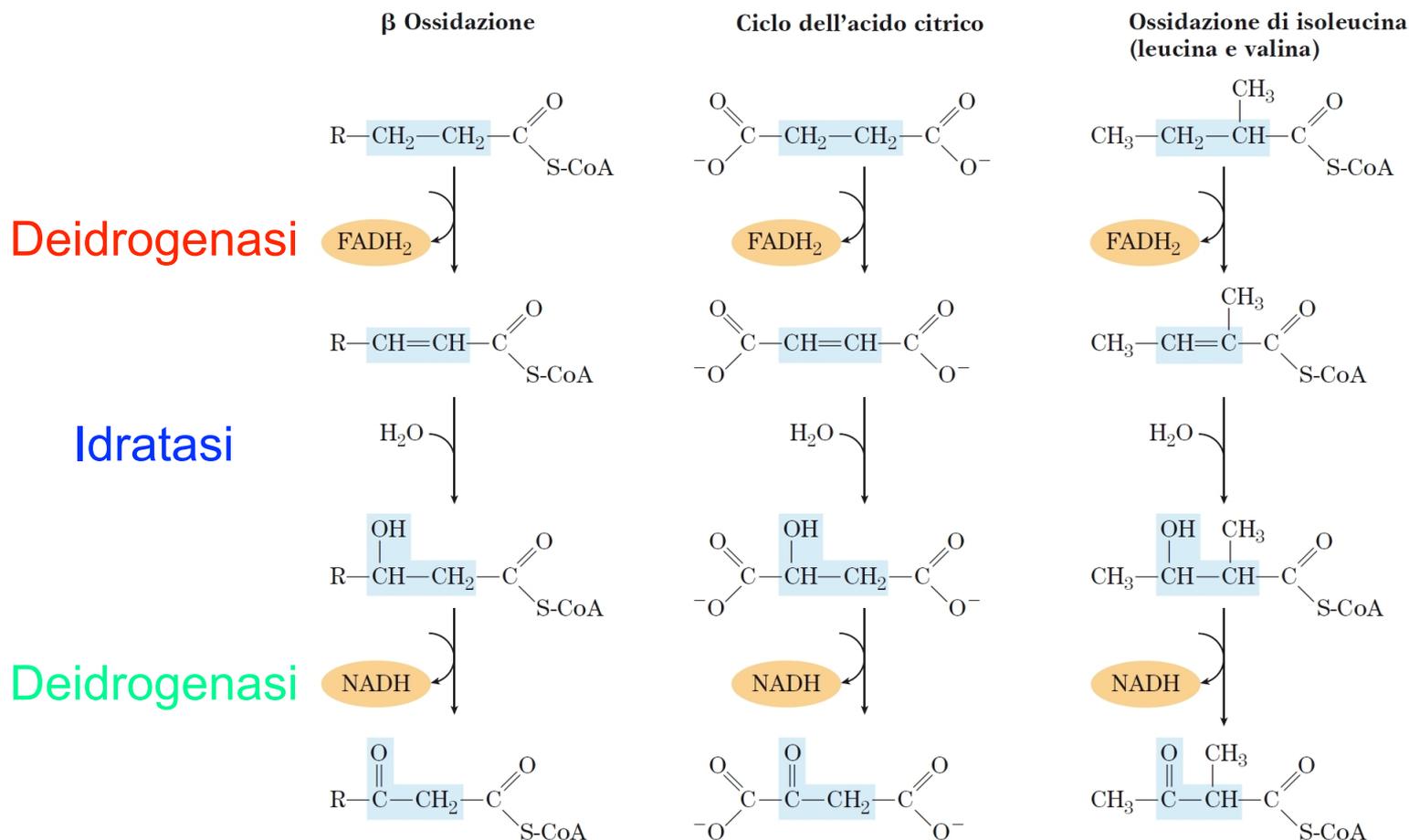
Acil-CoA acetiltrasferasi



Enzimi solubili della
matrice mitocondriale



Meccanismo comune per l'introduzione di un gruppo carbonilico In posizione beta rispetto ad un gruppo carbossilico: Deidrogenasi (FAD) - Idratasi - Deidrogenasi (NAD)



Esempio di enzimi che si sono evoluti per duplicazione genica e che poi hanno subito una “deriva” per quanto riguarda la specificità di legame.

Facciamo due conti:

Molecole acido grasso C16 (acido palmitico, C16:0)

Sono prodotte 8 molecole di Acetyl-CoA, 7 NADH, 7 FADH₂
(il che equivale a dire che si possono ottenere 17,5 + 10,5
molecole di ATP (28)).

A questo punto però ci sono ancora 8 molecole di Acetyl-CoA
che possono entrare nel ciclo dell'acido citrico.

Per ciascuna molecola di Acetyl-CoA: 3 NADH, 1 FADH₂ e 1 ATP
=> $3 \times 2,5 + 1 \times 1,5 + 1 = 7,5 + 1,5 + 1 = 10$

8 Acetyl-CoA x 10 ATP cad. = 80 ATP

80 + 28 = 108 La degradazione di 1 molecola di palmitato da
origine a 108 molecole di ATP (ma c'è bisogno dell'attivazione
(Acil-coA sintasi = - 2 ATP) => 106 molecole di ATP

MW palmitate: 256 - 16C (106 ATP/16C => 6.62 ATP/C)

Facciamo due conti per il glucosio:

Glicolisi => 2 ATP + 2 NADH + 2 piruvato

2 Piruvato introdotte nel ciclo di Krebs:

Piruvato ad acetil-CoA => 1 NADH

1 acetil-CoA nel ciclo di Krebs => 3NADH, 1 FADH, 1 ATP

Somma per una molecola di glucosio:

$[2 + 2 \times 2,5 + 2 \times 2,5 + 2 \times (3 \times 2,5 + 1 \times 1,5 + 1)]$

=> 32 molecole di ATP

MW glucose: 180 - 6 C (32ATP/6C => 5.33 ATP/C)

Glucose: 5.33 ATP/C - AG: 6.62 ATP/C

Diverso stato di ossidazione di partenza tra Glucosio e AG

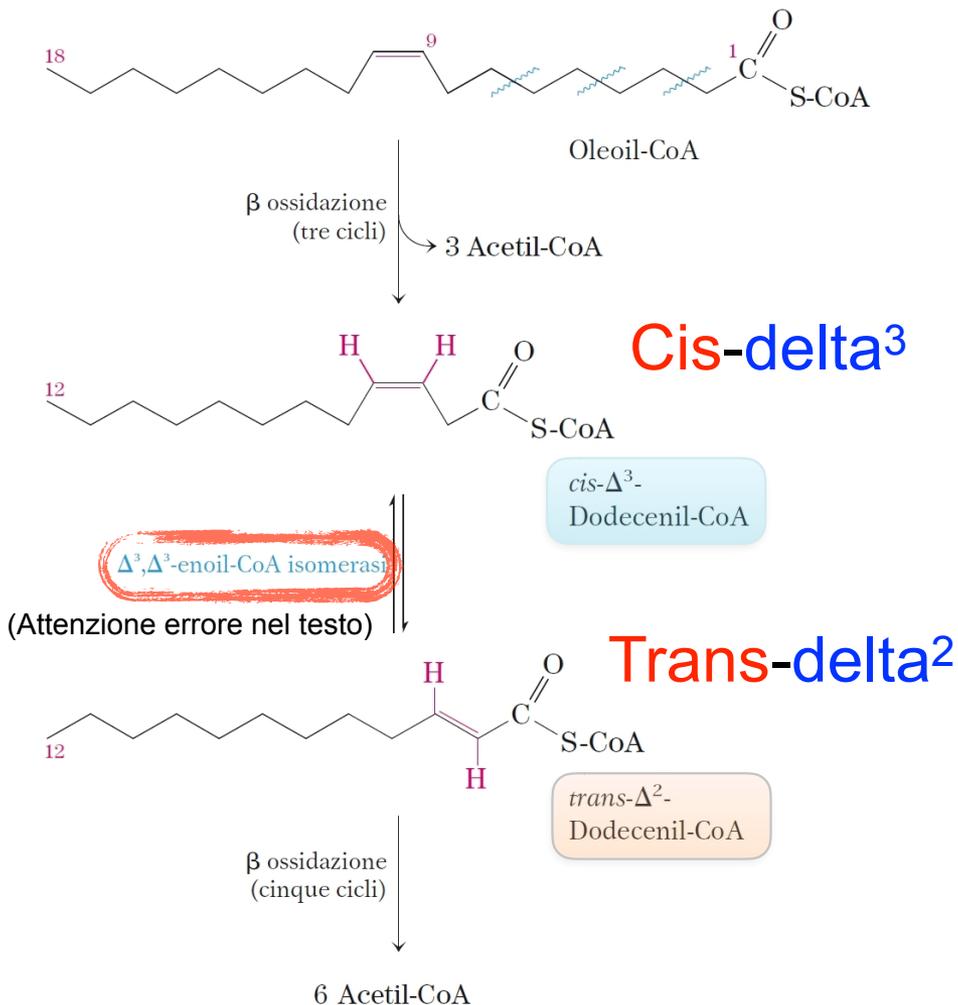
Acidi grassi mono- e poli-insaturi: strategie per la beta-ossidazione

(problema risiede nella forma **cis** del doppio legame e nella sua posizione [tra C3 e C4])

NB: l'idratazione può avvenire solo su un **trans delta 2** e la maggior parte delle insaturazioni negli acidi grassi sono di tipo **cis**

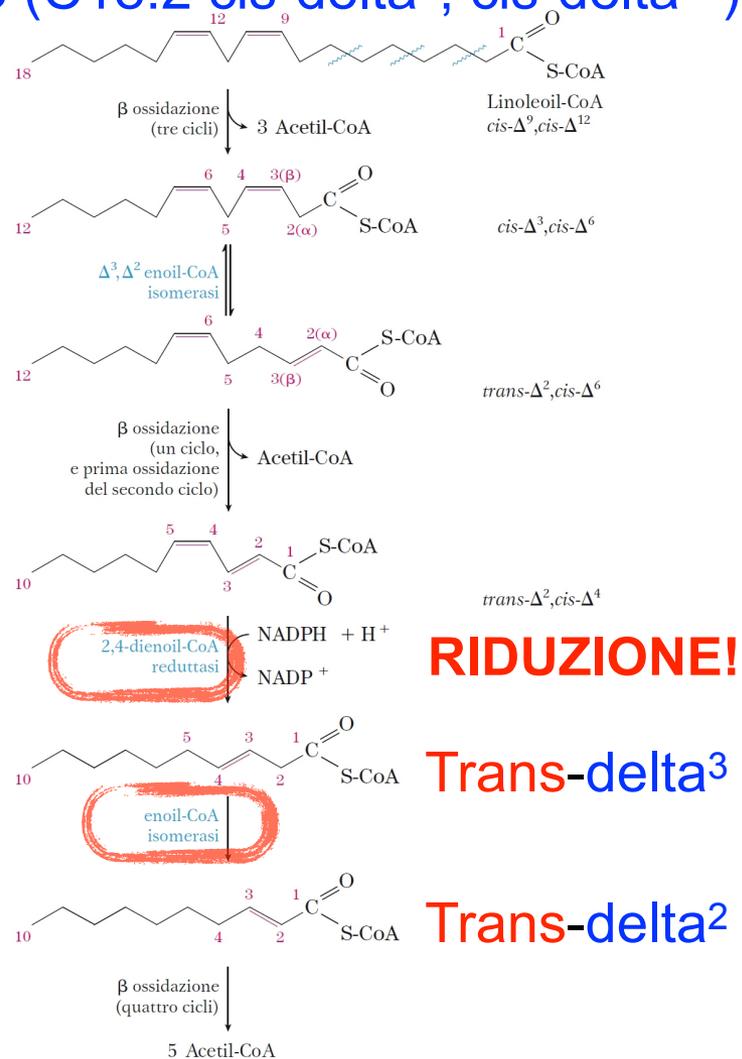
Mono-insaturo

Oleato (C18:1 cis-delta⁹)

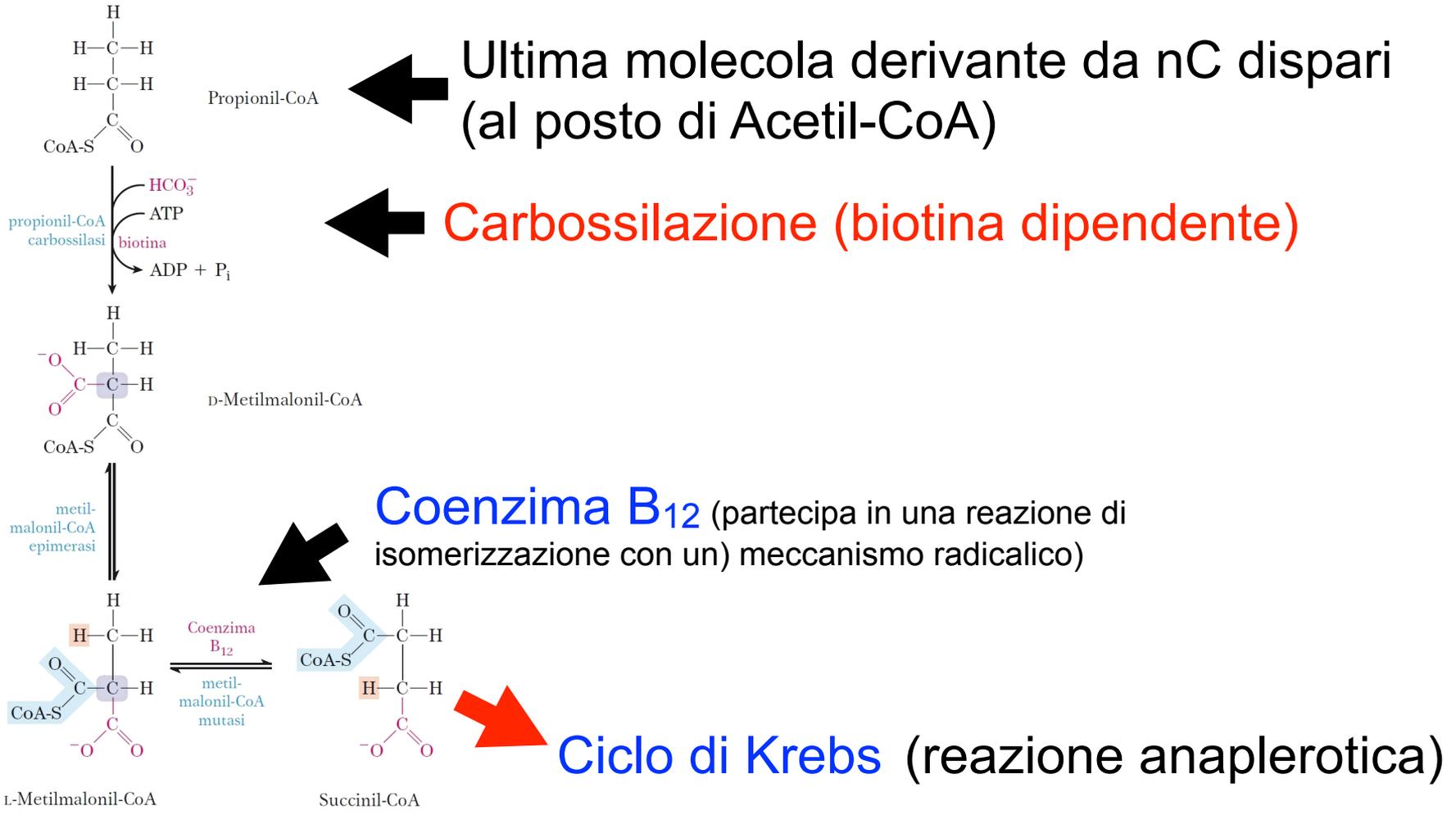


Poli-insaturo

Palmitato (C18:2 cis-delta⁹, cis-delta¹²)

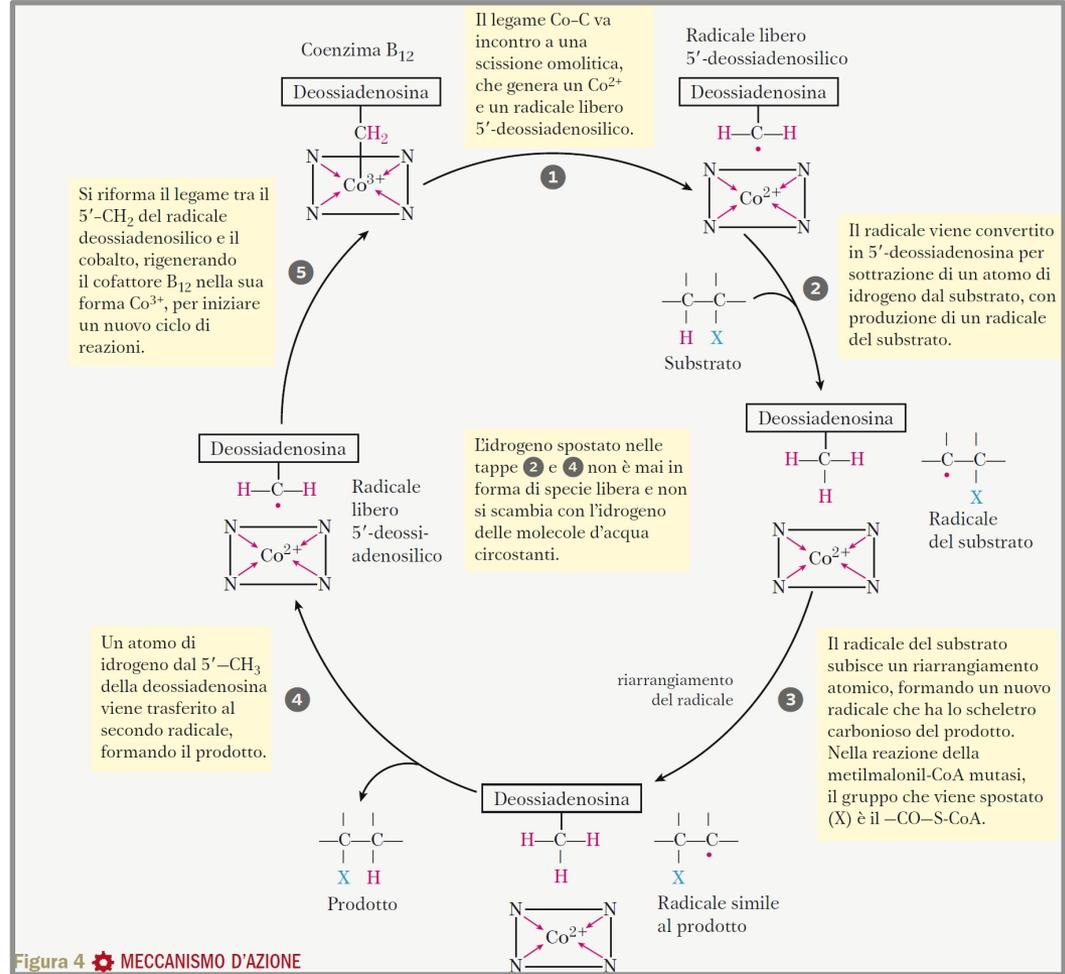
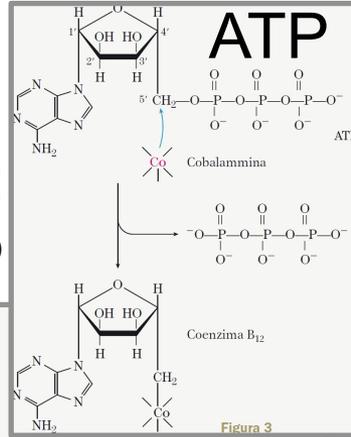
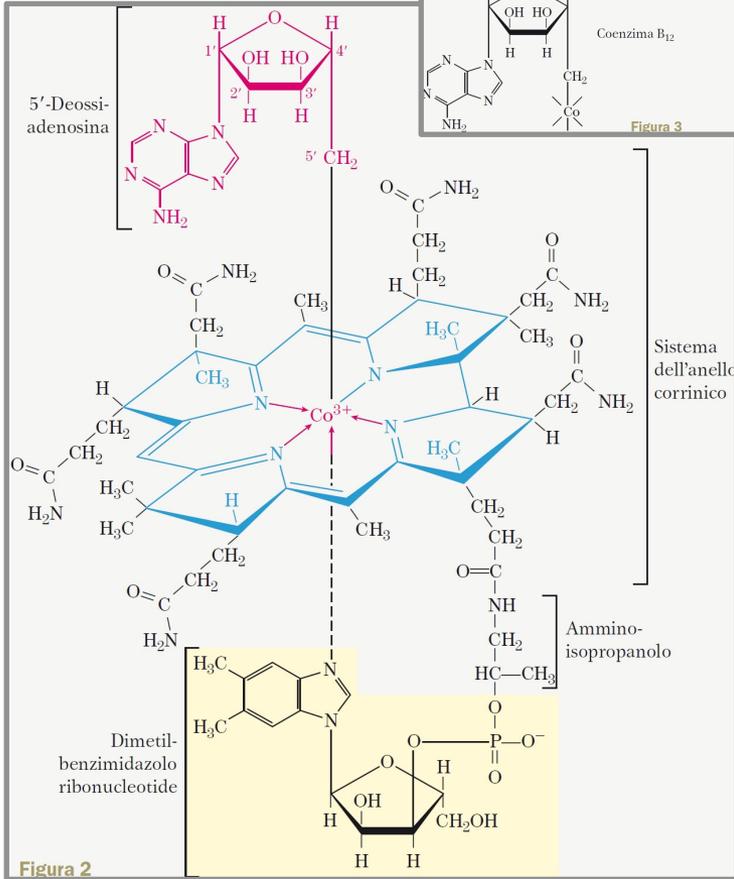


AG con numero dispari di C: strategie per la beta-ossidazione



Vitamina B₁₂ (cobalamina)

coenzima B₁₂:
(legato alla 5'-deossiadenosina)



Vitamina B₁₂: assorbita nell'intestino grazie ad una glicoproteina (**"fattore intrinseco"**). La sua carenza provoca l'**anemia perniciosa**. Coinvolta nella produzione di succinil-CoA a partire da Metilmalonil-CoA e di metionina a partire da omocisteina. In caso di assenza della vitamina B₁₂ si accumulano omocisteina e metilmalonil-CoA.

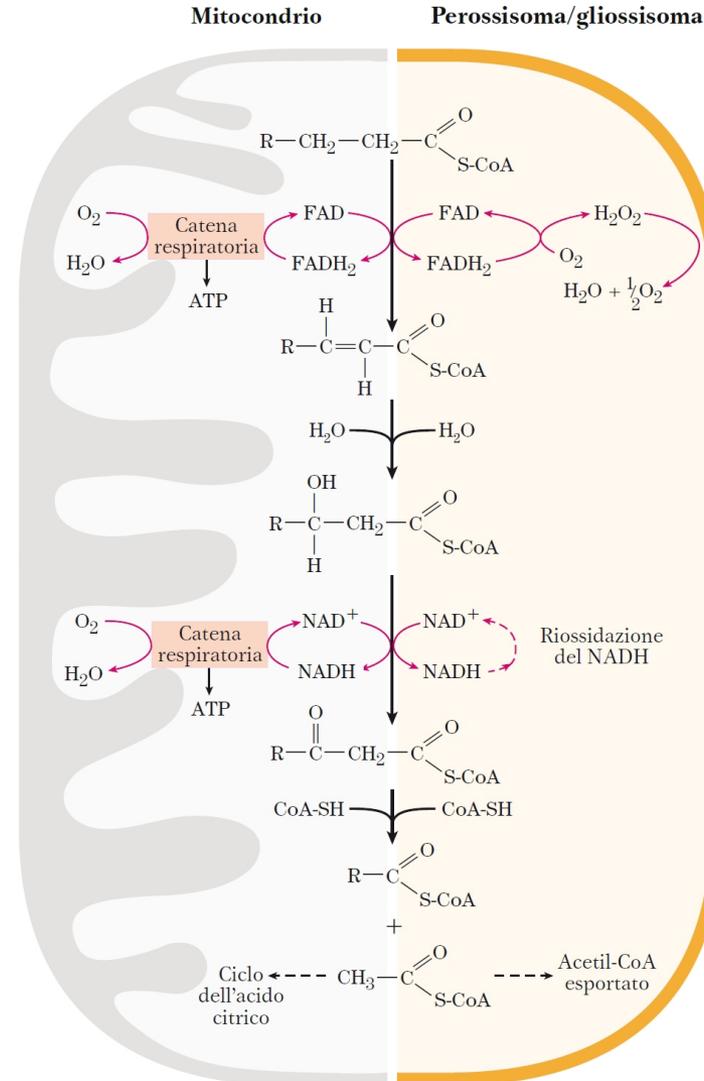
Vit. B₁₂: Prodotta da microorganismi e presente nella carne

Degradazione degli AG (a catena molto lunga/ramificata)

nei **Perossisomi** [nome deriva da perossido di idrogeno]

Esempio: Acido esacosanoico (26:0), acido fitanico e pristanico (ramificati)

Nelle cellule vegetali i perossisomi sono il sito principale di degradazione degli acidi grassi!



Passaggio diretto e- all' H_2O con generazione di calore (dissipazione energia). H_2O_2 immediatamente scisso in H_2O e O_2 da catalasi.

$NADH$ deve essere esportato

Acetil-CoA esportato

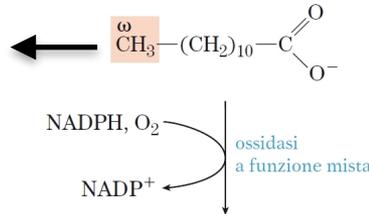
Quando la beta-ossidazione nei perossisomi produce acidi grassi a catena più corta, questi possono essere esportati e processati nei mitocondri

Omega-ossidazione

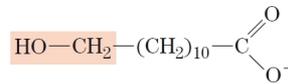
(a livello del reticolo endoplasmatico liscio di **fegato** e **reni**,
Preferenzialmente AG 10-12 C)

Quando interviene: quando la beta ossidazione non funziona bene, ad esempio per mancanza di carnitina (sorta di back-up pathway).

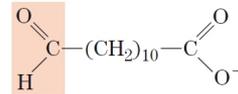
Carbonio omega: più distante dal gruppo carbossilico



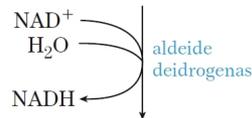
(Monoossigenasi microsomiale e Citocromo P450)



NB => Microsoma
Derivano dalla Frammentazione del reticolo endoplasmatico dovuta a manipolazione delle cellule (artefatto)

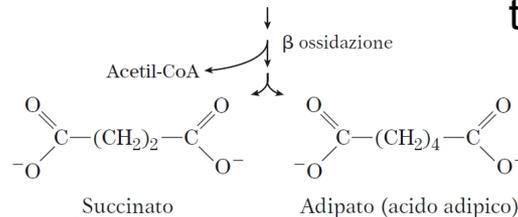


Molecola solubile (eliminabile)



Molecola che può passare al mitocondrio in modo indipendente dal sistema di trasporto carnitina dipendente

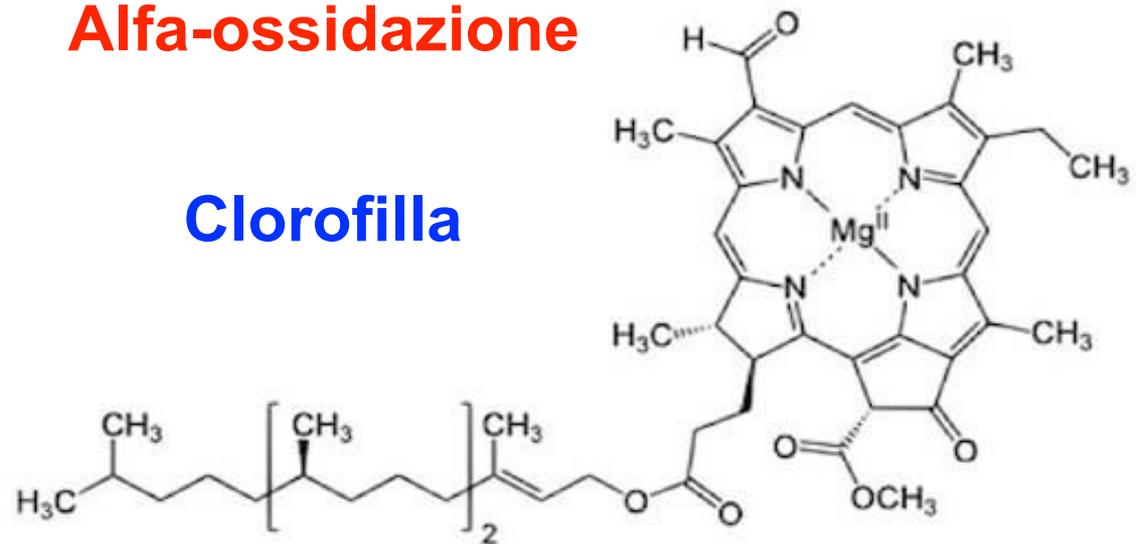
Ciclo di Krebs



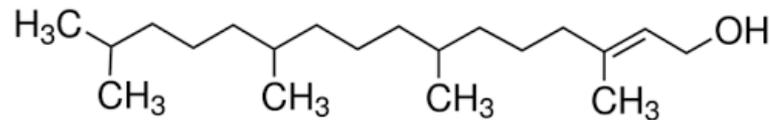
La presenza di adipato nelle urine può essere indice di omega-ossidazione è quindi di una disfunzione della beta-ossidazione

Alfa-ossidazione

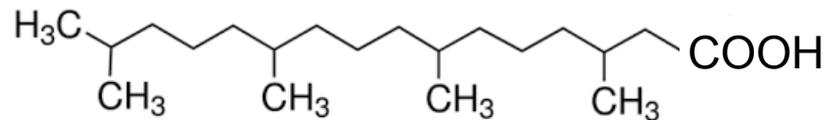
Clorofilla



Da questa catena deriva il fitolo



prodotto dai ruminanti (flora intestinale)

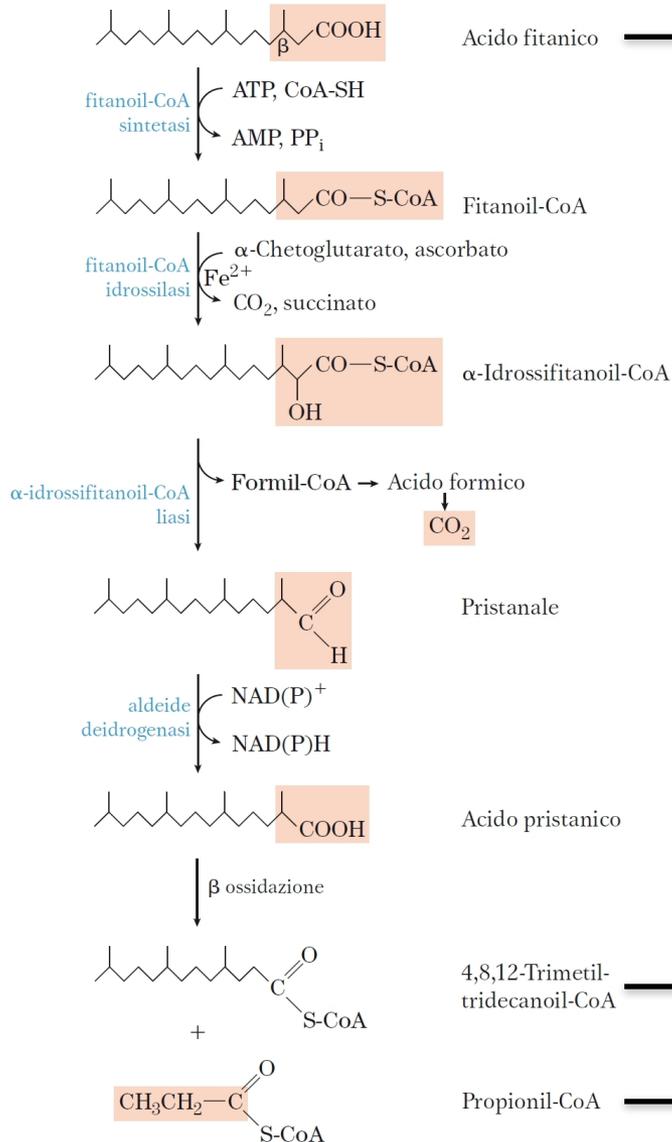


Acido fitanico

Latte, latticini e grasso

Alfa-ossidazione: ox di AG con ramificazioni - perossisomi

(impossibilità di formare un gruppo carbonilico in beta quando è presente un'altro gruppo, in questo caso un gruppo metilico)



Deriva dalla clorofilla (suo accumulo provoca la **malattia di Refsum**, caratterizzata da deficit neurologici). L'enzima responsabile è la **fitanoil-CoA idrossilasi**.

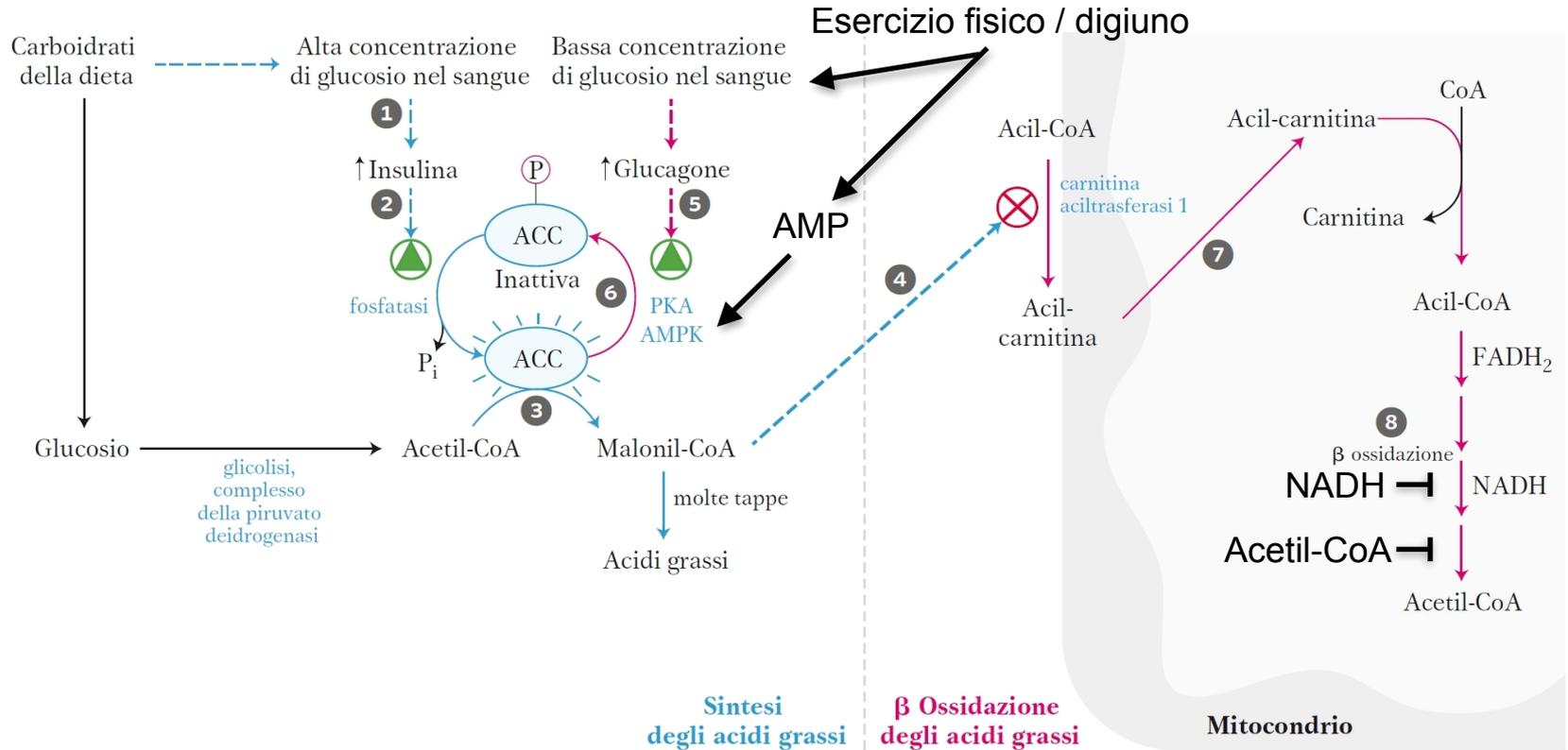
La tappa fondamentale di questa ossidazione è l'introduzione di un gruppo ossidrile sul carbonio alfa e la successiva eliminazione di formil-CoA.

Anche in questo caso è da notare come l'impossibilità di eliminare una molecola assunta con la dieta (molecola che si trova in grandi quantità nei latticini e nella carne derivante dai ruminanti) porti a grave conseguenze.

4,8,12-Trimetil-tridecanoil-CoA → Beta ossidazione (ad un certo punto c'è il trasporto a livello mitocondriale)

Propionil-CoA → Formerà succinil CoA (cofattore B12) [vedasi AG dispari]

Coordinazione sintesi / degradazione AG (regolazione rapida - trascrizione-indipendente)



(fegato / adipe)

Sintesi AG

Accumulo TAG

Acetil-CoA carbossilasi (ACC)
Carnitina aciltrasferasi I

(adipe)

Mobilizzazione TAG

Degradazione AG
(Muscolo)

Disponibilità Glucosio

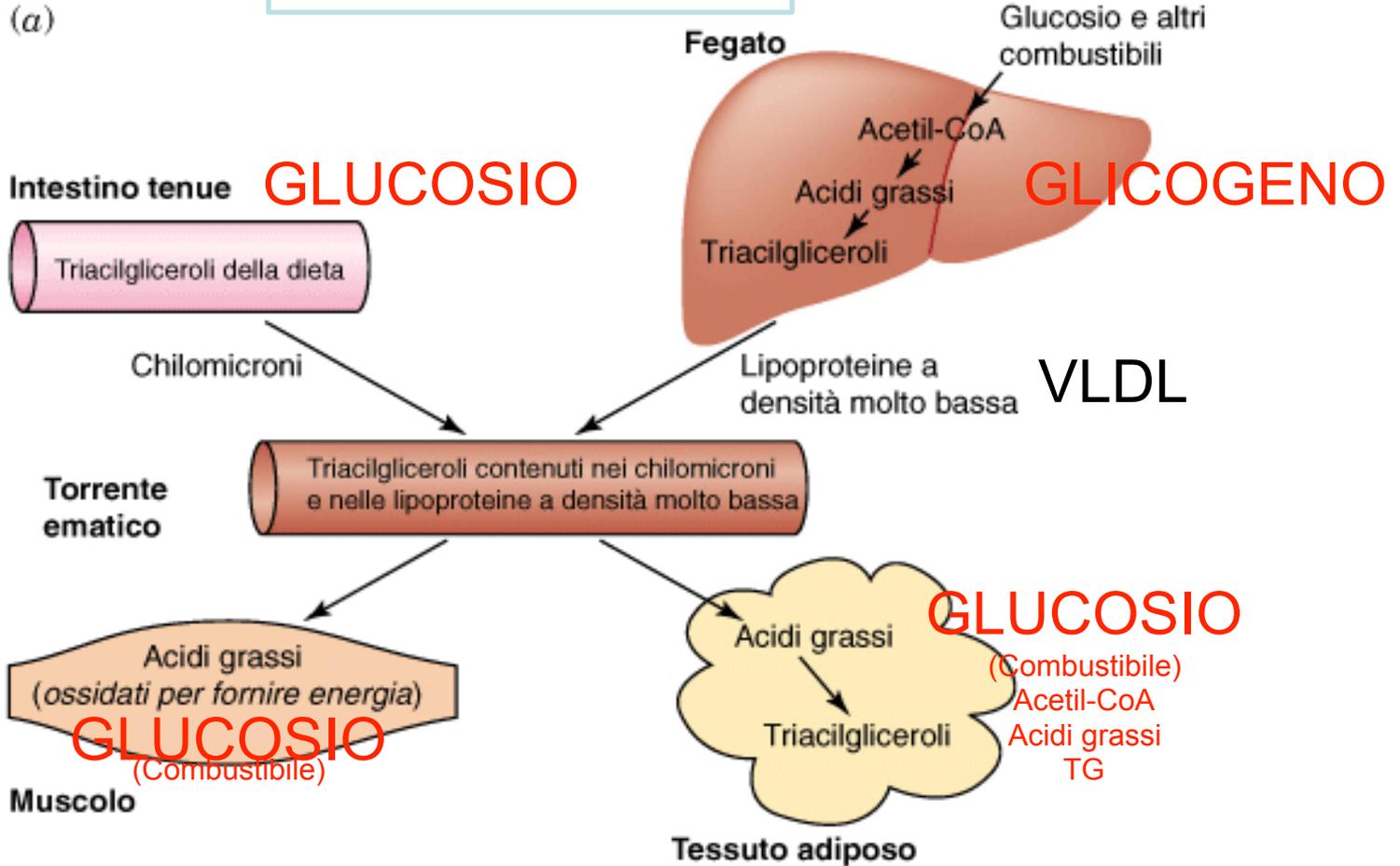
INSULINA

GLUCAGONE

INSULINA ↑
Fegato
Muscoli striati
Adipe

↓ **GLUCAGONE**
Fegato
Adipe

ALIMENTAZIONE



A questo si deve aggiungere il picco insulinico che stimola l'uptake di glucosio da parte delle cellule muscolari e il suo utilizzo come fonte energetica)

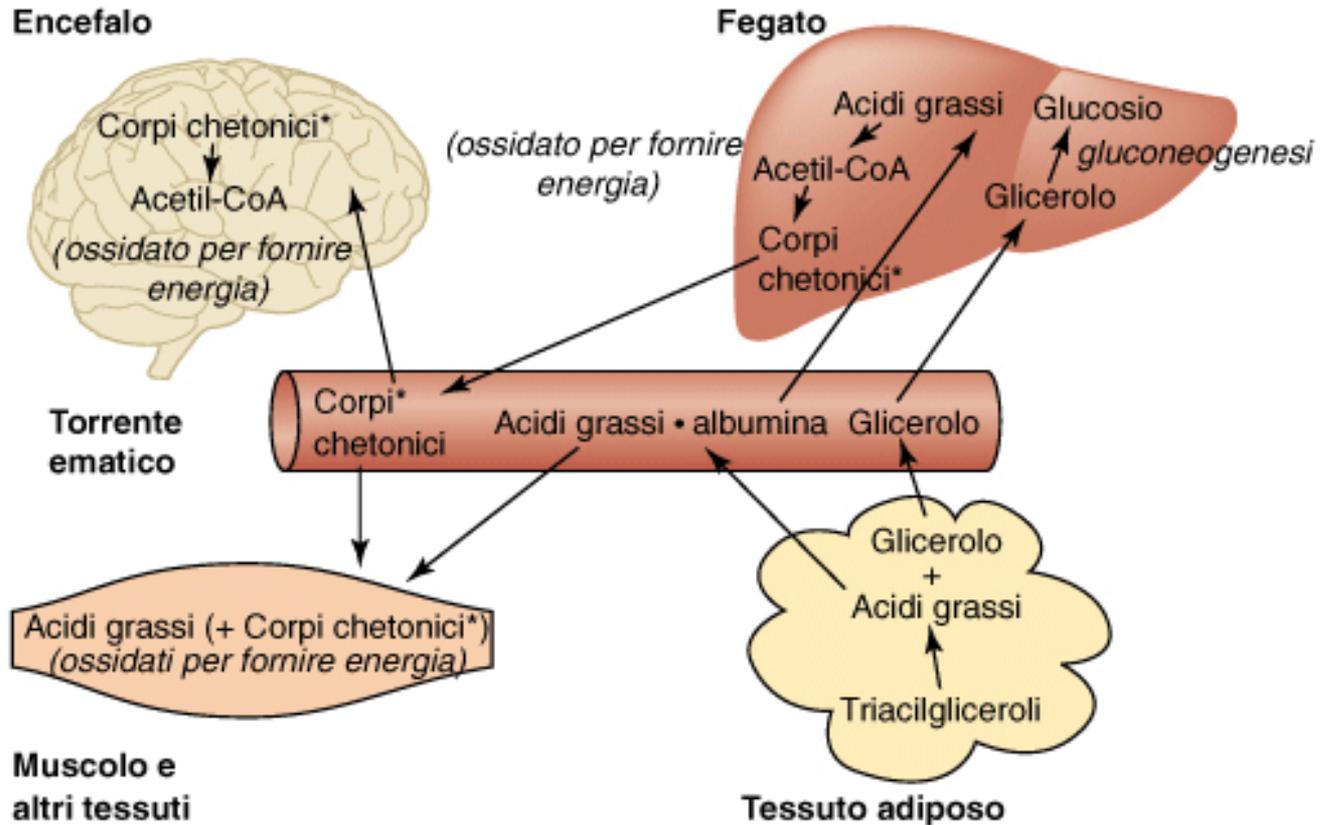
INSULINA ↓

Fegato
Muscoli striati
Adipe (b)

↑ **GLUCAGONE**

Fegato
Adipe

DIGIUNO



Coordinazione sintesi / degradazione AG (regolazione lenta - trascrizione dipendente)

Tra I ligandi: PUFA
linoleic acid, linolenic acids, arachidonic acid,
and eicosapentaenoic acid (EPA).

PPARalfa
recettore nucleare attivato da proliferatori
perossisomiali

Calo Glucosio

↓
Glucagone

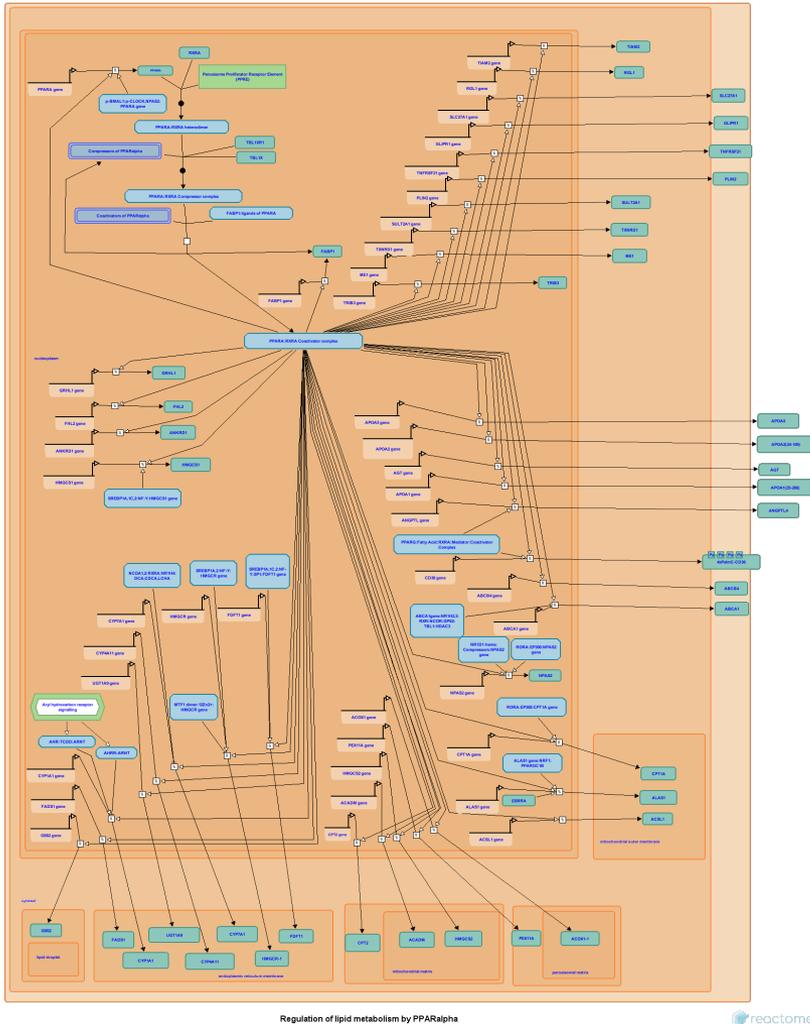
↓
cAMP

↓
CREB

↓
**Trascrizione enzimi
coinvolti nel catabolismo AG e colesterolo**

(carnitina acil-trasferasi 1 e 2, acil-Coa deidrogenasi, altri geni,
anche coinvolti nel trasporto plasmatico di colesterolo)

Coordinazione sintesi / degradazione AG (regolazione lenta - trascrizione dipendente - PPARalfa)



PPAR-alpha is activated by binding polyunsaturated fatty acids (PUFA) especially those having 18-22 carbon groups and 2-6 double bonds. These ligands bind the C-terminal region of PPAR-alpha and include **linoleic acid, linolenic acids, arachidonic acid, and eicosapentaenoic acid (EPA)**.

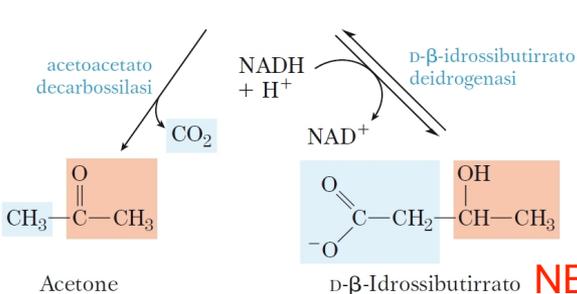
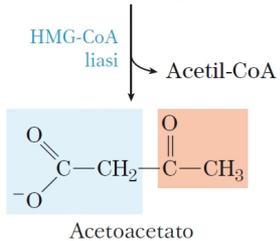
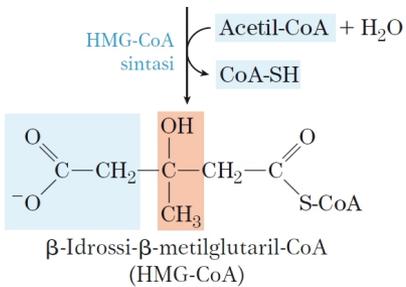
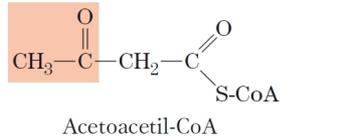
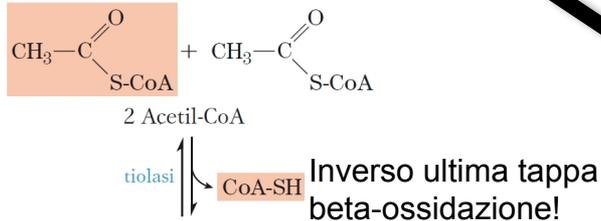
Binding of a ligand causes a conformational change in PPAR-alpha so that it recruits coactivators.

The coactivators belong to the CBP-SRC-HAT complex (CBP/p300, SRC1, SRC2, SRC3, CARM1, SWI/SNF, BAF60C, PRIC320, and PRIC285), the ASC complex (PRIP/ASC2, PIMT), and the TRAP-DRIP-ARC-MEDIATOR complex (TRAP130, PBP/TRAP220).

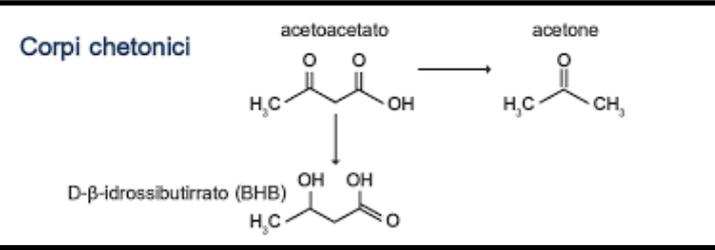
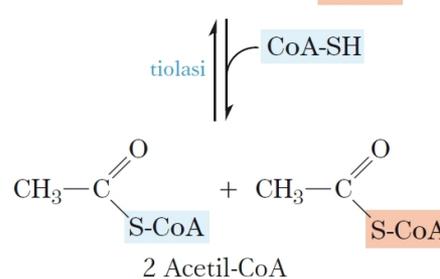
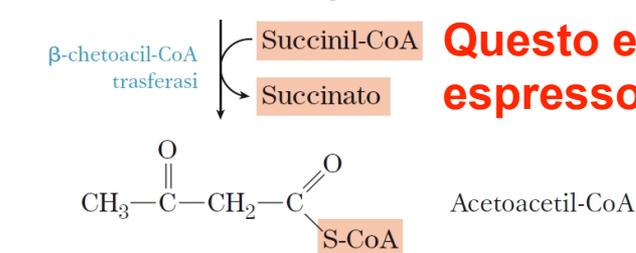
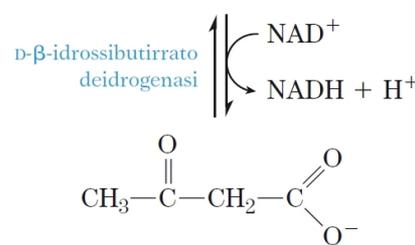
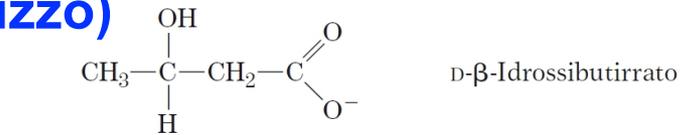
The coactivators contain LXXLL motifs (Nuclear Receptor Boxes) that interact with the AF-2 region in nuclear receptors such as PPAR-alpha.

Corpi chetonici

Fegato (produzione)



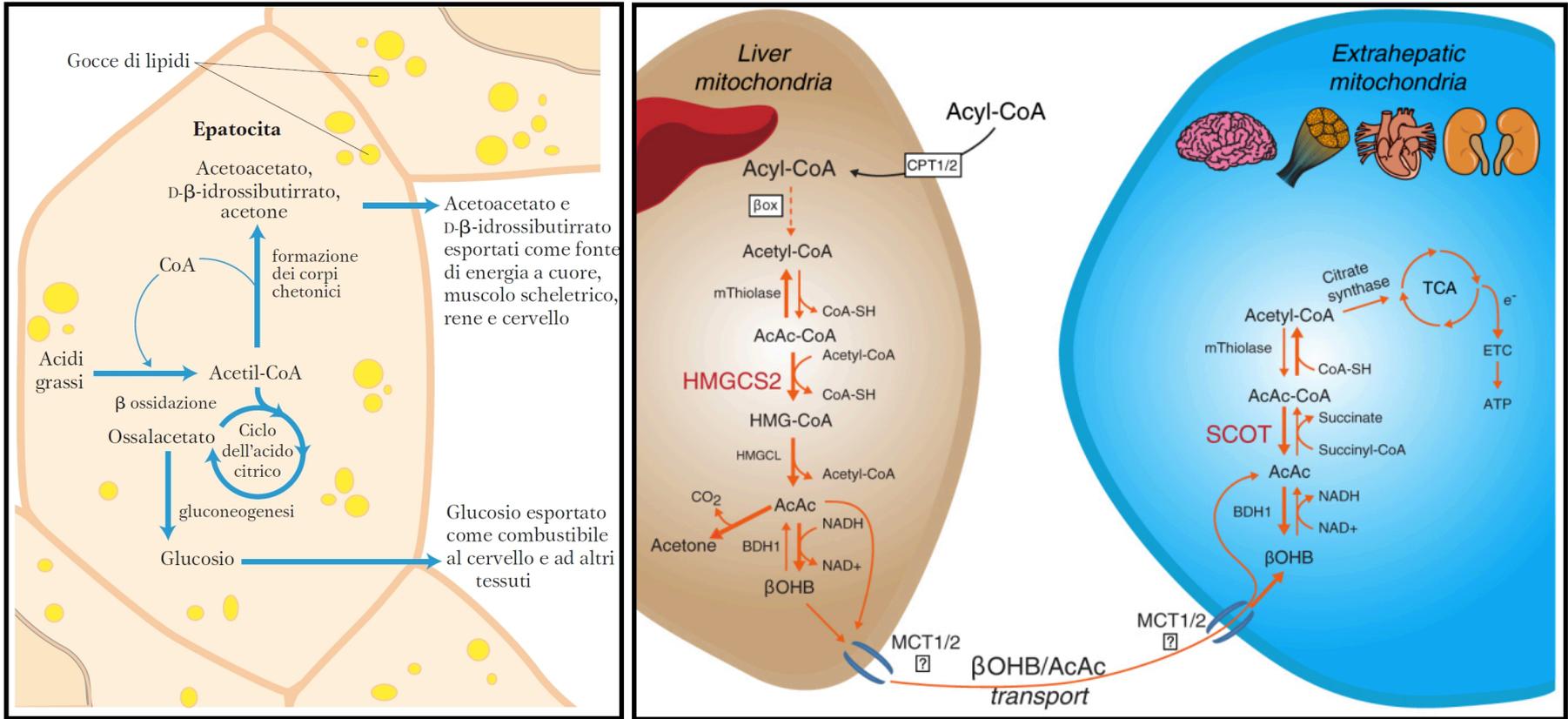
Organi periferici [i.e. Muscolo/Cervello] (utilizzo)



Questo enzima non viene espresso nel fegato

NB: stereoisomero D

Condizione di digiuno prolungato (riserve di glicogeno deplete)



I livelli ematici di glucosio sono bassi, il glucagone stimola la lipolisi, contemporaneamente il fegato cerca di produrre glucosio attraverso la gluconeogenesi e questo porta ad una deplezione di ossalacetato e pertanto il ciclo di Krebs non funziona bene. Al fegato arrivano acidi grassi, che danno attraverso la beta ossidazione Acetil-CoA, che però non può entrare nel ciclo di Krebs e allora viene incanalato nella produzione di corpi chetonici. Più prolungato è questa condizione, maggiore è la produzione di corpi chetonici => condizione di chetoacidosi dovuta alla presenza di acetoacetato e beta-idrossibutirrato nel sangue...

Diabete:

Alterata funzionalità insulinica (varie cause, Tipo 1, Tipo2)

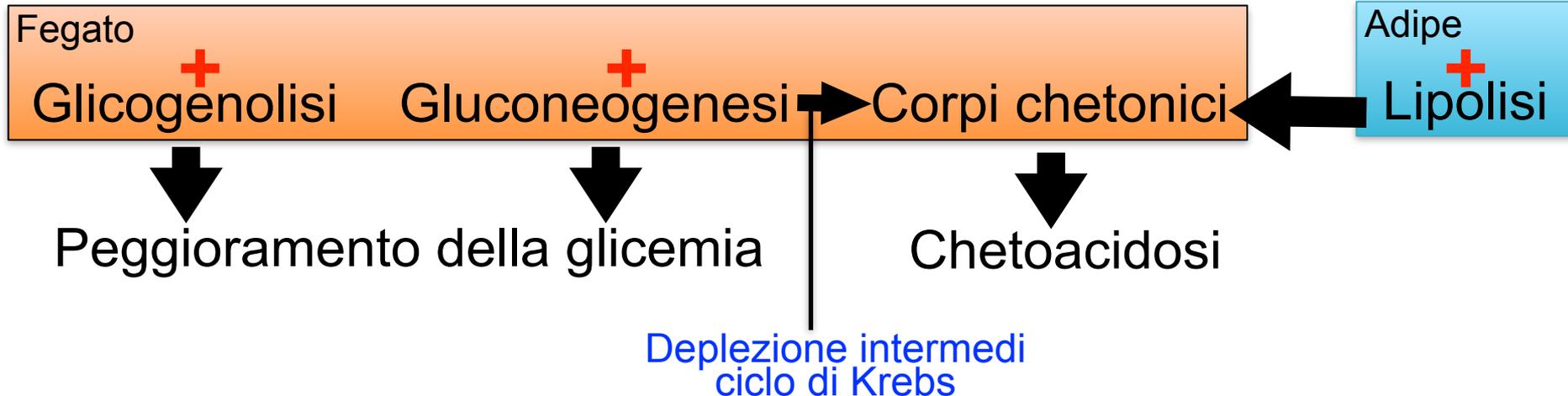


Insulina regola (blocca) secrezione di Glucagone

INSULINA —→ GLUCAGONE

Se manca la funzionalità insulinica la concentrazione di Glucagone sale, a dispetto di una condizione di alti livelli ematici di glucosio

GLUCAGONE



Difetti genetici a carico di enzimi del catabolismo degli AG =>
Patologie dovute all'accumulo di AG
Interconnessione tra Metabolismo e metodi analitici

Screening LC/MS per MCAD

Deficit di acil-CoA deidrogenasi a catena media (MCAD)

Questa è una delle più comuni malattie ereditarie del metabolismo, specialmente in soggetti originari dell'Europa settentrionale (Ca **1/10000**).

Impossibilità di degradare acidi grassi a catena media (6-12 C) => accumulo di acil-carnitina (a lunghezza media).

I sintomi di deficit di MCAD di solito si sviluppano dopo i 2-3 mesi di vita. Con maggiore probabilità, si riscontrano i sintomi se i bambini restano a digiuno per un certo periodo di tempo (il che riduce le altre riserve di energia) o se hanno un fabbisogno calorico maggiore a causa di esercizio fisico o malattia.

Sintomatologia complessa

Ai test biochimici su sangue possono seguire esami delle urine e di altri tessuti.

Per confermare la diagnosi si possono eseguire test del DNA (gene-targeted testing e/o comprehensive genomic testing).

