

SISTEMELE TRANSPORT

Transportul prin membranele celulare se realizează prin două tipuri de sisteme: sisteme de microtransport și sisteme de macrotransport. Ultimele sisteme sunt proprii substanțelor cu masa moleculară mare și se realizează, prin mecanisme specifice, endo și exocitoza, descrise în cursul de histologie.

Sistemele de transport antrenează transportul transmembrantar al substanțelor cu masa moleculară mică prin două mecanisme:

- transportul pasiv care se realizează prin difuziune, osmoză, echilibrul Donnan;
- transportul activ asigurat de pompe active ce se realizează în contragradient de concentrație și prin translocare de grup.

Transportul pasiv

Unele substanțe, de exemplu gazele, pătrund în celulă prin difuzie transmembrantară după gradientul electrochimic, fără utilizare de energie. Viteza acestei difuzii a solvenților este determinată de temperatura moleculelor, gradientul de concentrație transmembrantar al substanțelor și solubilitatea lor în stratul hidrofob membrantar. Solubilitatea este invers proporțională cu numărul legăturilor de hidrogen ce trebuie distruse ca substanța solubilă în mediul apos să fie inclusă în stratul hidrofob. Electroliții insuficient solubili în lipide nu formează cu apa legături de hidrogen, dar posedă membrană apoasă, formată ca rezultat al interacțiunii electrostatice. Dimensiunile ei sunt direct proporționale cu densitatea sarcinii electrolitului. Cu cât densitatea sarcinii electrolitului este mai mare, cu atât lui îi aparține o membrană apoasă mai majoră și, în final, se caracterizează cu o viteză a difuziei mai mică. De exemplu: ionul de Na^+ posedă o densitate a sarcinii mai mare decât ionul de K^+ și, deci, Na^+ hidratat are dimensiuni mai mari decât K^+ și, în consecință viteza lui de difuzie pasivă va fi mai mică.

În membranele biologice, spre deosebire de bistraturile sintetice, sunt amplasate canale transmembrantare ionice de natură proteică. Viteza de transport prin ele este dependentă de diferența de concentrație – de la o concentrație mai mare spre o concentrație mai mică. Canalele permeabile pentru cationi au diametrul egal aproximativ cu 5-8 nm și conțin grupe încărcate negativ. Conductibilitatea lor e dependentă de mărimea, gradientul de hidratare și densitatea sarcinii ionului respectiv.

Activitatea acestor canale ionice este reglată în membranele celulelor nervoase de neuromediatorii. Unii ioni reglează activitatea canalului permeabil pentru alt ion. La micșorarea concentrației de Ca^{++} , în lichidul extracelular se majorează permeabilitatea și difuzia Na^+ , ce conduce la depolarizarea membranei și generarea impulsului nervos. Canalele sunt deschise numai pentru o anumită durată de timp, ce este determinată de fixarea unui ligand specific de receptor. În alte cazuri, canalele se deschid la modificările potențialului membrantar. Unele microorganisme pot sintetiza molecule organice mici – *ionofori*, care realizează transferul navetă al ionilor prin membrane. Acești ionofori conțin centre hidrofile, ce fixează anumiți ioni. Periferia acestor centre prezintă o membrană hidrofobă, ce permite acestor molecule ușor să se dizolve în membrană și să difundeze prin ea. Alți ionofori, ca polipeptida *gramicidina*, formează canale proteice. Unele toxine microbiene (*toxina difterică*) și componentele complementului seric activ pot forma pori în membranele celulare, prin care se pot deplasa și macromoleculele.

Mecanismele schematice de transfer transmembrantar sunt redată în fig. 5.10.

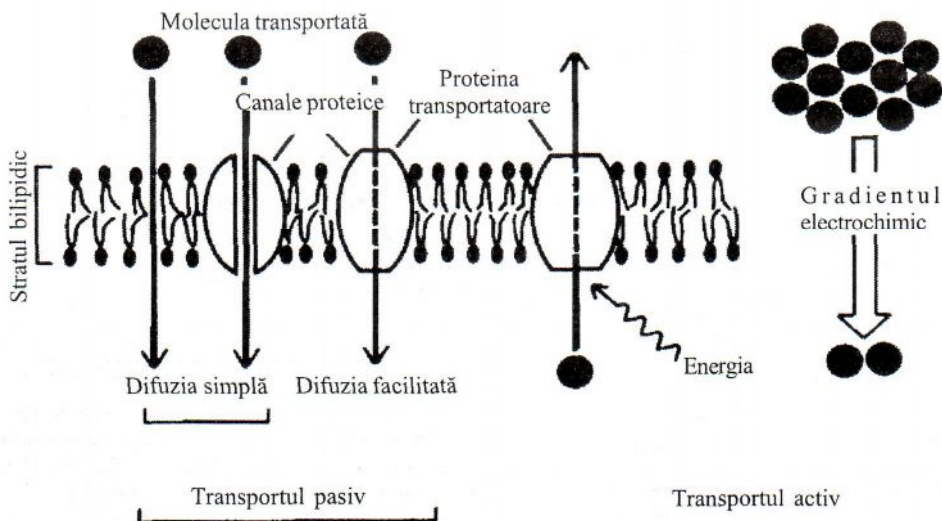


Figura 5.10. Mecanismele schematice ale transferului transmembrantar

Constatăm că difuzia substanțelor e cauzată de:

1. Gradientul de concentrație transmembrantar. Solvenții se deplasează spre micșorarea concentrației lor.
2. Diferența transmembrantară a potențialului electric. Substanțele dizolvate se deplasează spre soluția cu sarcina antipodă.
3. Coeficientul permeabilității membranei pentru substanța în cauză.
4. Gradientul de presiune hidrostatică pe membrană. La creșterea presiunii se accelerează viteza de contact între molecule și membrană.
5. Temperatură. Temperatura ridicată amplifică viteza particulelor și posibilitatea de interacțiune între ele și membrană crește.

Difuzia mediată (facilitată) și transportul activ. Sistemele de transport pot fi caracterizate după numărul și direcția moleculelor transferate (fig.5.11). În sistemul *uniport* are loc transferul moleculelor de un tip anumit în ambele direcții. În sistemul *cotransport* transferul unei substanțe solubile este însoțit de transferul, împreună sau în succesiune, a unei cantități echivalente ale altei substanțe. În caz de *simport*, ambele substanțe se deplasează în aceeași direcție (H^+ -zaharuri, Na^+ - zaharuri, Na^+ - aminoacizi). În *antiport* substanțele se transferă în direcții opuse (Na^+ – în celulă, Ca^{2+} – din celulă). Moleculele care nu pot singure traversa bistratul lipidic sunt transferate de proteine specifice. Un așa transfer se realizează pe două căi: prin difuzie mediată sau transport activ, cu utilizarea unor căi specifice de transport. Ambele sisteme sunt asemănătoare cu reacțiile dintre enzimă și substrat, însă se realizează fără formarea

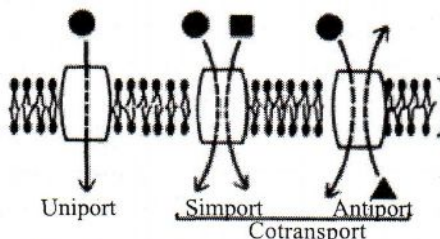


Figura 5.11. Redarea schematică a tipurilor sistemelor de transport

legăturilor covalente. Se deosebesc prin faptul că: 1) difuzia mediată se realizează în ambele direcții, pe când transportul activ, de obicei, numai într-o direcție;

2) transportul activ are loc contra gradientului electric sau chimic și necesită utilizare de energie.

Difuzia mediată

S-a constatat că unele substanțe difundează prin membrană după gradientul electrochimic mult mai rapid decât se poate considera, reieșind din dimensiunile, densitatea și coeficientul de solubilitate ale acestor particule (fig.5.12). Sistemele respective sunt stereospecifice și nu necesită energie. Se cunoaște că proteinele membranare sunt localizate asimetric, au anumit grad de stabilitate și deplasarea lor transversală prin membrană are loc în exclusivitate și nu poate determina acest mecanism de difuzie. Acest proces se datorează unor modificări conformaționale ale proteinelor (permeaze) de tipul «ping-pong» (fig.5.13).

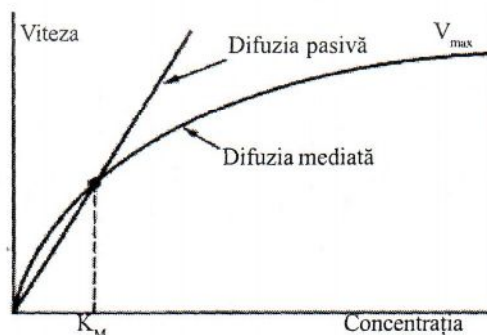


Figura 5.12 Cinetica difuziei pasive și mediate. În difuzia pasivă viteza transportului e proporțională cu concentrația substanțelor respective. În difuzia mediată se observă fenomenul de saturație.

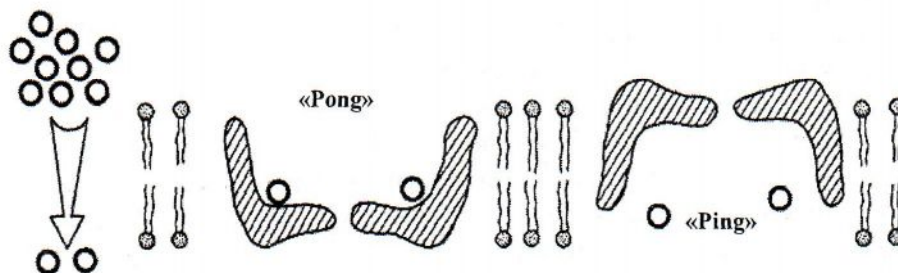


Figura 5.13. Mecanismul «ping-pong»

Procesul este reversibil și rezultanta este cauzată de gradientul de concentrație. Viteza cu care substanța solubilă se va deplasa în celulă e dependentă de:

1. gradientul de concentrație transmembranar;
2. numărul de transportatori;
3. viteza de fixare a substanței cu transportatorul;
4. viteza modificărilor conformaționale în ambele stări ale transportatorului. Transportul moleculelor prin intermediul transportatorului necesită un nivel de energie liberă mult mai mic.

În difuzia simplă moleculele hidrofile pierd învelișul apos. Acest proces este înalt endergonic, avînd un ΔG (energie liberă) foarte înalt (fig. 5.14a). Proteina transportătoare reduce energia liberă pentru difuzia transmembranară (fig. 5.14b). Procesul este mediat prin interacțiuni necovalente, cu pierderea învelișului apos, ca rezultat al ruperii legăturilor de hidrogen, promovînd transportul moleculelor hidrofile.

Hormonii reglează difuzia mediată prin reglarea numărului de transportatori posibili (insulina – glucoza, glucocorticoizii – aminoacizii etc.)

Transportul activ se realizează cu consum de energie, ca rezultat al modificărilor în echilibru termodinamic. Sursa de energie este hidroliza ATP, procesul de transfer al electronilor, lumina. Menținerea gradientului electrochimic joacă un rol decisiv în sistemele biologice și este cuplată cu utilizarea a 30-40% din energia captată de celule.

Căile de transport activ sunt: a) transportul în contragradient de concentrație și b) transportul prin translocare de grup.

În cazul transportului în contragradient de concentrație o substanță poate trece de la o concentrație scăzută (Na^+) a unui compartiment (celulă) la o concentrație mai crescută a altui compartiment – contrar concentrației de K^+ . Pompa care menține acest gradient este ATP-aza activată de ionii de Na^+ și K^+ .

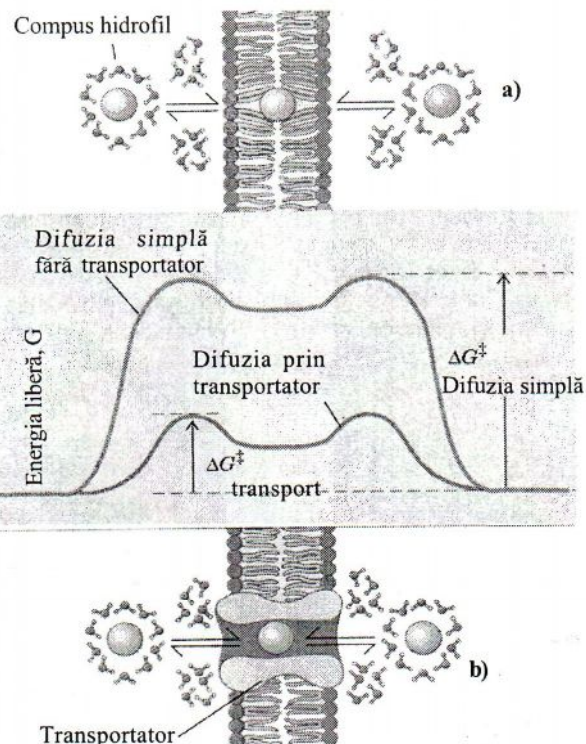
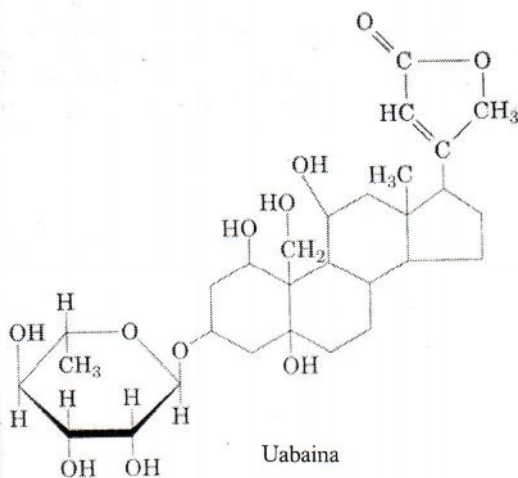


Figura 5.14. Energia liberă la transportul moleculelor hidrofiele prin membranele biologice: a) difuzie simplă și b) difuzie prin transportator



ATP-aza este o proteină integrală constituită din două subunități de tip α , cu masa moleculară de 94kDa și două de tip β , cu masa 50kDa, unde α subunitate are rol catalitic. Activitatea ei necesită fosfolipide. Centrele catalitice pentru ATP și Na^+ sunt aranjate pe partea citoplasmatică a membranei, centrul catalitic pentru K^+ – în exteriorul membranei (fig.5.15). Uabaina inhibă activitatea enzimei, fixându-se de fragmentul extracelular. Această inhibiție poate fi anihilată parțial prin K^+ extracelular.

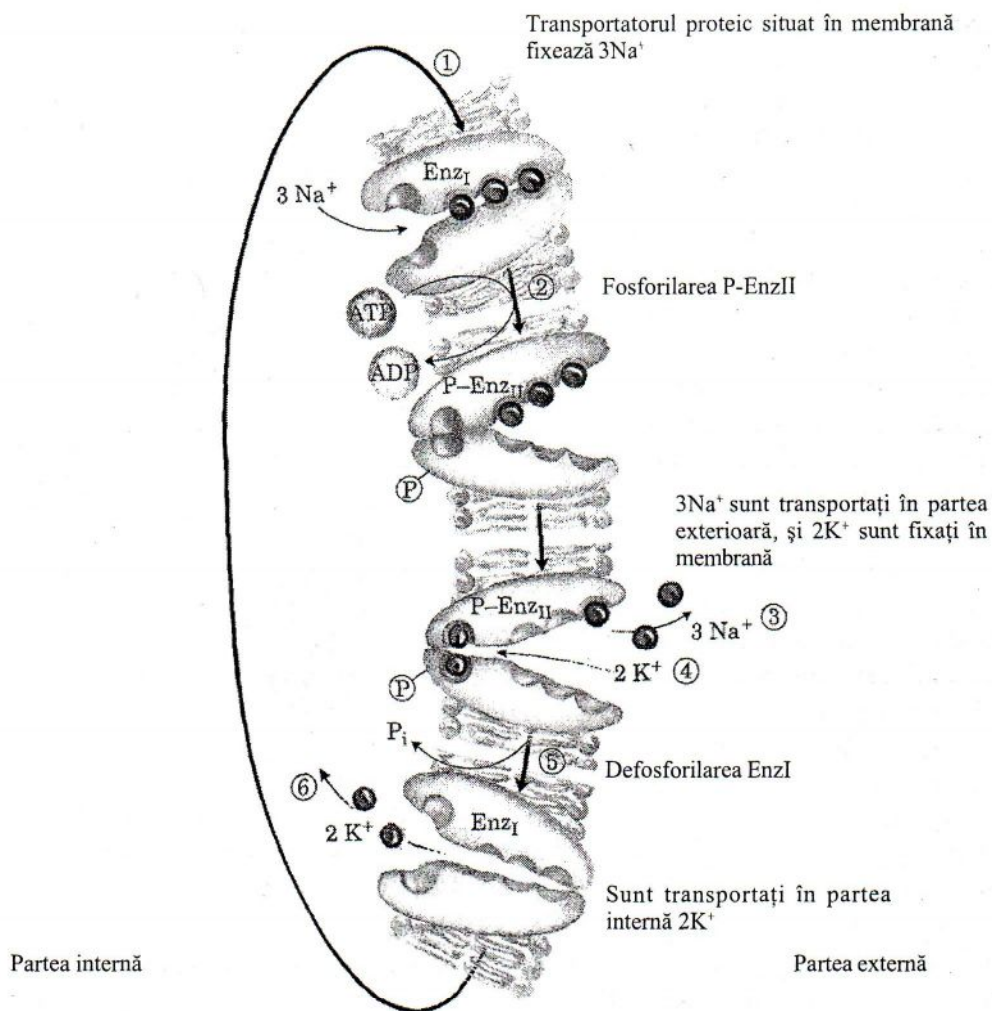


Figura 5.15. Mecanismul de transport al ionilor de Na^+ și K^+ , de $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPaza}$. 1) Pe suprafața internă a transportatorului proteic, aranjat în membrană, sunt legați 3Na^+ . Na^+ are o afinitate majoră față de subunitatea mare a transportorului. Această subunitate posedă și site-ul de fixare a ATP-ului. 2) Fosforilarea modifică conformația moleculei proteice și micșorează afinitatea față de Na^+ , care este expulzat în exteriorul membranei. 4) K^+ exterior are o afinitate majoră față de porțiunea extracelulară a subunității mari. 5) Enzima este defosforilată, reducând afinitatea față de ionii de K^+ . 6) K^+ este transferat în interiorul celulei. Proteina transportatoare participă la un nou ciclu de transport al Na^+ și K^+

Transportul prin translocare de grup implică formarea unui derivat al substanței inițiale. Derivatul format prin utilizarea ATP traversează membrana în contragradient de concentrație. Se consideră că astfel de transfer se realizează în cazul compușilor glucidici (hexoze), cu participarea unei fosfotransferaze, ce transferă gruparea fosfat pe molecula de hexoză (fig.5.16a).

Sistemele de transport discutate sunt sumar redată în fig.5.16b.

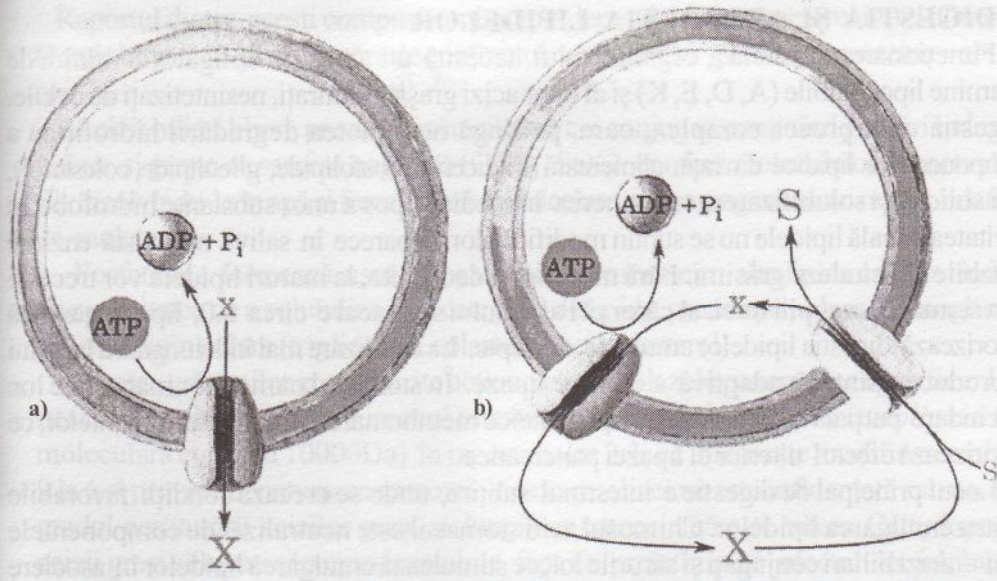


Figura 5.16a. Două tipuri de transport activ: a) în transportul activ primar, energia realizată prin hidroliza ATP-ului este utilizată în transportul contra gradientului electrochimic. b) în transportul activ secundar ionul X este transportat activ. Energia necesară pentru deplasarea cotransportatorului, ionul S este asigurată de mișcările ionului X

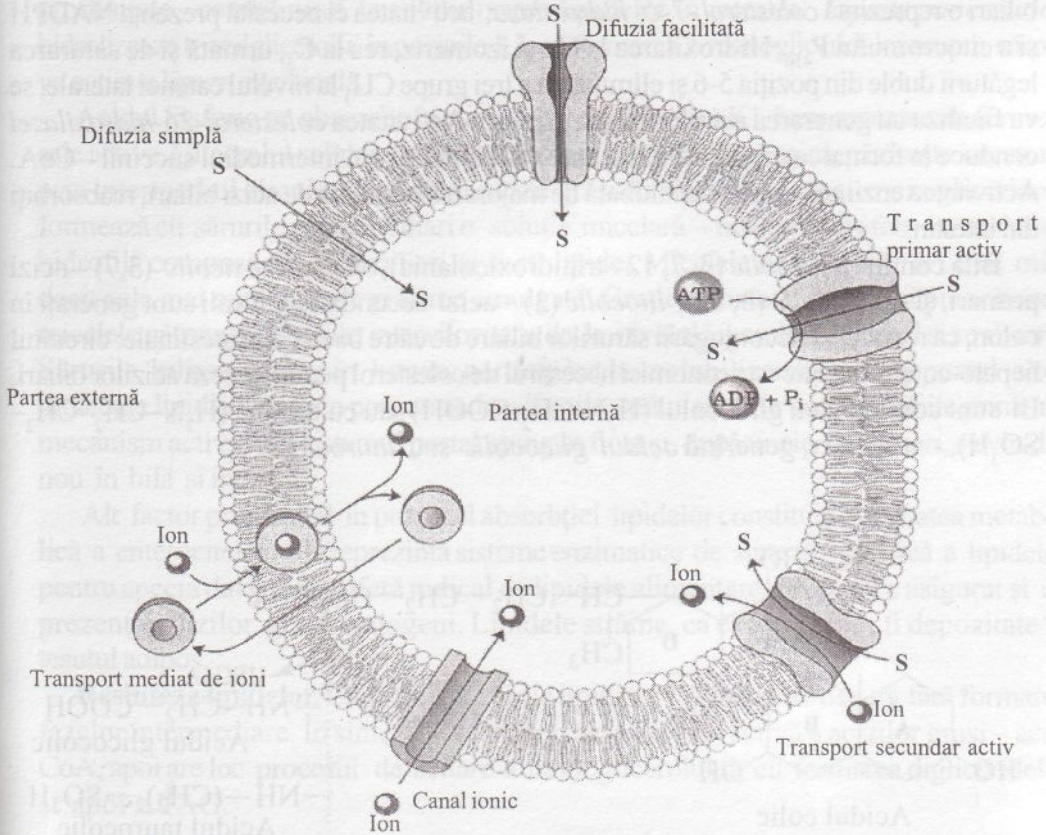


Figura 5.16b. Tipurile de transport

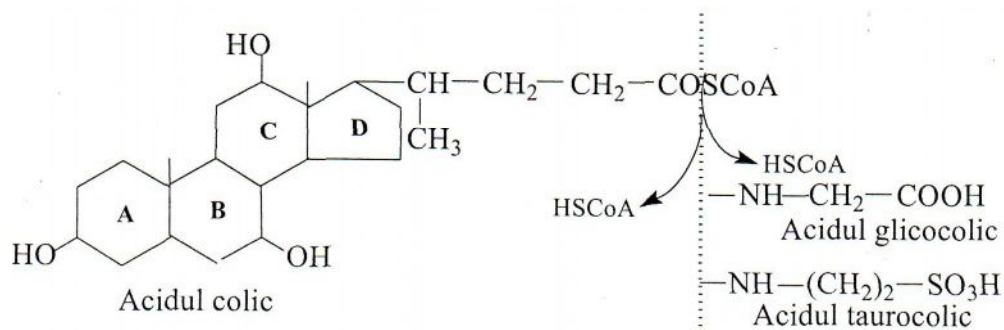
DIGESTIA ȘI ABSORBȚIA LIPIDELOR

Funcționarea normală a organismului necesită un consum obligatoriu minim de vitamine liposolubile (A, D, E, K) și al unor acizi grași nesaturați, nesintetizați de celule. Digestia e un proces complex, care, pe lângă necesitatea degradării hidrolitice a componentelor lipidice din rația alimentară (trigliceride, fosfolipide, glicolipide, colesterol), mai solicită și solubilizarea, menținerea în mediul apos a unor substanțe hidrofobe. În cavitatea bucală lipidele nu se supun modificărilor, deoarece în salivă nu există enzime capabile să scindeze grăsimi. Fără modificări deosebite, la maturi lipidele vor trece și prin stomac. La copiii mici, al căror pH al sucului stomacal e circa 5.0, lipaza gastrică favorizează digestia lipidelor emulgate din lapte. La o utilizare mai îndelungată a laptelui se produce o sinteză adaptivă a acestei lipaze. În stomacul oamenilor maturi are loc o scindare parțială a complexelor lipoproteice membranare din celulele alimentelor, ce favorizează efectul ulterior al lipazei pancreatice.

Locul principal de digestie e intestinul subțire, unde se creează condiții favorabile pentru emulgarea lipidelor. Chimusul acid stomacal este neutralizat de componentele bilei – acizi biliari conjugați și sărurile lor, ce stimulează emulgarea lipidelor în asociere cu acțiunea peristaltismului. La emulgare participă și enzimele.

Acizii biliari reprezintă produsul final al metabolismului colesterolului și, după structură, constituie derivați ai acidului colanic (C_{24}). Enzima-cheie în sinteza acizilor biliari o reprezintă *colesterol-7- α -hidroxilaza*; activitatea ei necesită prezența NADPH și a citocromului P_{450} . Hidroxilarea la C_{12} și izomerizarea la C_3 , urmată și de saturarea legăturii duble din poziția 5-6 și eliminarea a trei grupe CH_3 la nivelul catenei laterale, se va finaliza cu generarea acizilor biliari primari. Activitatea *colesterol-26-hidroxilazei* conduce la formarea *propionil-CoA*, care va fi utilizat prin intermediul succinil – CoA. Activitatea enzimei-cheie este inhibată de majorarea nivelului de acizi biliari, reabsorbiți din intestin.

Bila conține *acid colic* (3, 7, 12 - trihidroxicolanic), *chenodezoxicolic* (3,7) – acizi primari, și *dezoxicolic* (3, 12), *litocolic* (3) – acizi secundari. Ultimii sunt generați în colon, ca rezultat al deconjugării sărurilor biliare de către bacteriile intestinale: circuitul hepato-entero-hepatic va economisi necesarul de colesterol pentru sinteza acizilor biliari. Ei sunt conjugați cu glicocolul (H_2N-CH_2-COOH) sau cu taurina ($H_2N-CH_2-CH_2-SO_3H$), - respectiv, generând *acidul glicocolic* sau *taurocolic*.



Raportul dintre acești compuși conjugați e dependent de caracterul rației alimentare. O rație bogată în glucide mărește conținutul conjugatelor glicinei; în proteine – ale taurinei.

Acizii biliari liberi, precum și sărurile lor, cei conjugați conținând grupări hidroxilice polare și grupe cu sarcină negativă (COO^- , SO_3^-), conferă moleculelor caracter hidrofil, dizolvându-le în apă și formând soluții micelare, prin agregarea unui număr relativ mic de molecule.

Fosfatidele formează ușor agregate micelare mixte cu alte lipide care, la rândul lor, au capacitatea de a solubiliza alte categorii de lipide pronunțat polare (monogliceride) sau mai puțin polare (trigliceride, colesterol, acilcolesterol).

Asupra grăsimilor emulsionate acționează hidrolazele pancreatice specifice. *Lipaza* neactivă devine activă în lumenul intestinal, formând un complex cu *colipaza* (masa moleculară egală cu 10000Da) în raport molar 2:1, ce înlesnește modificarea pH de la 9 la 6 și previne denaturarea enzimei. Viteza catalizei nu este influențată substanțial de gradul nesaturării acizilor grași și lungimea catenei; mărește viteza Ca^{++} , formând cu acizii grași eliberați săpunuri insolubile, fapt ce preîntâmpină efectul lor inhibitoriu și deplasând reacția spre hidroliză.

Fosfolipidele sunt scindate de fosfolipazele pancreatice de o specificitate carboxiesterazică, cu formarea lizofosfatidelor ce au proprietăți detergente foarte pronunțate, contribuind la solubilizarea lipidelor în intestin. *Lipaza pancreatică* hidrolizează triacilglicerolii în pozițiile 1,3, cu formarea 2-monogliceridelor asupra cărora va acționa lipaza intestinală.

Acidul fosforic se absoarbe în stare de sare de Na^+ sau K^+ , baze azotate sub formele sale active. Glicerolul solubil, de rând cu acizii grași cu o catenă mică, părăsește intestinul prin intermediul circulației portale. Acizii grași cu o catenă mare și monogliceridele formează cu sărurile acizilor biliari o soluție micelară – nucleu hidrofob – membrană hidrofilă compusă din acizi biliari și fosfolipide. Micelele sunt de 100 ori mai mici decât cele mai mici bule de grăsime emulgată. Grație difuziei micelare și pinocitozei, micelele pătrund în spațiile intervillozitare de la nivelul jejunului proximal și se absorb. Sărurile biliare rămân în lumen, participând la solubilizarea și transportul altor molecule lipidice. Abia în porțiunea distală a ileonului sărurile sunt absorbite printr-un mecanism activ. Prin sistemul portal ajung în ficat și, după unele remanieri, revin din nou în bilă și intestin.

Alt factor primordial în procesul absorbției lipidelor constituie activitatea metabolică a enterocitelor. Ele reprezintă sisteme enzimatice de sinteză specifică a lipidelor pentru specia dată, care diferă radical de lipidele alimentare. Procesul e asigurat și de prezența acizilor grași endogeni. Lipidele străine, ca excepție, pot fi depozitate în țesutul adipos.

Resinteza lipidelor. Căile de sinteză ale lipidelor în enterocite decurg fără formarea fazelor intermediare. În sinteza TAG se formează forma activă a acizilor grași – acil-CoA, apoi are loc procesul de acilare a monoglicerolului, cu formarea digliceridelor și apoi a TAG.

Resinteza fosfolipidelor decurge, cu formarea acidului fosfatidic: din glicerol-3-fosfat, apoi acilarea lui. Moleculele lipidice reconstituite (TAG, FL), împreună cu colesterolul și cantități mici de proteină, formează particule relativ stabile, numite *chilomicroni* (fig.5.17). Chilomicronii secretați, deplasându-se prin vasele chilifere și sistemul limfatic, ajung în circulația sanguină. După o oră-două, la asigurarea suficientă cu lipide, se observă hiperlipidemia alimentară, cu un apex la 4-6 ore; peste 12 ore chilomicronii dispar din circulația sanguină. Care este soarta lor?

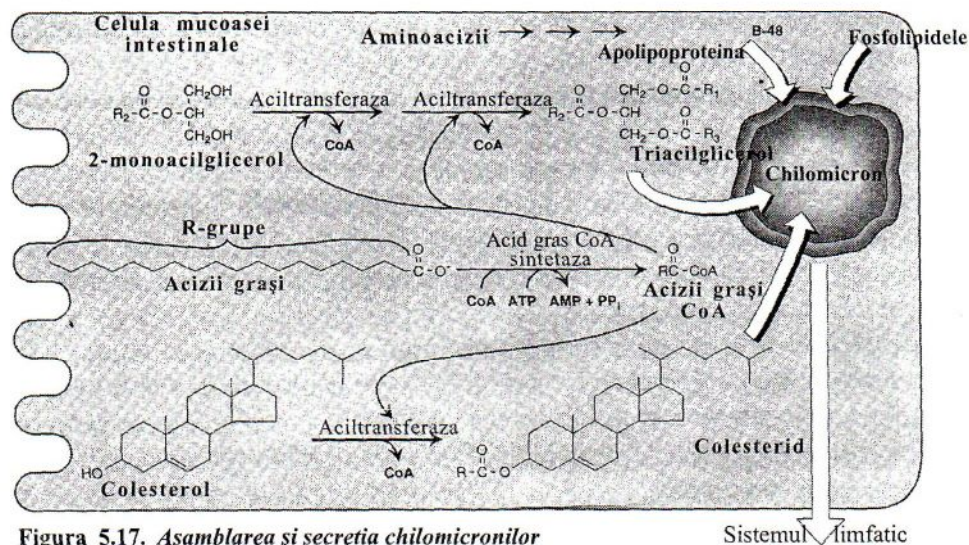


Figura 5.17. Asamblarea și secreția chilomicronilor

Chilomicronii excelează liber din sânge în spațiul intercelular al ficatului, unde sunt supuși hidrolizei atât în interiorul, cât și pe suprafața hepatocitelor. Chilomicronii nu pătrund în țesutul adipos și în celule. Ca atare, TAG se hidrolizează pe suprafața endoteliului capilarelor țesutului adipos sub acțiunea *lipoproteinlipazei* (LPL), cu formarea acizilor grași și a glicerolului. O parte de acizii grași pătrunde în interiorul adipocitelor, alta se fixează de albumina sîngelui și se transportă prin sânge, glicerolul la fel părăsește țesutul adipos. Colesterolul, fosfolipidele, apolipoproteinele sunt transferate pe HDL (lipoproteine cu o densitate mare).

LPL este activată de *apolipoproteina C - II* primită în prealabil de la HDL, veritabile «rezervoare» de apo C. Acizii grași eliberați sub acțiunea LPL pot fi catabolizați pe calea β -oxidării, cu generarea de energie, sau pot fi depozitați sub formă de TAG în țesutul adipos. Alternativ, acizii grași pot fi legați de albumina serică și transportați spre alte țesuturi.

LPL este sintetizată de celulele endoteliale capilare și fixată pe suprafața lumenală a acestora prin intermediul heparan sulfatului. Sângele nu conține cantități mari de LPL. Însă prin administrarea de heparină, se observă desprinderea LPL de pe suprafața endoteliului și clarifierea serului lactescent. Cantități mari de LPL se evidențiază în țesutul adipos, inimă, glanda mamară în lactație, plămîni, splină, rinichi, cu excepția ficatului și a creierului. Afinitatea LPL pentru TAG chilomicronilor diferă de la țesut la țesut.

Astfel, LPL din inimă are constanta Michaelis K_M de 10 ori mai mică decât enzima din țesutul adipos. Această diferență explică de ce în condiții de inaniție, când are loc diminuarea concentrației TAG, enzima miocardică rămîne saturată vizavi de substratul său, iar activitatea enzimei din adipocite scade, ceea ce va determina redistribuția TAG din țesutul adipos spre inimă, unde vor fi hidrolizați de LPL. Acizii grași rezultați vor fi utilizați în celulele miocardice ca material energetic.

S-a observat că LPL este produsă și de macrofagele din intima arterelor. Datele experimentale obținute de unii autori demonstrează că LPL din macrofage poate juca un rol important în procesul aterosclerozei. Cantitatea de LPL sintetizată de macrofage este influențată de stresul oxidativ. Cercetările au arătat că mutațiile la nivelul genei ce codifică LPL pot afecta activitatea enzimei, determinînd o dezvoltare mai rapidă a leziunilor aterosclerotice.

După acțiunea LPL asupra chilomicronilor, aceștia sunt transformați în particule reziduale numite chilomicroni remanenți, avînd în compoziția lor mai ales apolipoproteinele B-48 și E. La nivelul ficatului, chilomicronii remanenți sunt captați prin intermediul unor receptori hepatocelulari specifici și componentele lor lipidice sunt catabolizate sub influența enzimelor lizozomale (fig.5.17a).

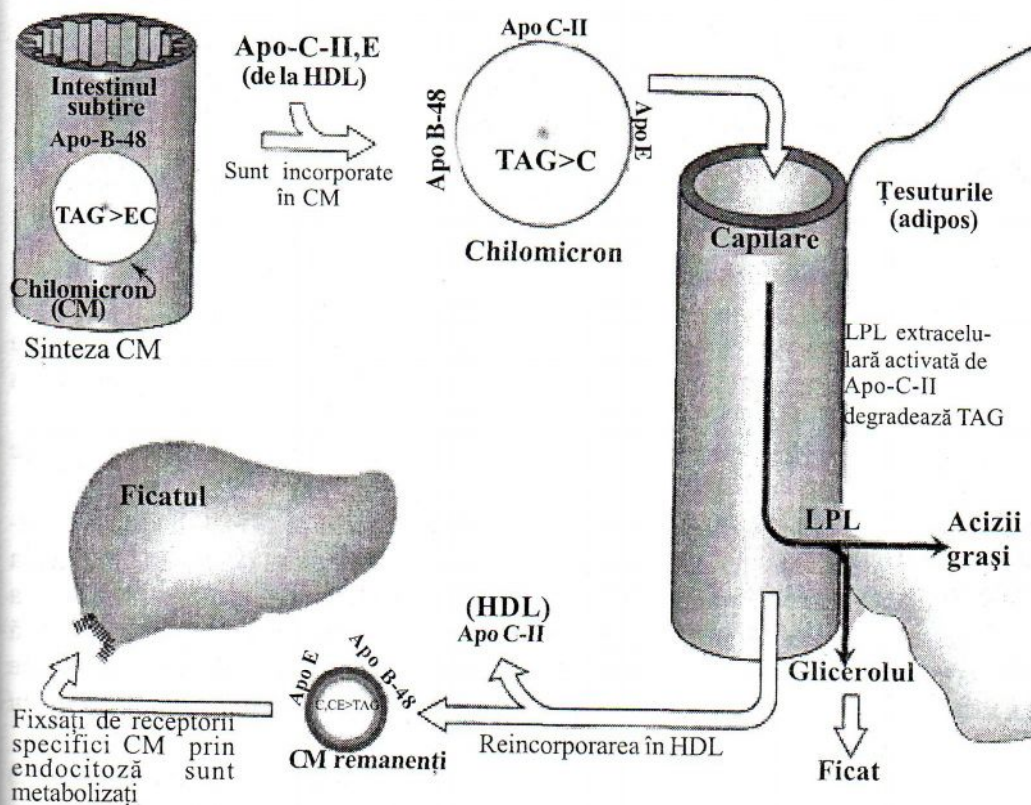


Figura 5.17a. Metabolismul chilomicronilor (CM-chilomicron; TAG-triacilglicerol; C-colesterol; EC - esterii colesterolului; LPL - lipoproteinlipaza)

LIPIDELE SÎNGELUI

Metabolismul chilomicronilor este perturbat de deficiențe în lipoproteinlipază. Ca rezultat, se înregistrează sporiri evidente și persistente ale TAG, depunerea lor în țesuturi (boala ereditară – *hiperlipoproteinemie de tip I*). Anomalia sintezei apolipoproteinei B la nivel intestinal frânează formarea chilomicronilor și transportul lipidelor exogene. TAG se acumulează în celulele intestinale și, consecutiv, se perturbă absorbția altor lipide din intestin – *steatoree*, evidențiindu-se și o carență de vitamine liposolubile (fig.5.18).

Lipoproteinele sunt sintetizate la nivelul ficatului și intestinului din lipide endogene și exogene.

Anabolismul lipoproteinelor cuprinde următoarele etape principale:

- sinteza componentelor lipidice (triacilgliceroli, fosfolipide, colesterol liber, colesteride);
- sinteza apolipoproteinelor;
- asamblarea lipoproteinelor sintetizate în torrentul circulator.

Lipoproteidele sîngelui sunt legate necovalent, dar durabil. Aceste structuri sunt solubile în apă și bine adaptate la transportul lipidelor în diferite țesuturi și organe. Cu cât conținutul lipidic e mai mare, cu atât densitatea lor e mai mică. Chilomicronii au o densitate mai mică de 0,85 g/mL.

În concordanță cu densitatea lor crescîndă la ultracentrifugare (flotație), lipoproteinele se clasifică în: chilomicroni, lipoproteine cu densitate foarte mică (VLDL), lipoproteine cu densitate mică (LPL), lipoproteine cu densitate intermediară (IDL) și lipoproteine cu densitate mare (HDL).

Principalele caracteristici fizice și compoziția chimică ale lipoproteinelor sîngelui e redată în tab.5.2.

VLDL (pre-β-lipoproteide) sunt sintetizate în ficat; funcția principală constă în transportul TAG sintetizate în ficat, mai ales după o rație alimentară bogată în glucide: la inanție, diabet zaharat, grație sintezei lor din acizi grași liberi circulanți. Amplificarea căilor de sinteză a TAG hepatice și/sau perturbarea căilor de sinteză și export finalizează cu acumularea grăsimilor în ficat – *infiltrație adipoasă a ficatului*. Agenții cu acțiune protectoare sau care înlesnesc exportul TAG hepatice sunt denumiți *factori lipotropi* (metionina, grăsimile nesaturate, vit. E etc.)

Procesul de asamblare a VLDL are loc în reticulul endoplasmatic. Pentru acest proces sunt utilizați în principal TAG din citozol. Acizii grași din plasmă sunt inițial esterificați pe suprafața citozolică a reticulului endoplasmatic în TAG, care intră într-o proporție redusă în VLDL și trec preponderent în citozol. TAG citozolici sunt hidrolizați de o lipază

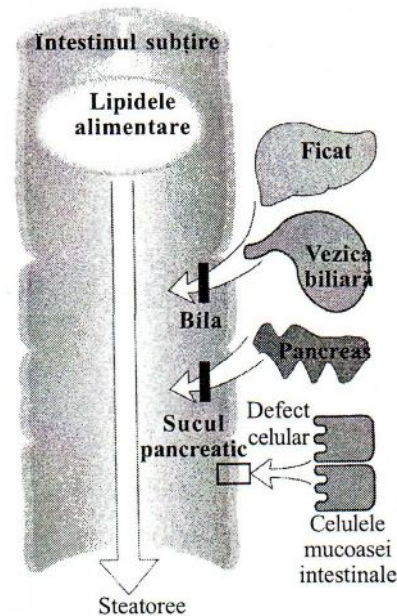


Figura 5.18. Cauzele posibile ale steatoreei

Tabelul 5.2. Compoziția chimică și caracteristicile fizice ale lipoproteinelor sîngelui

Clasa de lipoproteine	Densitatea (g / mL)	Masa Moleculară (Da)	Diametru (nm)	Mobilitatea electroforetică
Chilomicronii	< 0,95	$5,0 \cdot 10^9$	$10^2 - 10^3$	Nu migrează
VLDL	0,95 - 1,006	$7,5 \cdot 10^6$	30 - 70	Pre- β
LDL			15 - 25	β
LDL ₁ (IDL)	1,006 - 1,019	$2,5 \cdot 10^6$		între β
LDL ₂	1,019 - 1,063			și pre- β
HDL				α
HDL ₁	< 1,063			
HDL ₂	1,063 - 1,125	$3,9 \cdot 10^5$	6 - 14	
HDL ₃	1,125 - 1,210	$1,9 \cdot 10^5$	6 - 10	

Clasa de lipoproteine	TAG (%)	Colesterol liber (%)	Colesterol esterificat (%)	Fosfolipide (%)	Apolipoproteine (%)
Chilomicronii	86 - 94	0,5 - 1	1,0 - 3	3,0 - 8	1,0 - 2
VLDL	55 - 65	6,0 - 8	12 - 22	12 - 18	5,0 - 10
LDL	8 - 12	5,0 - 10	43 - 50	20 - 25	20 - 24
HDL	3 - 6	3,0 - 5	14 - 18	20 - 30	45 - 50

specifică, iar acizii grași rezultați pătrund în reticulul endoplasmatic, unde sunt esterificați sub formă de TAG care servesc ca precursori în sinteza VLDL. Prin unirea componentelor lipidice cu apolipoproteinele B-100 și E în reticulul endoplasmatic, rezultă particulele prelipoproteice. Acestea trec în aparatul Golgi, unde are loc formarea veziculelor secretoare din care VLDL sunt eliberate în circulație. În sînge, VLDL primesc apolipoproteinele C de la HDL, între care apolipoproteina C-II, cofactor al LPL. S-a constatat că diminuarea cantității de apolipoproteină C-II este asociată, cu scăderea activității LPL și acumularea de chilomicroni și VLDL.

La nivelul țesuturilor extrahepatice, TAG din componența VLDL sunt hidrolizați de LPL în acizi grași și glicerol (fig.5.18a).

Endoteliile vasculare ale mușchiului scheletic, inimii, țesutului adipos și creierului conțin un receptor care recunoaște VLDL prin intermediul apolipoproteinei E. Acest receptor poate juca un rol important în catabolizarea VLDL de către țesuturile periferice.

În plasmă, VLDL cedează colesterol liber, triacilgliceroli și fosfolipide particulelor de HDL. Totodată, are loc deplasarea apolipoproteinelor C și E din VLDL înapoi spre HDL. Ca rezultat al acestui schimb și al acțiunii LPL, VLDL se transformă în lipoproteine intermediare (IDL), conținînd aproape numai apolipoproteine B-100 și E.

Metabolizarea IDL se poate realiza pe două căi. Una constă în fixarea IDL de receptorii hepatici specifici. Alta – în pătrunderea IDL în spațiile Disse hepatice, unde suportă un atac lipolitic al lipazei hepatice și pierd apolipoproteina E. În felul acesta, IDL devin LDL.

LDL (β -lipoproteide) se formează în plasmă din cele pre β , sub acțiunea LPL (lipoproteidlipazei) și înnobilate cu colesterol (din α -LP și cu participarea enzimei LCAT (lecitin-colesterol-acil-transferază) – enzimă plasmatică ce catalizează reacția:

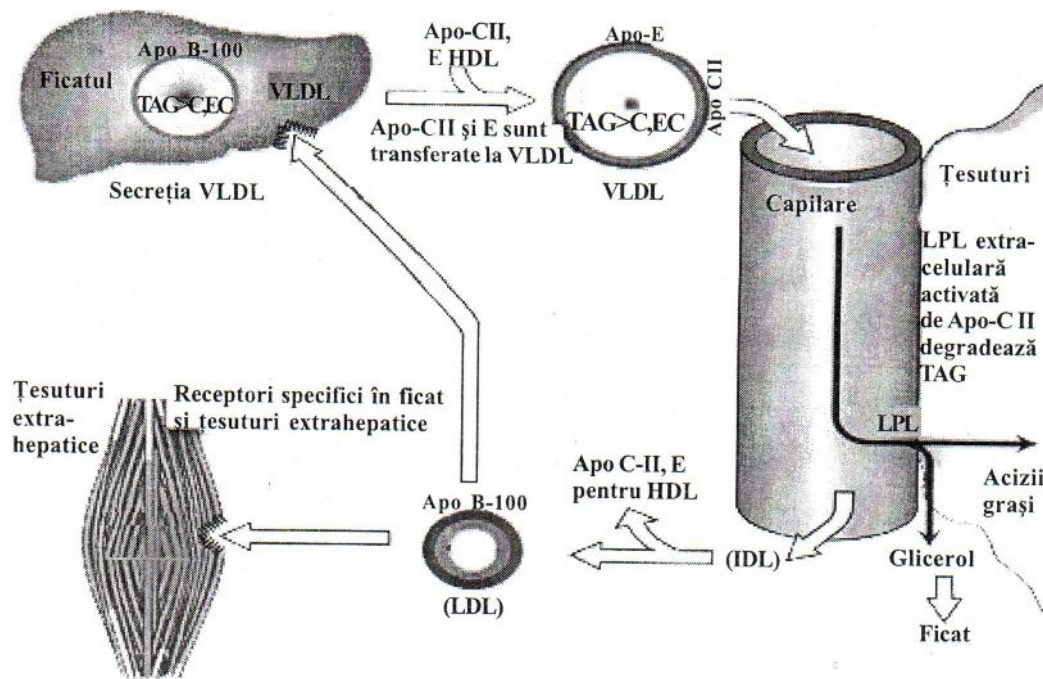


Figura 5.18a. Metabolizarea VLDL și LDL: TAG— triacilglicerol, C,EC— colesterol și esterii colesterolului; LPL—lipoproteidlipaza

lecitină + colesterol \rightarrow 2-lizolecitină + acilcolesterol). Rolul LDL constă în capacitatea de a furniza colesterol diverselor țesuturi. Concentrația mărită de LDL, ca și a apolipoproteinei B, are semnificația de predicție a factorului de risc la ateroscleroză. Structurarea lor e reprezentată în fig. 5.19.

Particulele de LDL se fixează pe suprafața celulelor prin intermediul unor receptori specifici localizați în caveolele membranei plasmatică. *Receptorul LDL* în membranele plasmatică este o glicoproteină de 115 kDa, cu 839 aminoacizi și 5 domenii. Domeniul 1 (292 resturi de aminoacizi) este situsul de legare a lipoproteinelor care conțin apolipoproteinele B-100 și E. Domeniul 2 (350-400 resturi de aminoacizi) este un segment conținând oligoglucoză N-legată. Domeniul 3 (58 resturi de aminoacizi) este fragmentul care străbate membrana. Domeniul 5, un segment de 50 resturi de aminoacizi, este necesar pentru agregarea receptorilor LDL în timpul endocitozei. Complexii receptor-LDL – sunt endocitați în celulă sub formă de vezicule care fuzionează cu lizozomii. Particulele de LDL sunt degradate de proteazele și lipazele acide lizozomale.

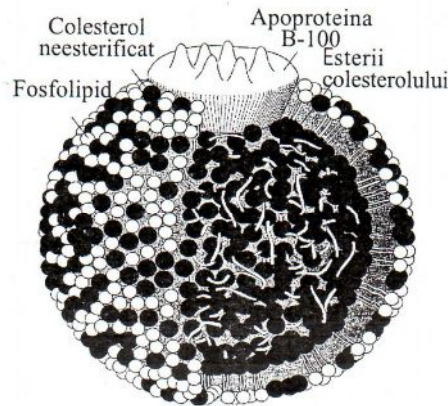


Figura 5.19. Structura β -lipoproteidelor

Colesterolul liber rezultat astfel difuzează din lizozomi în citozol, unde poate fi implicat în:

- biosinteza membranelor;
- inhibiția β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA reductazei, enzimă limitantă în sinteza colesterolului;
- activarea acil-CoA: colesterol-acil-transferazei care catalizează esterificarea colesterolului intracelular cu acil-CoA; colesterolul reesterificat conține mai ales acid oleic și acid palmitoleic, care sunt acizi grași mononesaturați, în timp ce esterii de colesterol în LDL sunt bogați în acid linoleic;
- modularea sintezei receptorilor LDL și, prin urmare, limitarea captării LDL.

Gena pentru receptorul LDL, asemănătoare cu cea pentru reductază, conține un element reglator sterolic care controlează rata de sinteză a RNAm.

Deci, LDL intervine în transportul colesterolului spre organele periferice și în reglarea sintezei colesterolului *de novo* în situsurile respective.

Unele LDL nu sunt captate de receptorii pentru apolipoproteinele B/E, deoarece ele au suferit modificări prin peroxidare sau acetilare. Se atestă că oxidarea LDL de către celule în pereții arterelor joacă un rol determinant în patogenia aterosclerozei și în dezvoltarea simptomelor clinice. Oxidarea LDL este un fenomen complex care începe cu extracția unui atom de hidrogen de la un acid gras polinesaturat din particula de LDL. Radicalii peroxil și alcoxil formați pot iniția oxidarea acizilor grași vecini. LDL oxidate sunt catabolizate pe calea receptorilor «scavenger» ai macrofagelor. Acești receptori nu sunt inhibați de conținutul intracelular de colesterol și macrofagele pot absorbi un exces de LDL, încărcându-se astfel cu lipide și transformându-se în celule spumoase. Acest mecanism poate constitui una din cauzele de instalare a leziunilor aterosclerotice.

HDL (α -lipoproteide) sunt sintetizate și secretate de hepatocite, având o configurație discoidală. În particulele mature sunt transformate de LCAT. Ele preiau colesterolul din țesuturi și din alte proteine plasmatică, pentru ca în final să se catabolizeze în ficat. Subiecții, care prezintă niveluri înalte ale acestor parametri, sunt protejați, posedă factori reduși de risc ai aterosclerozei și viceversa – la nivele scăzute de α -LP.

Există patru subclase de HDL: HDL₁, HDL₂, HDL₃ și lipoproteine cu densitate foarte mare (VHDL). HDL₂ și HDL₃ sunt cele mai importante și rezultă în urma principalelor transformări metabolice. Primele HDL secretate în circulația sanguină de hepatocitele numite HDL născînde nu conțin esterii de colesterol și au un procent scăzut de colesterol. Particulele acestor lipoproteine prezintă o formă discoidală. Treptat, ele se îmbogățesc de colesterol și fosfolipide. Pe măsura captării colesterolului celular, intervine enzima lecitin: colesterol-acil-transferaza (LCAT) care catalizează reacția dintre colesterol și fosfatidilcholină, conducînd la colesteride. LCAT este o glicoproteină cu masa moleculară = 59 000Da. Această enzimă este asociată cu HDL în plasma sanguină și este activată de apolipoproteina A-1 și inhibată de apolipoproteina A-2 care intră în structura acestor lipoproteine. Cercetările recente au arătat că în organismul persoanelor cu risc înalt de ateroscleroză este prezentă o LCAT care sintetizează esterii de colesterol preferențial cu acizi grași saturați, spre deosebire de enzima de la persoanele normale, cu specificitate pentru acizii grași nesaturați. De complexul LCAT-HDL este asociată o proteină ce transferă esterii de colesterol (CETP = cholesteryl ester transfer protein) din

HDL la VLDL sau LDL. CETP reprezintă o glicoproteină hidrofobă care se sintetizează în special în ficat și țesutul adipos.

Hipercolesterolemia și hipertriacilglicerolemia stimulează funcția CETP, iar hipotiroidismul diminuează acțiunea acestei proteine. De asemenea, la subiecții cu afecțiuni cardiovasculare și la cei cu diabet insulino-dependent se observă o creștere a transferului realizat de CETP. Esterii de colesterol formați datorită LCAT, fiind mai hidrofobi, părăsesc suprafața HDL și trec în mijlocul particulelor. Ca rezultat, forma lor discoidală devine sferică, astfel apare HDL₃. Ele reprezintă HDL de talie mică și de densitate mare, fiind capabile de a primi colesterol și de a-l esterifica cu ajutorul LCAT. Aceste lipoproteine se transformă în HDL de talie mare, HDL₂, cu densitate mai mică, dar mai bogate în triacilgliceroli, avînd rolul de a transporta steridele spre ficat sau alte lipoproteine (VLDL și LDL). Deci, HDL₂ sunt adevăratele lipoproteine antiaterogene, întrucît ele epuizează excesul de colesterol.

La nivelul ficatului, colesterolul liber poate fi eliminat în bilă sau poate servi pentru sinteza acizilor biliari. Lipaza hepatică hidrolizează triacilglicerolii și fosfolipidele HDL₂, permițînd conversia reversibilă a acestora în HDL₃ care intră în circulație.

Compoziții apoproteinici, de rînd cu rolul structural la menținerea stabilității, posedă și proprietăți de activatori ai enzimelor (LCAT) (tab.5.3).

Tabelul 5.3 Apolipoproteinele din componența lipoproteinelor

<i>Apolipo-proteina (Apo)</i>	<i>Masa moleculară kDa</i>	<i>Concentrația plasmatică (mg / 100 mL)</i>	<i>Locul de sinteză</i>	<i>Funcția</i>	<i>Distribuția (%) din totalul apolipoproteinelor</i>
Apo A-1	28,3	110 - 200	Ficat, intestin	Activator al LCAT	HDL (67%)
Apo A-2	17,0	30 - 50	Ficat, intestin		HDL (22 %)
Apo A-4	45,0	15	Intestin	Permite efluxul de colesterol	
Apo B-48	240,0	3 - 5	Intestin	Secreția chilomicronilor	Chilomicroni
Apo B-100	513,0	60 - 140	Intestin	Secreția VLDL, ligand pentru LDL	VLDL (90%) LDL (35%)
Apo C-I	7,0	4 - 6	Ficat	Activator al LCAT	Chilomicroni, VLDL, HDL
Apo C-II	8,9	3 - 5	Ficat	Activator al LPL	Chilomicroni, VLDL, HDL
Apo C-III	8,7	12 - 14	Ficat	Inhibitor al LPL	Chilomicroni, VLDL, HDL
Apo D	33,0	6 - 7	Rinichi, ficat, placentă, intestin	Metabolismul esterilor de colesterol	HDL
Apo E	34,1	3 - 5	Macrofage, suprarenale, ficat, intestin	Ligand pentru receptorii LDL și IDL	Chilomicroni, VLDL (15%), IDL, HDL.

Apolipoproteina A-I este apoproteina majoră a lipoproteinelor «protectoare» de aterom, HDL. Apolipoproteina A-I, ca și apolipoproteina C-I, activează lecitin - colesterol acil-transferaza (LCAT), deci joacă un important rol în conversia colesterolului în colesterol esteri, care sunt transferați din HDL spre alte lipoproteine. Acest transport se face cu ajutorul proteinei de transfer a colesterol esterilor.

Apolipoproteina B-100 intră în constituția lipoproteinelor aterogene, LDL și VLDL. Ea este implicată în transportul triacilglicerolilor și VLDL din ficat care are o importanță vitală în calitate de ligand, prin intermediul căruia receptorii celulari recunosc, captează și internalizează LDL și IDL pentru catabolizare.

Apolipoproteina B-100 este o proteină mare, de circa 549 000 Da, alcătuită din domenii hidrofile și hidrofobe. Ea învelește suprafața particulei lipoproteice. În organismul uman apo B-100 se sintetizează în ficat. În schimb, apo B-48 este sintetizată exclusiv în mucoasa intestinală și se găsește în chilomicroni. Sunt lipoproteine care transportă lipidele din intestin în ficat. Ambele apolipoproteine – B-100 și B-48 – sunt sintetizate pe o singură genă.

Asemănător sintezei altor proteine secretoare, translația apolipoproteinelor B se descoperă în ribozomii atașați la reticulul endoplasmatic. Din cauza domeniilor proteinice hidrofobe ale apo B, ultima rămîne atașată la membrana reticulului endoplasmatic pînă cînd se vor lega suficiente lipide pentru a se forma o particulă mică de lipoproteină născîndă. O proteină, numită *proteină microzomală de transfer al triacilglicerolilor* (microsomal triacilglicerol transfer protein = MTP), favorizează transferul colesterol esterilor, fosfolipidelor și triacilglicerolilor din reticulul endoplasmatic la apo B, conferindu-i acesteia din urmă capacitatea de a se detașa de membrana reticulului endoplasmatic. Această fază este unul din situsurile majore ale reglării sintezei și secreției apo B. RNAm al apo B este exprimat constitutiv și producția de apo B este reglată în schimb prin abilitatea apo B de a lega lipide și a forma o particulă lipoproteică care este gata pentru secreție. Dacă nu există suficiente lipide disponibile și apo B nu poate forma o particulă lipoproteică, atunci apo B este supusă degradării intracelulare sub acțiunea proteazelor. În această situație disponibilul de lipide alimentare sau sintetizate endogen controlează viteza producției de apo B. Particula lipoproteică născîndă o dată formată se mărește prin fuziune cu picăturile de lipide care iau naștere în reticulul endoplasmatic neted, unde se descoperă biosinteza majorității lipidelor. Particula lipoproteică mărită este apoi transportată la aparatul Golgi unde sunt adăugate lipidele adiționale. Apo B este în final modificată prin glicozilare, după care particula lipoproteică maturizată este secretată în sistemul limfatic.

Inițial, se consideră că abetalipoproteinemia este cauzată de o mutație a genei pentru apo B, avînd ca rezultat scăderea vitezei de transcriere. Însă, unele studii au detectat cantități crescute de RNAm pentru apo B în celulele pacienților cu abetalipoproteinemie. Cercetările ulterioare au arătat că gena defectată nu este legată cu apo B. De asemenea, s-a constatat că proteina apo B este sintetizată în abetalipoproteinemie, dar nu este secretată din celulă, ceea ce sugerează un defect în asamblarea lipoproteinei. Recent s-a stabilit că activitatea MTP este insuficientă la subiecții cu abetalipoproteinemie. De aici s-a dedus că MTP este defectul primar rezultat în urma mutației punctiforme a genei.

În absența MTP, apo B nu se poate agrega cu lipide și ca urmare nu poate fi eliberată din membrana reticulului endoplasmatic. Calea degradativă intracelulară normală care controlează secreția post-transcripțională a apo B se pare a fi responsabilă de apo B descompusă. În cazul acestui defect, apo B nu se sintetizează în intestin și ficat, ceea ce împiedică secreția chilomicronilor, VLDL și LDL. Lipsa acestor lipoproteine din sânge justifică hipercolesterolemia în abetalipoproteinemie.

De notat că în dezvoltarea afecțiunilor aterosclerotice, apolipoproteina B-100 se acumulează la nivelul acestora cu o viteză mai mare, decât colesterolul. Se consideră că nivelul plasmatic ridicat al apo B-100 constituie un factor de risc pentru ateroscleroză, mai important decât creșterea colesterolului sau a triacilglicerolilor. Sinteza hepatică a apo B-100 se intensifică la alimentația îmbogățită de zaharoză, cât și de lipide saturate și colesterol.

Apolipoproteina C-II activează lipoproteinlipaza care hidrolizează TAG din VLDL și chilomicroni.

Apolipoproteina C-III poate inhiba legarea unor lipoproteine la receptorii hepatici.

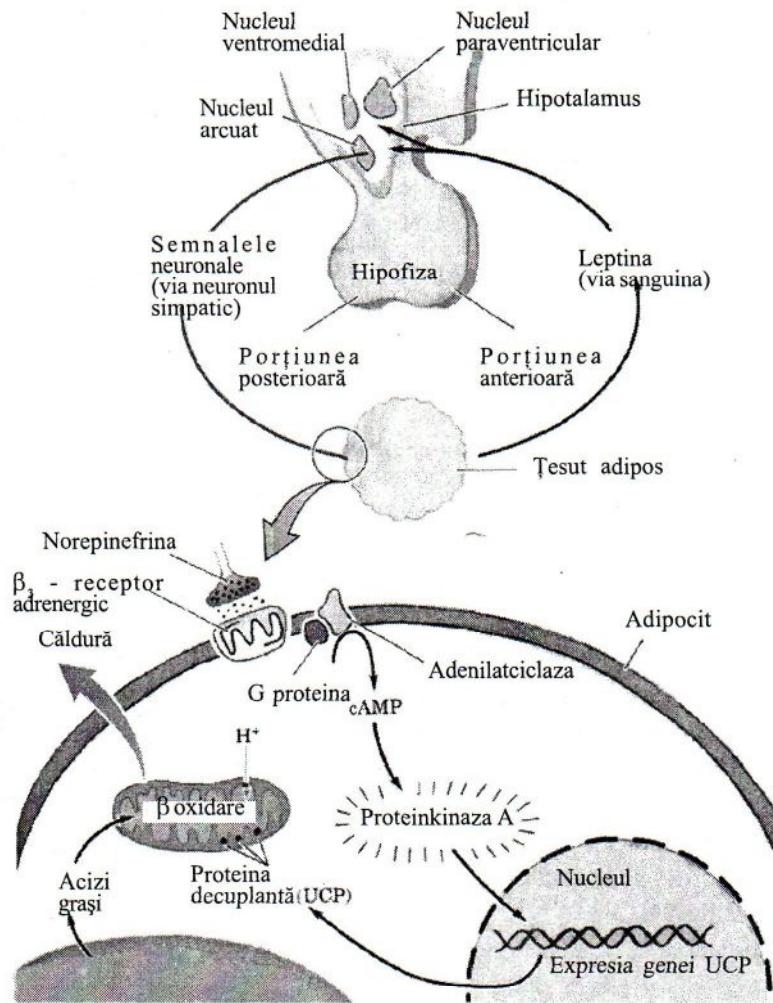
Apolipoproteina E este un important determinant al afinității lipoproteinelor, conținând apoproteina E, incluzând IDL și chilomicronii remanenti pentru receptorii lor hepatici.

Lipidele organismului uman. Ele sunt sursa principală endogenă a acizilor grași, ce determină energia. Aceste lipide se depozitează în țesutul adipos. Lipogeneza constă în sinteza trigliceridelor de depozit, la nivelul adipocitelor. Substraturile biosintezei trigliceridelor sunt acizii grași și glicerolul. Acizii grași liberi provin din degradarea triglicerolilor transportați de VLDL și chilomicroni. Acizii grași sunt activați prin transformarea lor în acil-CoA, sub acțiunea acil-CoA-sintetazei. Adipocitele pot utiliza doar glicerolul endogen rezultat din catabolismul glucozei. Glucoza pătrunde în adipocite prin intermediul transportatorului său GluT 4 și este oxidată prin reacțiile glicolizei, formând dihidroxiacetonfosfat. Forma activă a glicerolului rezultă din reducerea acestui intermediar la glicerol-3-fosfat, cauzată de dihidroxiacetonfosfat dehidrogenaza, în prezența coenzimei NADH + H⁺.

Leptina este o proteină reglatoare sintetizată la nivelul țesutului adipos, e compusă din 167 resturi de aminoacizi. Unul din efectele sale metabolice este suprimarea aportului alimentar, prin interacțiunea cu receptorul său hipotalamic specific, stimulând sinteza neuropeptidelor (POMC, CRH, CART – apetit supresoare). La interacțiunea leptinei cu eliberarea neuropeptidei Y se stabilește un răspuns contrar: cu activarea sistemului parasimpatic, micșorarea temperaturii și a fertilității.

Leptina alterează transmisia sinaptică în neuronii nucleului arcurat, stimulând hiperpolarizarea neuronilor simpatici hipotalamici, cu eliberarea norepinefrinei în sinapsele adipocitelor. Prin intermediul β_3 - adrenoreceptorilor și eliberarea AMPc are loc activarea proteinkinazei A, care facilitează transcrierea genei UCP. Proteina decuplantă mitocondrială (UCP-1) sintetizată determină efectul termogen drept consecință a modificărilor funcției complexului ATP-sintazic (vezi schema de mai jos).

Reglarea lipogenezei adipocitare are loc sub controlul factorilor endocrini, dintre care cel mai important este insulina. Creșterea secreției de insulină în perioadele post

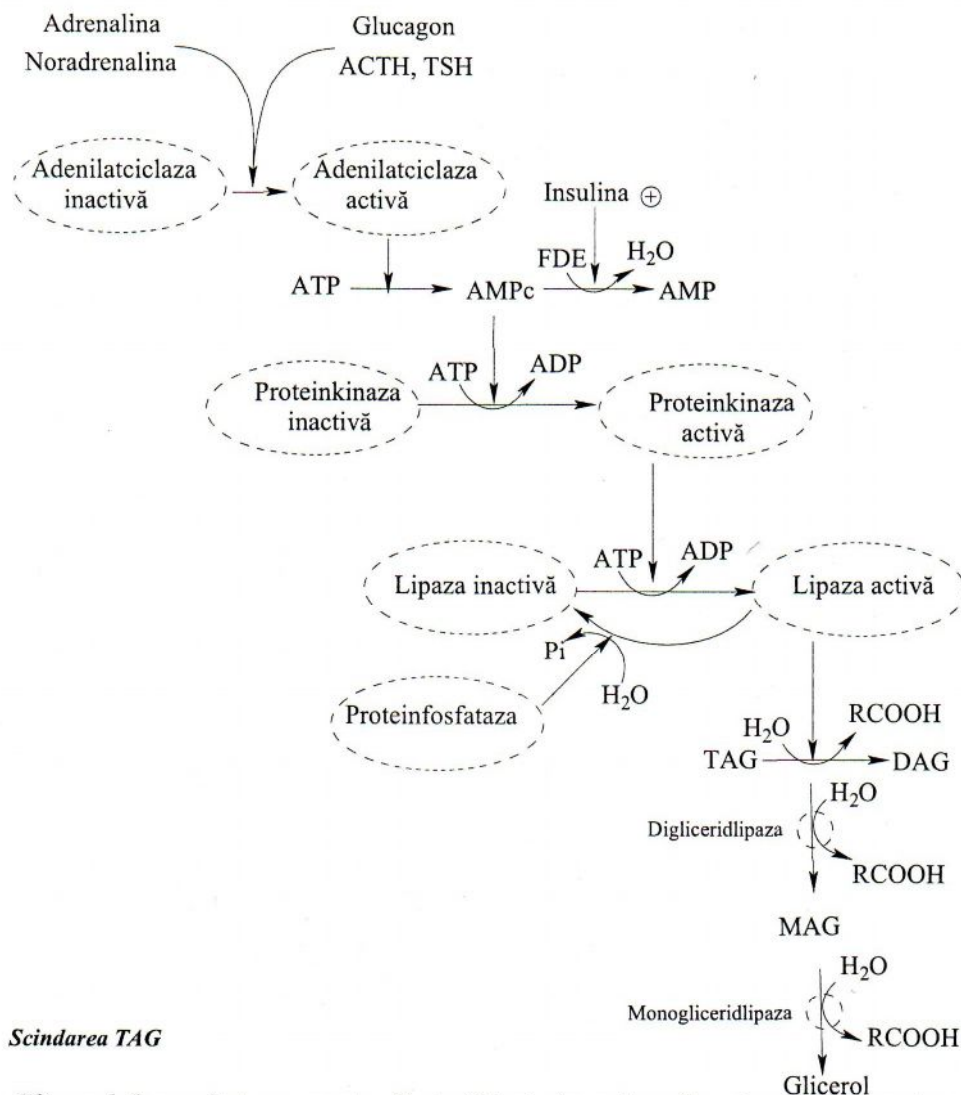


Reglarea hipotalamică a stocării și mobilizării de energie

-prandiale activează lipogeneza la nivelul țesutului adipos prin următoarele mecanisme:

- inducerea transcrierii genei pentru LPL;
- activarea transportatorilor GluT 4 la nivelul adipocitelor;
- amplificarea glicolizei prin activarea fosfofructokinazei I (prin creșterea concentrației de fructozo-2,6-difosfat).

În perioadele interalimentare aceste efecte sunt suspendate prin scăderea secreției de insulină. Acest fapt duce la activarea procesului invers, lipoliza. Lipoliza constă în degradarea trigliceridelor de depozit, la nivelul adipocitelor. Drept sursă de energie pot servi numai acizii grași liberi, neesterificați. TAG sunt scindate de enzimele tisulare specifice – lipaze – până la glicerol și acizi grași. Ultimei se fixează de albumine în plasmă, apoi sunt transportați la destinație și utilizați după scindarea legăturii cu proteinele. Celulele glicodependente (în principal, eritrocitele) și creierul nu pot utiliza acizii grași ca sursă de energie.



Scindarea TAG

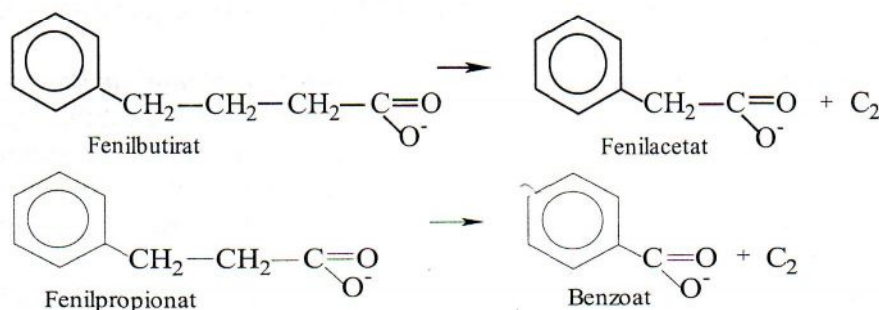
Glicerolul rezultat nu poate fi reutilizat în eritrocite, deoarece acestea nu dispun de *glicerol kinază*. Ca urmare, glicerolul este eliberat în circulație și captat de ficat, care-l utilizează pentru sinteza de glucoză, prin gluconeogeneză.

În lipoliză, o însemnătate cardinală o are *trigliceridlipaza* – enzimă hormonodependentă; activitatea di- și mono- gliceridlipazelor este de 10-100 de ori mai intensă decât a TG-lipazei.

Aceasta din urmă e activată de *adrenalină*, *noradrenalină*, *glucagon*, deci reprezintă o enzimă reglatoare. Hormonul primar interacționează cu receptorii celulari, modificând structura lor, ca rezultat e activată *adenilatciclaza* ce favorizează sinteza AMPc din ATP. AMPc activează o *proteinkinază* care, fosforilând TG-lipaza, o activează. Produsele, glicerolul și acizii grași sunt scindați sau utilizați la sinteză. Acizii grași pot fi obținuți și din fosfolipidele membranare ca rezultat al reînnoirii lor metabolice permanente, cu formarea acizilor grași liberi (vezi schema de mai sus).

DEGRADAREA OXIDATIVĂ A ACIZILOR GRAȘI (SPIRALA LUI LYNNEN)

La studierea mecanismului de oxidare a acizilor grași un merit aparte îl are savantul Franz Knoop. În 1904, alimentînd cîinii cu acizi grași cu număr par de atomi C, în molecula cărora un atom H din grupa CH₃ era substituit cu radicalul fenil -C₆H₅, a depistat în urina animalelor derivatul acidului fenilacetic; la alimentarea cu acizi grași cu număr impar de C - derivatul acidului benzoic.



În urma analizei respective, savantul a ajuns la concluzia că acizii grași se scindează la oxidare la atomul β. În aceste investigații pentru prima dată s-a utilizat un compus sintetic marcat pentru descifrarea mecanismelor biochimice.

În anul 1949, E. Kennedy și A. Lehninger au determinat că oxidarea acizilor grași se produce în mitocondrii. Mai târziu, s-a demonstrat că transferul acizilor grași în matricea mitocondrială e anticipat de activarea lor: acizii grași liberi din citozol nu pot penetra membrana mitocondrială.

Activarea acizilor grași. Acizii grași conlucrează la toate procesele metabolice numai în stare activă. Paul Berg a demonstrat că procesul include 2 etape:

1. Se formează aciladenilat, anhidridă mixtă, grupa carboxilică a acizilor grași fiind atașată de fosfatul AMP, cu eliminarea pirofosfatului:

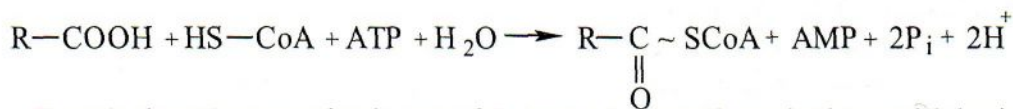


2. Grupa SH a CoA atacă aciladenilatul fixat de enzimă, finalizînd cu formarea acilCoA și AMP.



Ambele reacții sunt ușor reversibile. Pirofosfatul se hidrolizează rapid sub acțiunea pirofosfatazei. Reacția finală devine ireversibilă – sunt utilizate două legături macroergice, dar se formează una singură.

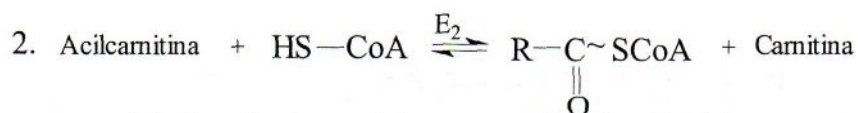
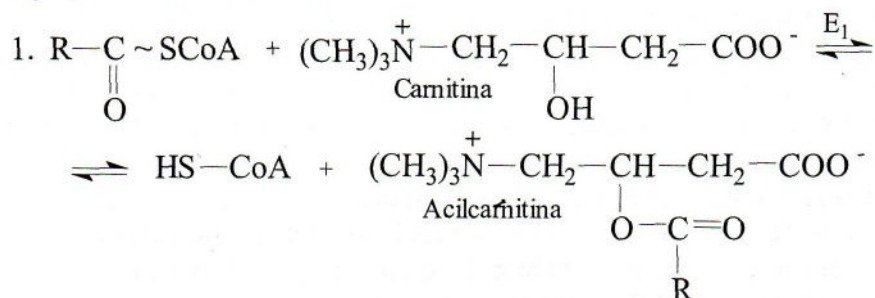
Reacția sumară:



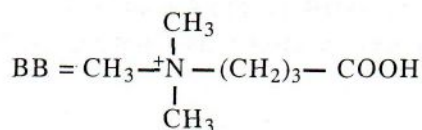
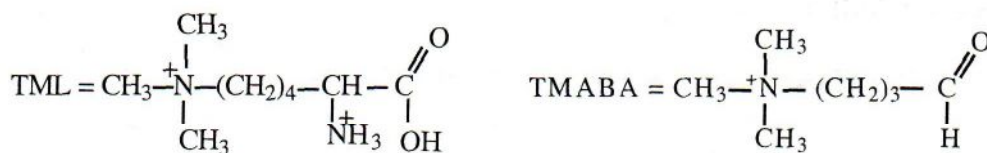
Reacția de activare are loc la suprafața externă a membranei mitocondriale și a reticulului endoplasmatic. Enzima e denumită tiokinaza acizilor grași sau acil CoA - sintetază. Distingem enzimele acetil-CoA sintetaza (C₂-C₃), octanoil-CoA sintetaza (C₄-C₁₂) și dodecanoil-CoA sintetaza (C₁₀-C₁₈). În rol de activatori enzimatici apar ionii K⁺ și Mg²⁺, ca inhibitori - Na⁺ și Li⁺.

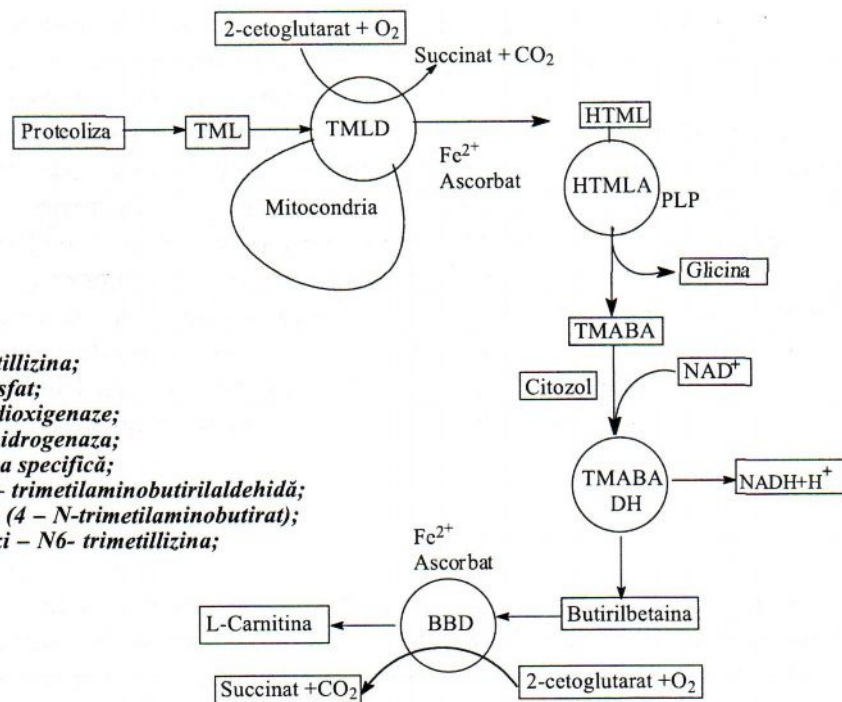
Transportul acizilor grași în mitocondrii. Carnitina (Viamina Bt). Fiind o moleculă cu o catenă lungă, acil-CoA nu poate penetra liber membrana internă mitocondrială. E necesar un mecanism-navetă, cu participarea *carnitinei* (β-hidroxi-γ-trimetilaminobutirat), formată în organismul omului și al mamiferelor (ficat, rinichi) din lizina și metionina activă, cu participarea vitaminei C, B₆, NAD⁺. Carnitina este un compus azotat neproteic, provenit și din alimentație.

Enzimele (*carnitin - acetil-transferaze*) sunt localizate pe ambele părți ale membranei mitocondriale, cuplate cu o proteină transportatoare (translocaza), care deplasează acilcarnitina în matrice și carnitina în sens opus. Mecanismul transportului acizilor grași constă în următoarele:



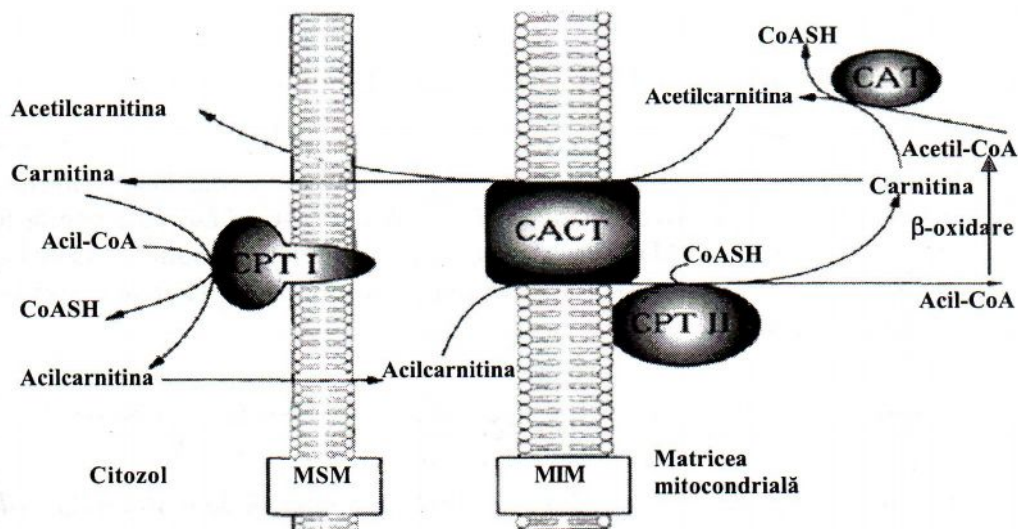
Sinteza carnitinei are loc în modul următor. Sunt implicați în proces cofactori respectivi și are loc în anumite compartimente celulare:





Notă:
 TML = N6- trimetilizina;
 PLP = piridoxalfosfat;
 TMLD și BBD = dioxigenaze;
 TMABADH = dehidrogenaza;
 HTMLA = aldolaza specifică;
 TMABA = 4 - N - trimetilaminobutirilaldehidă;
 BB-Butirilbetaina (4 - N-trimetilaminobutirat);
 HTML = 3-hidroxi - N6- trimetilizina;

Schema transferului acizilor grași cu catena lungă în mitocondrii și reglarea ratei mitocondriale de acetil - CoA/ CoA e redată în continuare:

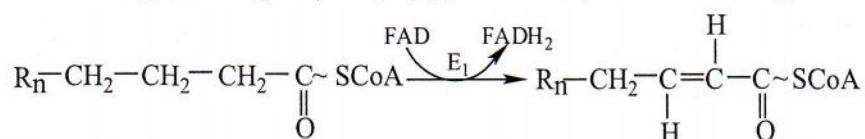


Notă: MSM - membrana externă mitocondrială; MIM - membrana internă mitocondrială; CPT I - carnitinpalmitoil transferaza I și CPT II - carnitinpalmitoil transferaza II; CACT - carnitin-acilcarnitin translocaza; CAT - carnitin acetil transferaza

HSCoA esterii acizilor grași transferați în mitocondrii sunt gata pentru oxidare. Procesul descris permite diferențierea a două cantități de CoA – cea citozolică și cea mitocondrială, ce îndeplinesc funcții diferite, examinate anterior (vezi studiul mitocondriilor – oxidarea piruvatului, acizilor grași, aminoacizilor); CoA-citozolică participând la procesele biosintetice. Clinic, a fost stabilit că dereglările transferării metabolitului dintr-un compartiment în altul poate cauza maladii la unii gemeni, care din fragedă copilărie suferă de convulsii dureroase în mușchii scheletali. Cercetările efectuate au confirmat că lor le lipsește *carnitina* – transportatorul acizilor grași cu catenă lungă. Cantități majore de *carnitina* în condiții fiziologice se găsesc în inimă și mușchii scheletali.

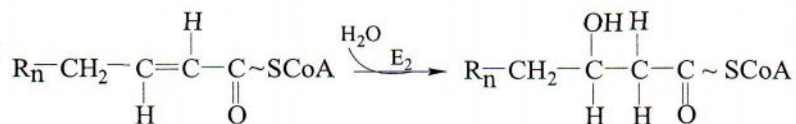
Oxidarea acizilor grași în mitocondrii. Oxidarea se produce pe etape:

a) Acil-CoA saturați în mitocondrii sunt supuși procesului de dehidrogenare fermentativă la atomii α și β de C (poziția 2 și 3) și, în rezultat, se formează legături duble.

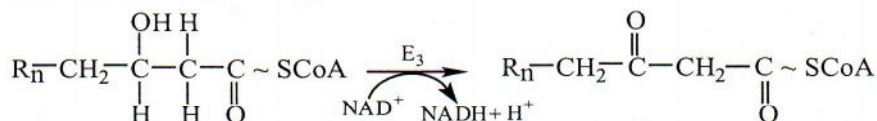


Produsul reacției catalizate de acil-CoA-dehidrogenază (E_1) e trans- Δ^2 -enoil-CoA. Grupa prostetică a E_1 e FAD. FADH₂ a enzimei își va transmite perechea de e⁻ unui transportator specific, unui flavoproteid care, la rîndul său, o va transmite ubichinonei din compusul integral al lanțului respirator mitocondrial, formînd două molecule ATP prin fosforilarea a două molecule ADP.

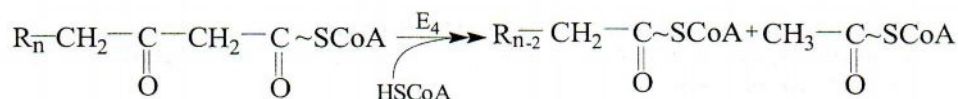
b) La etapa a doua a ciclului de β -oxidare a acizilor grași are loc hidratarea legăturii duble a trans- Δ^2 -enoil-CoA, cu formarea a L-stereoizomerului- β -hidroxiacil-CoA. Reacția e catalizată de *enoil-CoA hidratază*, căpătată în formă cristalică (este un hexamer).



c) La etapa a treia L-3-hidroxiacil-CoA se dehidrogenează fermentativ cu formarea 3-cetoacil-CoA. Reacția e catalizată de *L-3-hidroxiacil-CoA DH* cu acceptorul său specific de electroni - NAD⁺. Enzima posedă specificitate absolută față de L-stereoizomer. Echivalenții reduși sunt transmiși în lanțul respirator, cu formarea respectivă a 3 molecule de ATP.



d) Ultima reacție de oxidare din acest ciclu e catalizată de *acil-CoA acetil transferază (tiolază)*.

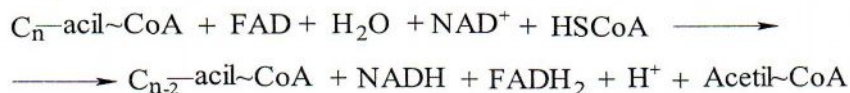


Reacționând cu HS-CoA liber, substratul se scindează, formînd un fragment de 2 atomi de C (acetil CoA) și ester al acidului gras cu 2 atomi de C mai puțin. O reacție de tioliză, scindare favorizată de interacțiunea cu grupa tiolică din CoA.

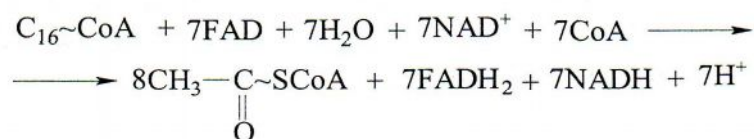
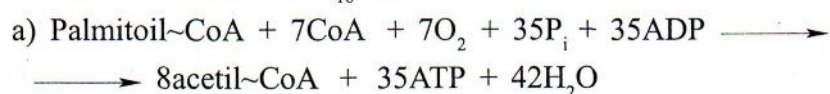
Acil-CoA scurtat e supus oxidării continue în același ciclu, cu formarea în final a unui nou acetil-CoA, reducînd lanțul cu 2 atomi de C.

Stoichiometria unui ciclu de β-oxidare:

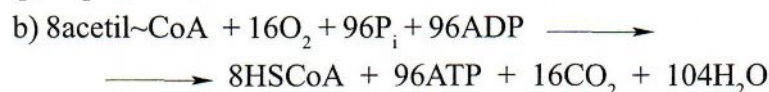
Oxidarea acidului palmitic, C₁₆~SCoA (palmitoilul-CoA), necesită 7 cicluri. În ultimul ciclu, C₄-oxoacil-CoA, prin tioliză, formează 2 molecule de acetil-CoA.



Stoichiometria oxidării C₁₆~CoA:



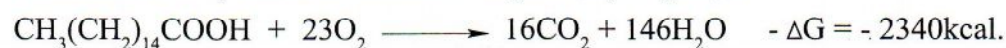
Acetil-CoA, format la oxidarea acizilor grași, nu se deosebește cu nimic de acetil-CoA care se formează din piruvat. Grupa acetilică se oxidează în final pînă la CO₂ și H₂O, prin ciclul Krebs.



Numărul de molecule ATP eliberate în final la oxidarea palmitoil-CoA este: 14 – din 7FADH₂; 21 – din 7 NADH; 8 x 12 = 96 – din 8 molecule de acetil-CoA, și în total: 96 + 21 + 14 = 131. Aici trebuie să avem în vedere că 2 legături fosfat macroergice au fost consumate pentru activarea palmitatului la scindarea ATP în AMP și 2P_i. Așadar, beneficiul net în ATP este de 129 molecule la oxidarea acidului palmitic. Suma reacțiilor a și b este, respectiv:



Arderea acidului palmitic dă un efect energetic major egalat cu:



Coeficientul respirator pentru palmitat este de :

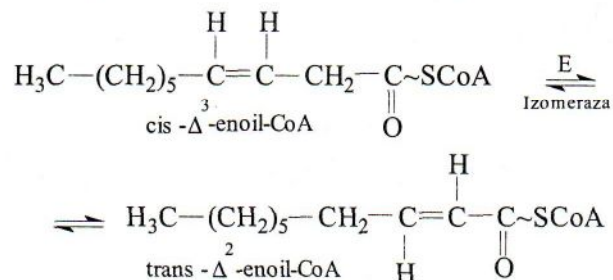
$$\text{CR} = 16\text{mol. CO}_2 \text{ rezult} / 23 \text{ mol. O}_2 \text{ consumat} = 0,7$$

Comparativ cu arderea glucozei:

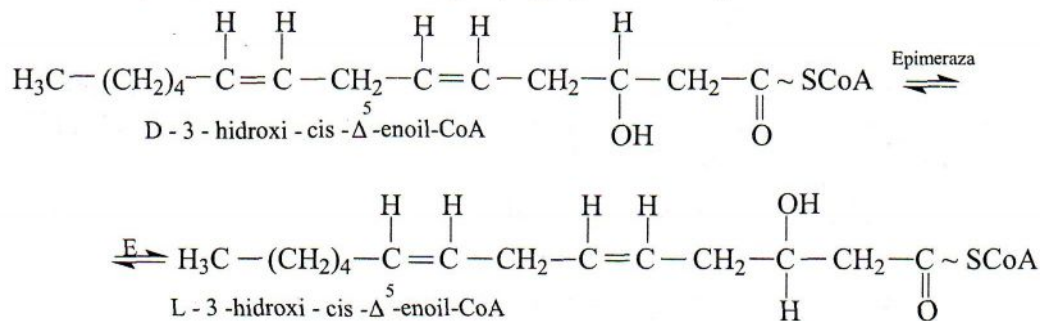
$$\text{CR} = 6\text{mol. CO}_2 / 6\text{mol. O}_2 = 1,0$$

Randamentul de conservare a energiei libere în ATP este aproximativ egal cu 40%.

β -oxidarea acizilor grași nesaturați decurge normal pînă în vecinătatea legăturii duble originale, avînd configurația cis. Sunt necesare trei cicluri de scindare. Prezența legăturii duble între C_3 și C_4 împiedică formarea legăturii similare între C_2 și C_3 . Sub acțiunea *izomerazei*, legătura dublă trece în trans- Δ^2 -legătură dublă:



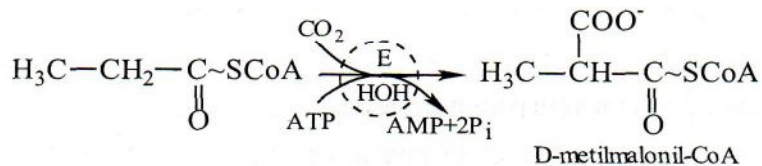
Reacțiile ulterioare se aseamănă cu cele ale oxidării acizilor grași saturați. Pentru oxidarea acizilor grași polienici e necesară și o altă enzimă rezultată din hidratarea legăturii duble D-izomer-3-hidroxiacil-CoA, care nu poate fi substrat al enzimei de tipul L-DH. Enzimă – *epimeraza* modifică configurația grupei OH la C_3 .



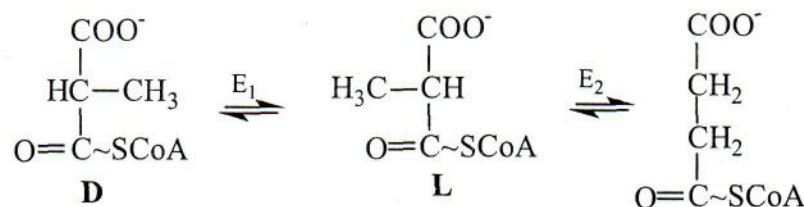
Oxidarea acizilor grași cu număr impar de atomi C

În celulă acizi de acest fel se conțin în cantități mici. Se oxidează în același mod, însă la ultima etapă de scindare se formează o moleculă de propionil-CoA și doar o moleculă de acetil-CoA.

Propionatul în surplus de ATP se carboxilează, cu formarea D-izomerului metilmalonil-CoA. Reacția e catalizată de *propionil-CoA-carboxilaza*, enzimă ce conține vitamina H (biotin dependentă).



Grație unei *racemaze* E_1 , D-izomerul este modificat în L, ultimul servind drept substrat pentru o *mutază* E_2 , ce îl transformă în succinil-CoA.



Reacțiile descrise au modificatori intramoleculari – grupa C=O, ce migrează de la C₂ la C₃, substituind atomul de H. Izomerizarea neordinară e catalizată de metilmalonil mutază – o enzimă ce conține drept cofactor un compus al vitaminei B₁₂.

Metilmalonil-CoA servește drept produs intermediar și la procesul oxidării unor aminoacizi: metionină, valină, izoleucină. La om s-au înregistrat un șir de tulburări ale metabolismului acestui produs, manifestat încă în fragedă copilărie. Diminuarea sau lipsa completă a enzimei date este un defect genetic, adică netransformarea în succinil-CoA. În sânge și în urină apare acidul metilmalonic, micșorând pH sîngelui, ce provoacă *acidemie metilmalonică*. Situația poate fi ameliorată numai dacă copiilor li se administrează cantități mari de vitamină B₁₂, la o diminuare a vitezei acestei reacții. Dacă defectul genetic afectează molecula proteică a mutazei, vitamina B₁₂ nu e în stare să redreseze situația și maladia devine incurabilă.

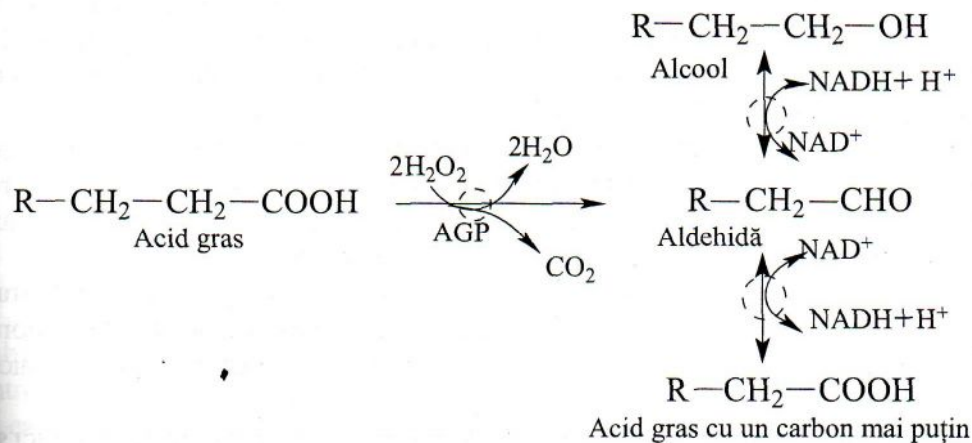
α- și ω-oxidarea. Există *căi alternative* de oxidare a acizilor grași, și anume: α- și ω-oxidarea. Numai o mică parte din acizii grași pot fi oxidați prin astfel de mecanisme.

α-oxidarea predomină în țesutul nervos și necesită NAD⁺, vit.C, ATP, O₂, Fe²⁺. Prin acest proces se formează hidroxiacizii grași superiori, proprii lipidelor SNC.

Este o cale particulară de degradare a acizilor grași, fără semnificație cantitativă. Au loc concomitent două procese:

- eliminarea carboxilului sub formă de CO₂ și
- oxidarea C_α la aldehydă.

Procesul de α-oxidare are loc în prezența enzimei *acid gras peroxidază (AGP)*, care necesită prezența apei oxigenate.

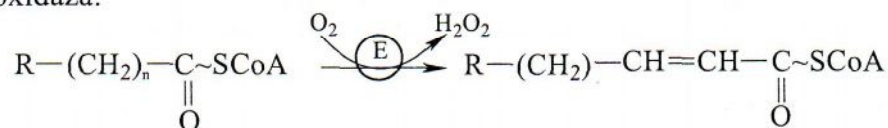


În concluzie, câteva precizări legate de procesul α -oxidare:

- nu intervine coenzima A;
- nu se formează ATP;
- H_2O_2 necesară rezultă prin autooxidarea flavinenzimelor;
- aldehida rezultată poate fi redusă la alcool sau oxidată la acidul corespunzător, care reia șirul de reacții;
- reacțiile nu pot duce la degradarea totală a acizilor grași, deoarece enzima este activă numai la acizii grași C_{13} - C_{18} .
- α -oxidarea acizilor grași a fost evidențiată în creier.

ω -oxidarea catalizată de monooxigenaze hepatice, ce are loc în microzom, necesită O_2 , NADPH, cit P-450. În final, acidul gras este degradat prin β -oxidare.

Oxidarea acizilor grași (C_{20} - C_{26}) în peroxizomi. Oxidarea în cauză conduce la acetil-CoA, dar nu este asociată cu sinteza de ATP. Acetil-CoA difuzează din peroxizomi în mitocondrii, unde este oxidat la CO_2 și H_2O , cu sinteza cuplată de ATP sau este convertit în corpi cetonici. β -oxidarea peroxizomală diferă de cea mitocondrială prin reacția de oxidare a acil-CoA la enoil-CoA și e catalizată de o oxidază:



Catalaza în continuare scindează H_2O_2 : $2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$

Fie că H_2O_2 servește ca oxidant în reacțiile catalizate de *peroxidaze*:



Amploarea β -oxidării în peroxizomi variază în dependență de factorii nutriționali, hormonal, medicamentoși. Numărul peroxizomilor și conținutul lor crește la diabet, inanție, la administrarea unor medicamente (aspirină, agenți hipolipemianți), la indigestia în urma reacțiilor cu exces de lipide, la ingerarea acizilor grași superiori.

Absența peroxizomilor cauzează *sindromul Zellweger* manifestat prin creșterea marcată a acizilor grași cu catenă foarte lungă (C_{24} - C_{26}) și deces în primele luni de viață. La blocarea β -oxidării sau a deficitului de carnitină cota acestor căi este majoră – în urină se depistează derivați ai α -hidroxilaților și ai acizilor dicarboxilici, precum și esteri ai glicerolului și carnitinei cu radicalii acil.

Deficitul acil CoA dehidrogenazelor (afecțiuni cu transmitere autosomal recesivă) se manifestă după vârsta de 1 an, o dată cu apariția unor perioade mai îndelungate între mese – 12 ore, cu comă, hipoglicemie severă. În absența diagnosticului și a tratamentului corect imposibilitatea producerii de energie conduce la deces.

Anomaliile enzimelor de transport sau de oxidarea acizilor grași, cât și deficitul riboflavinei se evidențiază în special în organele cu necesități metabolice majore (miocardul, mușchii scheletici). *Steatoza hepatică* se asociază cu insuficiențe pluriorganice și neuropatii severe.

În plasmă se evidențiază prezența unei hipoglicemii, absența corpiilor cetonici și acumularea acidului lactic – *acidoza lactică*.