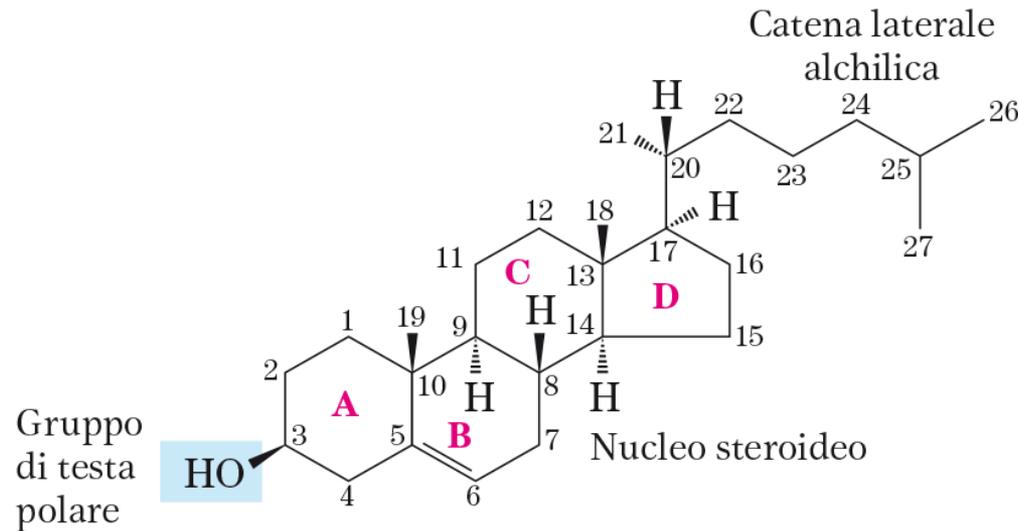


Metabolismo del colesterolo

Costituente fondamentale per le membrane cellulari, è un precursore degli ormoni steroidei e dei sali biliari.

Il gruppo -OH conferisce un debole carattere anfipatico alla molecola, mentre gli anelli idrofobici un carattere rigido alla struttura.

Il gruppo -OH può essere esterificato.



Da «I principi di biochimica di Lehninger» – D. L. Nelson, M.M. Cox – VI Edizione

Esiste un **delicato bilancio tra biosintesi, utilizzo e trasporto.**

FUNZIONI

strutturale

Supporto strutturale e carattere idrofobico alle membrane

precursore

- acidi biliari (400 mg/die) *VIA CATABOLICA*
- ormoni steroidei (cortisolo, aldosterone, ormoni sessuali)
- vitamina D

EFFETTI DANNOSI

molecola apolare, assolutamente insolubile in acqua

- se precipita, non più rimovibile con conseguente danno cellulare
- se si accumula in modo errato nelle arterie non può più essere rimosso; **i livelli ematici devono rimanere bassi**

Stretta correlazione fra livelli di colesterolo ematico e rischio di malattia coronarica

Colesterolo deriva dalla

DIETA presente soltanto in alimenti di origine animale
nelle piante: fitosteroli

dalla dieta: 50 mg/die vegetariani -> 400 mg/die

BIOSINTESI 700-900 mg/die
in tutti i tessuti (**fegato, intestino, pelle**)

TURNOVER GIORNALIERO	800 mg/die
-----------------------------	-------------------

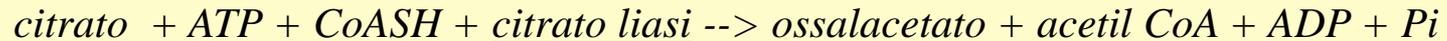
COLESTEROLO TOTALE \approx 100 g \approx 5 % ematico, 95 % cellulare

LA BIOSINTESI RICHIEDE

Acetil CoA *mitocondriale*

- piruvato (**da glucosio**)
- β -ossidazione acidi grassi

esportato dal mitocondrio sotto forma di citrato



NADPH + H⁺

- via dei pentosi fosfati (**glucosio**)
- enzima malico



ATP fosforilazione ossidativa

IMPORTANZA DEL GLUCOSIO NELLA SINTESI DEL COLESTEROLO

Biosintesi del colesterolo

Esperimenti fatti in laboratorio hanno dimostrato che tutti gli atomi di carbonio del colesterolo derivano dall'acetato.

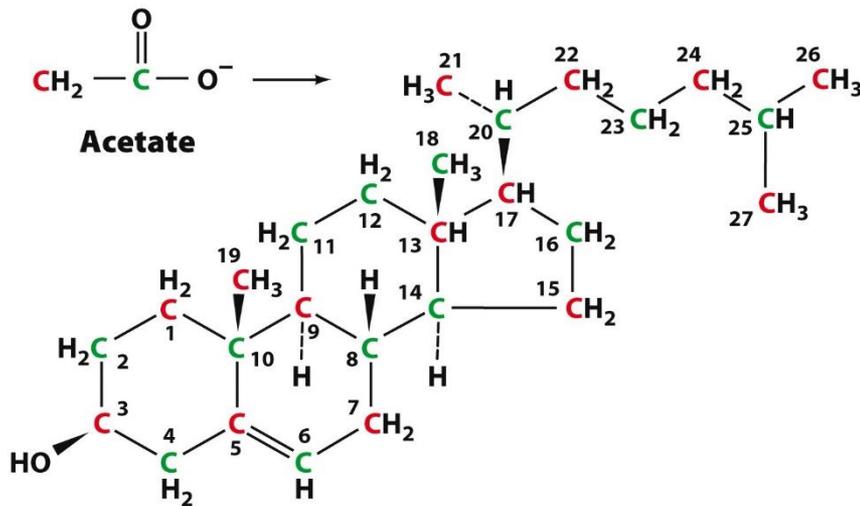
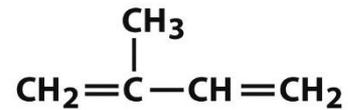


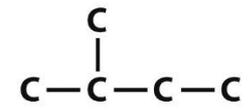
Figure 25-44
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

In particolare...

Acetato



**Isoprene
(2-methyl-1,3-butadiene)**



An isoprene unit



Squalene

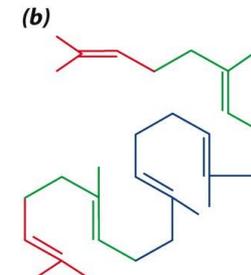
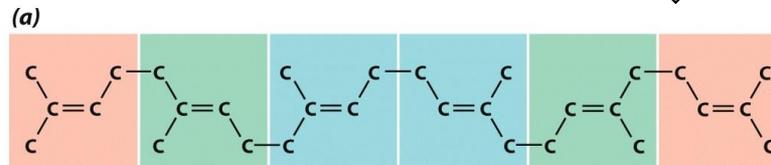
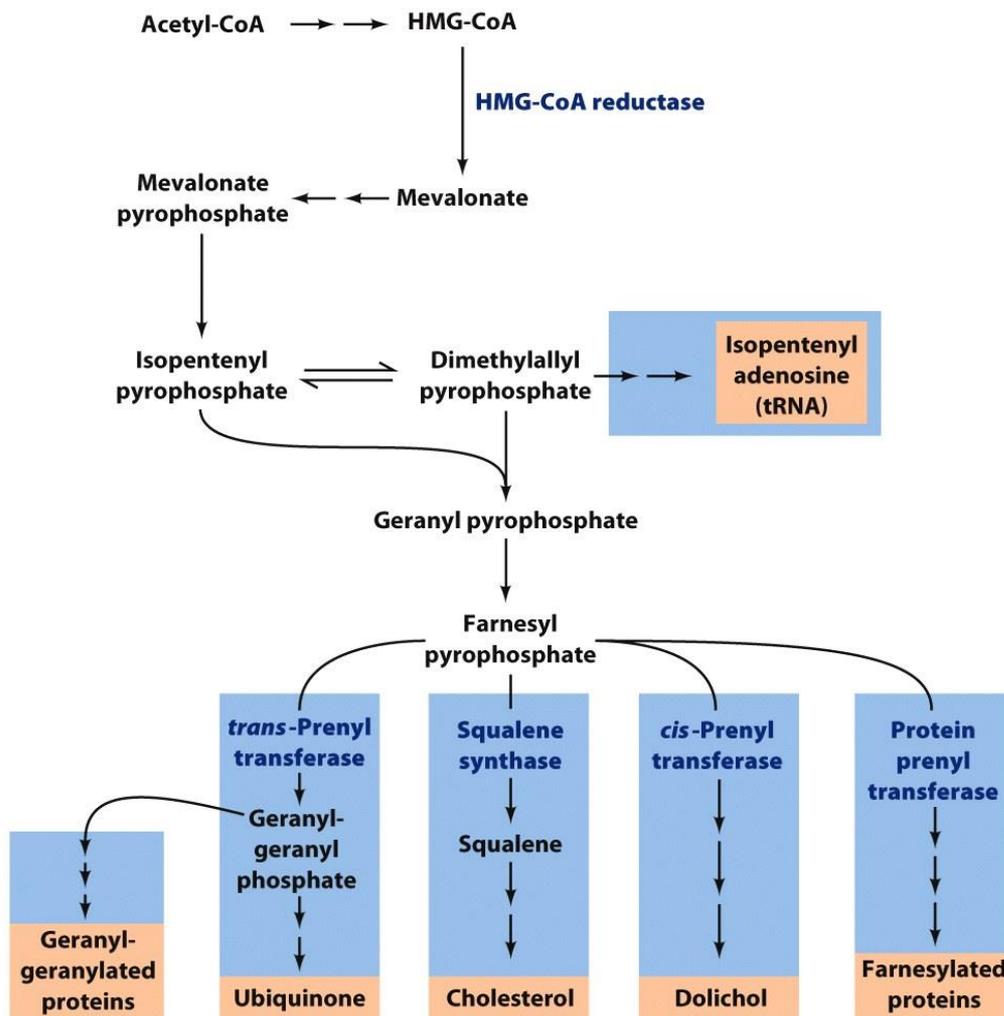


Figure 25-45
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.



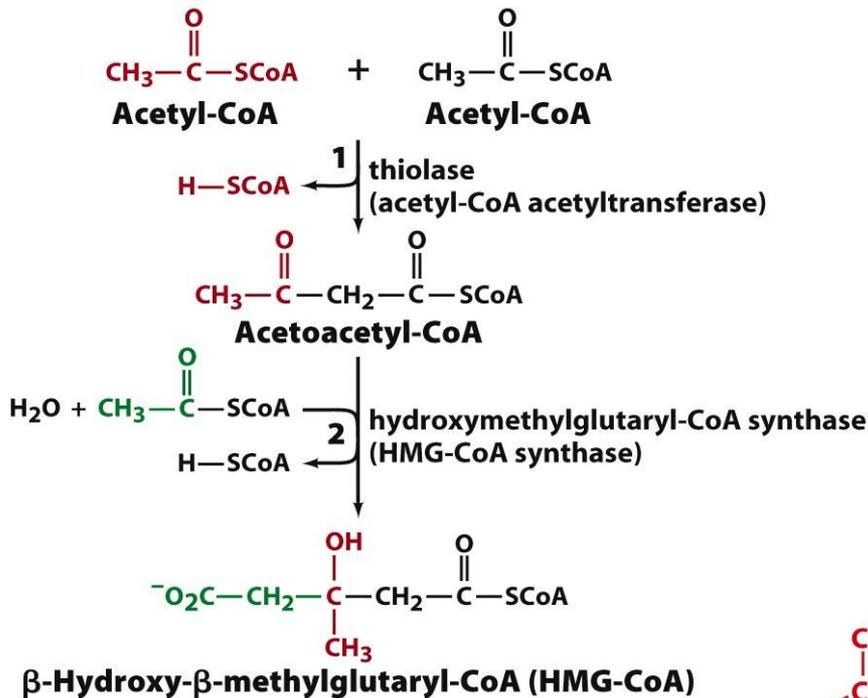
La via di sintesi del colesterolo fa parte di una via complessa ramificata per la produzione di colesterolo, ubiquinone (CoQ), dolicolo, proteine prenilate e isopentenil adenosina (un tRNA).

Tutte queste vie hanno come **precursore comune l'idrossimetilglutaril-CoA (HMG-CoA, corpi chetonici)**

Figure 25-46
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

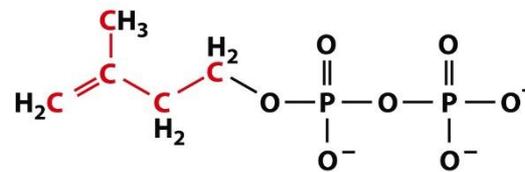
1) HMG-CoA: precursore chiave per il colesterolo

L'HMG-CoA necessario per la sintesi del colesterolo (nel citosol) non è lo stesso per la sintesi dei corpi chetonici (nel mitocondrio). Gli enzimi, però, catalizzano la stessa reazione (tiolasi + HMG-CoA sintasi)

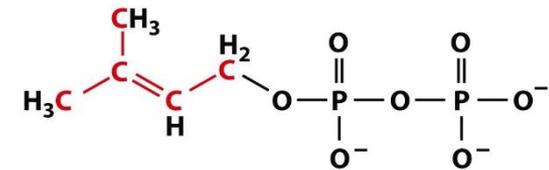


1) **Condensazione di due molecole di acetyl-CoA** ad opera della tiolasi citosolica, dando acetoacetyl-CoA

2) **Condensazione di una terza molecola di acetyl-CoA** da parte della HMG-CoA sintasi citosolica per dare HMG-CoA

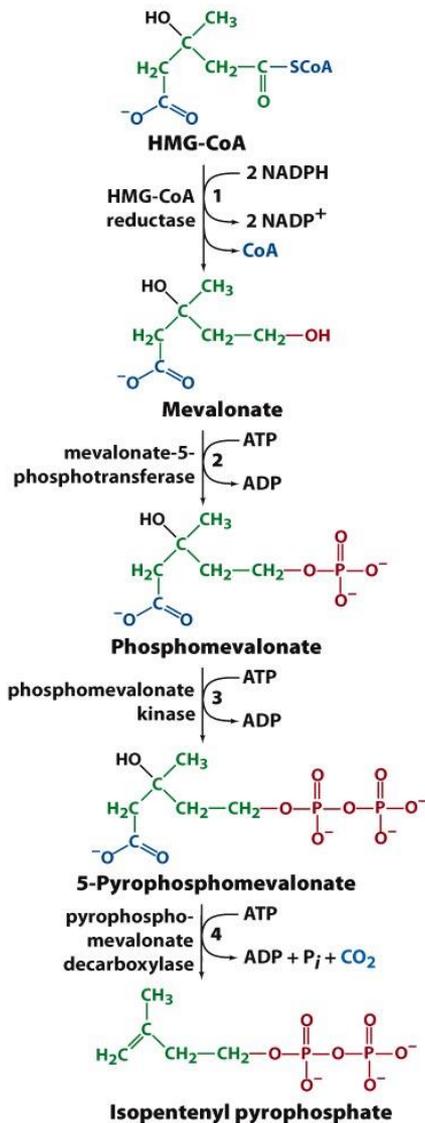


Isopentenyl pyrophosphate



Dimethylallyl pyrophosphate

Primo intermedio isoprenoide: isopentenil pirofosfato

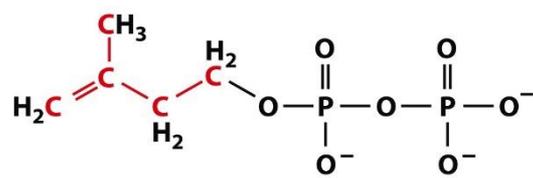


Reazione catalizzata in 4 passaggi:

- 1) **Riduzione** del tioestere usando 2NADPH (4 e⁻, HMG-CoA reductasi) → **mevalonato**.
- 2) **Fosforilazione** del gruppo -OH
- 3) Formazione di un **pirofosfato terminale**
- 4) **Decarbossilazione-disidratazione concertata** del 5-pirofosfomevalonato per produrre isopentenil pirofosfato

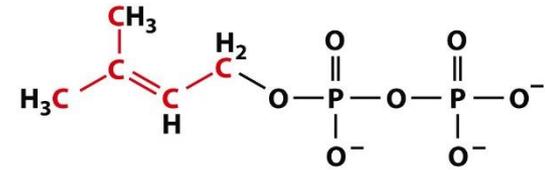
L'HMG-CoA reductasi è l'enzima limitante della via di sintesi

L'altro intermedio usato per la sintesi dello squalene è il dimetilallil pirofosfato, prodotto per isomerizzazione dell'isopentenil pirofosfato (isopentenil pirofosfato isomerasi).

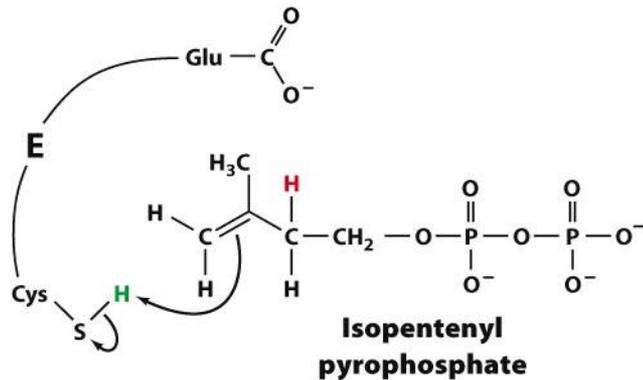


Isopentenyl pyrophosphate

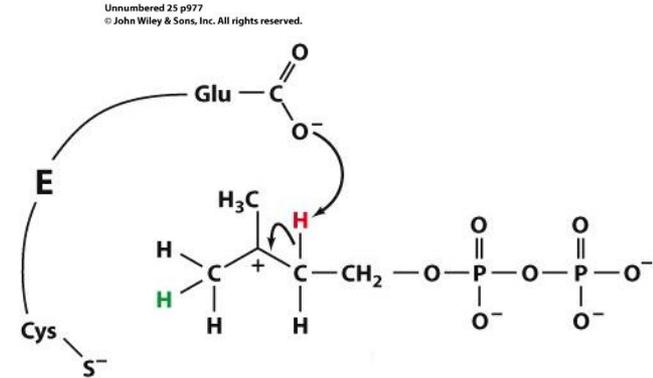
isomerasi



Dimethylallyl pyrophosphate

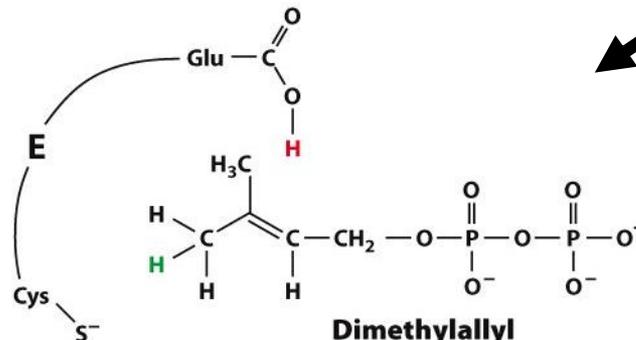


Isopentenyl pyrophosphate



Unnumbered 25 p977
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

**Secondo
intermedio
isoprenoide**

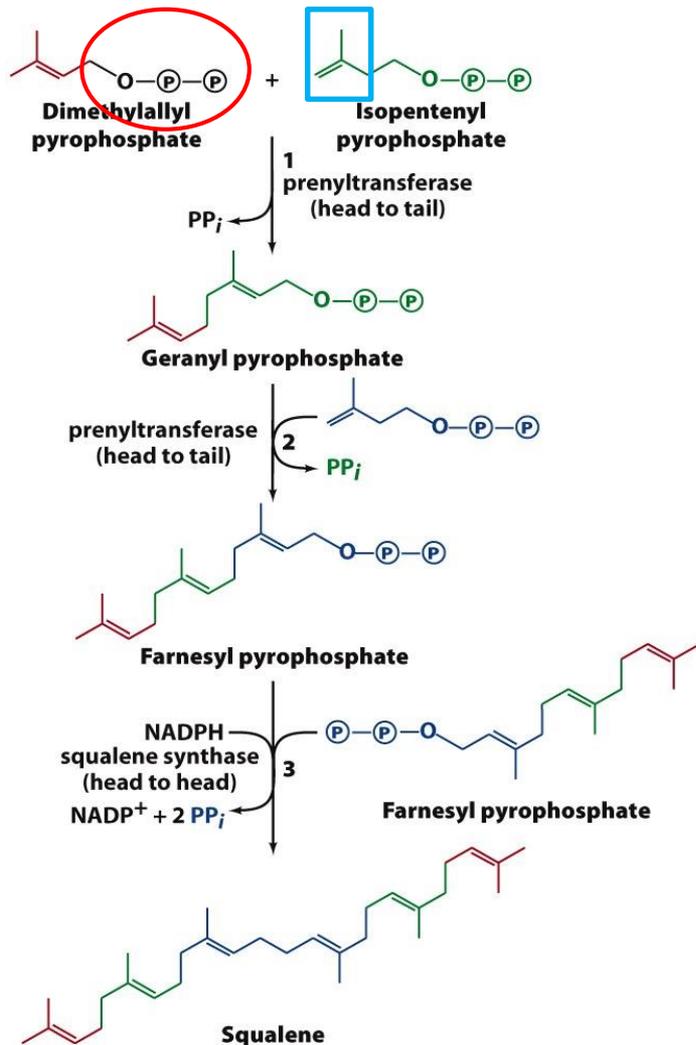


Dimethylallyl pyrophosphate

**carbocatione
terziario**

Sintesi dello squalene

Lo squalene (C₃₀) viene prodotto dalla condensazione di 4 isopentenil pirofosfato e 2 dimetilallil pirofosfato in **3 reazioni catalizzate da 2 enzimi**:



- 1) **Condensazione testa-coda (1'-4)**
di una unità di dimetilallil pirofosfato e isopentenil pirofosfato
→ **geranyl pirofosfato**
- 2) **Condensazione testa-coda** tra geranyl-PP e isopentenil-PP → farnesil-PP
- 3) **Condensazione testa-testa (1-1'; squalene sintasi)** tra 2 molecole di farnesil-PP formando lo **squalene**

 = testa

 = coda

La reazione catalizzata dalla preniltrasferasi è una S_N1

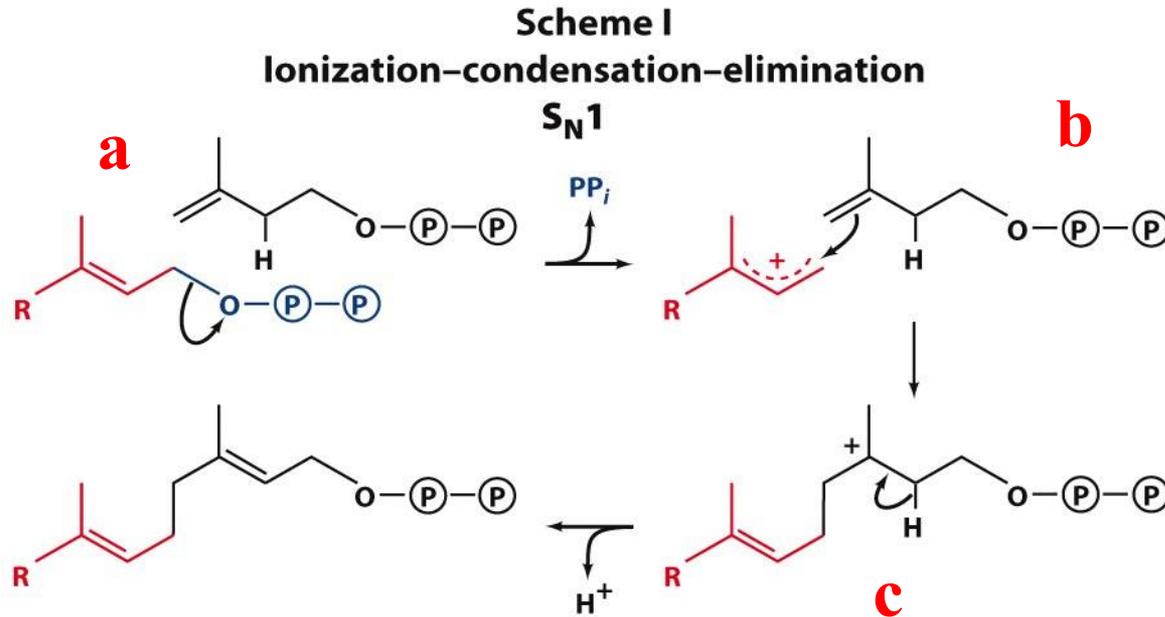
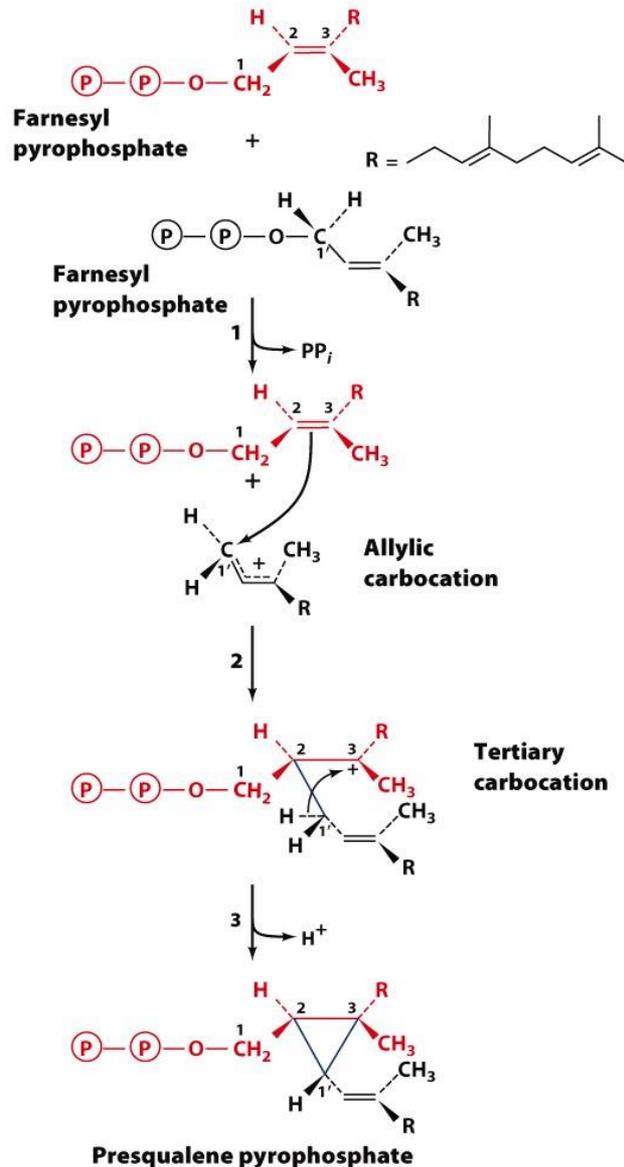


Figure 25-51
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

La reazione avviene tramite un meccanismo ionizzazione-condensazione-eliminazione di tipo S_N1 : a) viene eliminato il PP formando il carbocatione (**ionizzazione**); b) l'isoprenile attacca il carbocatione (**condensazione**) formandone un altro; c) il nuovo carbocatione elimina idrogeno formando il prodotto (**eliminazione**)

La reazione catalizzata dalla squalene sintasi avviene in due step



Step 1: formazione del presqualene pirofosfato (condensazione)

- 1) Rimozione del PP e formazione di un carbocatione allilico stabile
- 2) Attacco del doppio legame della seconda molecola di farnesile (nella parte della testa)
- 3) Formazione di un gruppo ciclopropano per eliminazione di un H⁺ → presqualene pirofosfato

Figure 25-53

Squalene sintasi

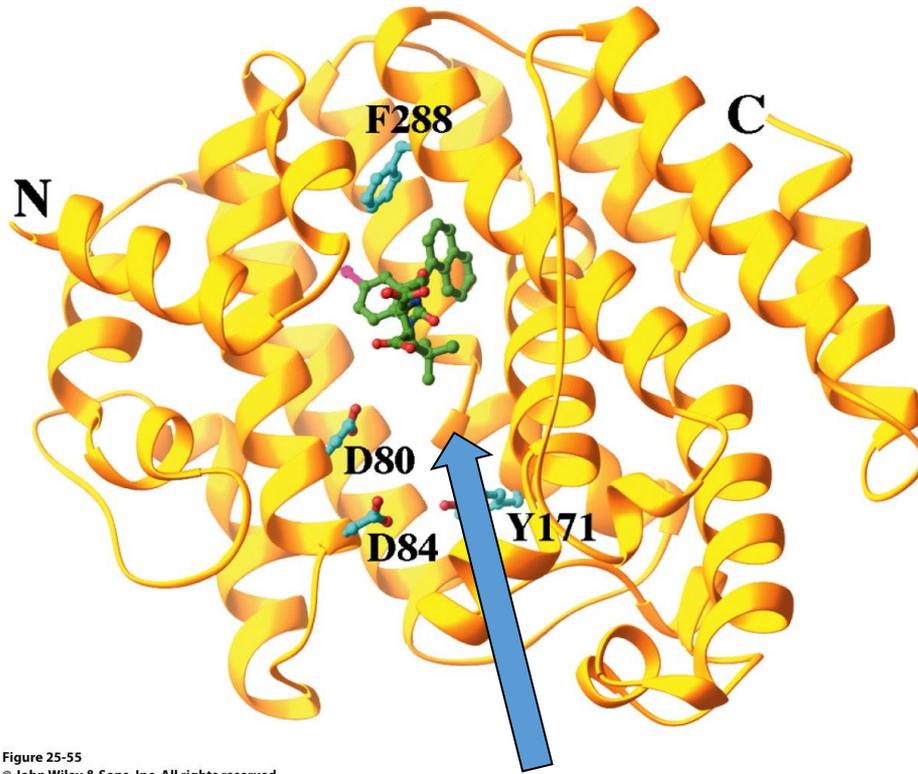


Figure 25-55
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

«canale»

Proteina di membrana ancorata al reticolo endoplasmatico (RE): sito attivo, a forma di canale, per lo step 1 nella faccia citosolica

Lo step 2 richiede che il carbocatione che si forma non entri a contatto con l'acqua: il substrato «scivola» verso il fondo del canale dove ci sono amminoacidi idrofobici

Lo squalene (idrofobico) viene quindi rilasciato nella membrana RE

Ciclizzazione dello squalene

Lo squalene (C₃₀) lineare deve essere ciclizzato: avviene in due passaggi

1 – formazione di un epossido (squalene epossidasi)

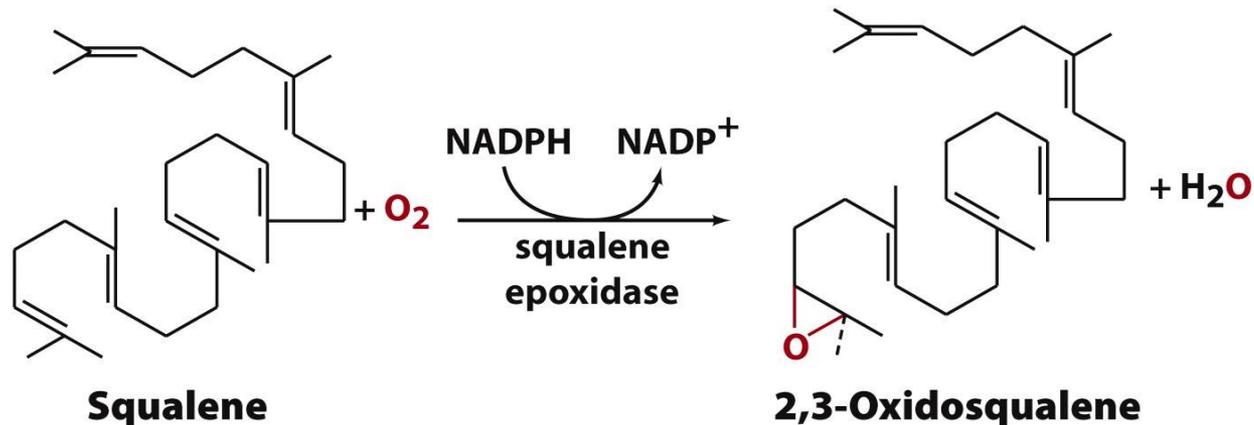


Figure 25-56
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

2 – formazione del lanosterolo

1) **Protonazione dell'epossido** dell'ossidosqualene (da un residuo di Asp dell'enzima): l'apertura dell'epossido forma un centro elettron-deficiente che guida la migrazione degli elettroni (2) e la formazione dei legami per la ciclizzazione con la formazione finale del **lanosterolo** → sterolo precursore del colesterolo.

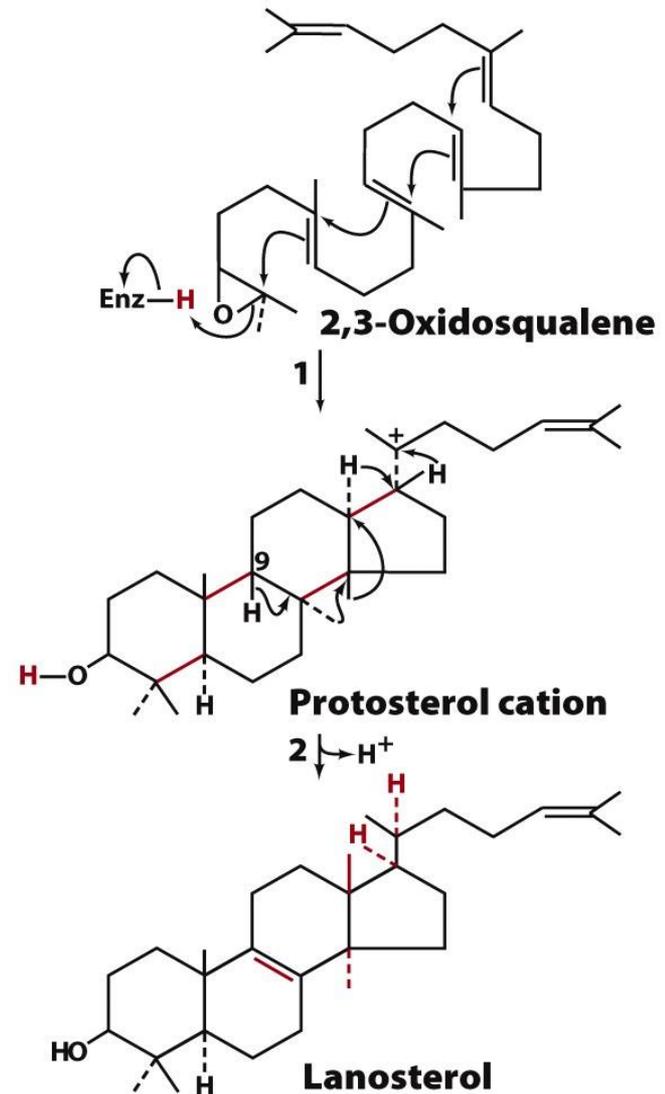
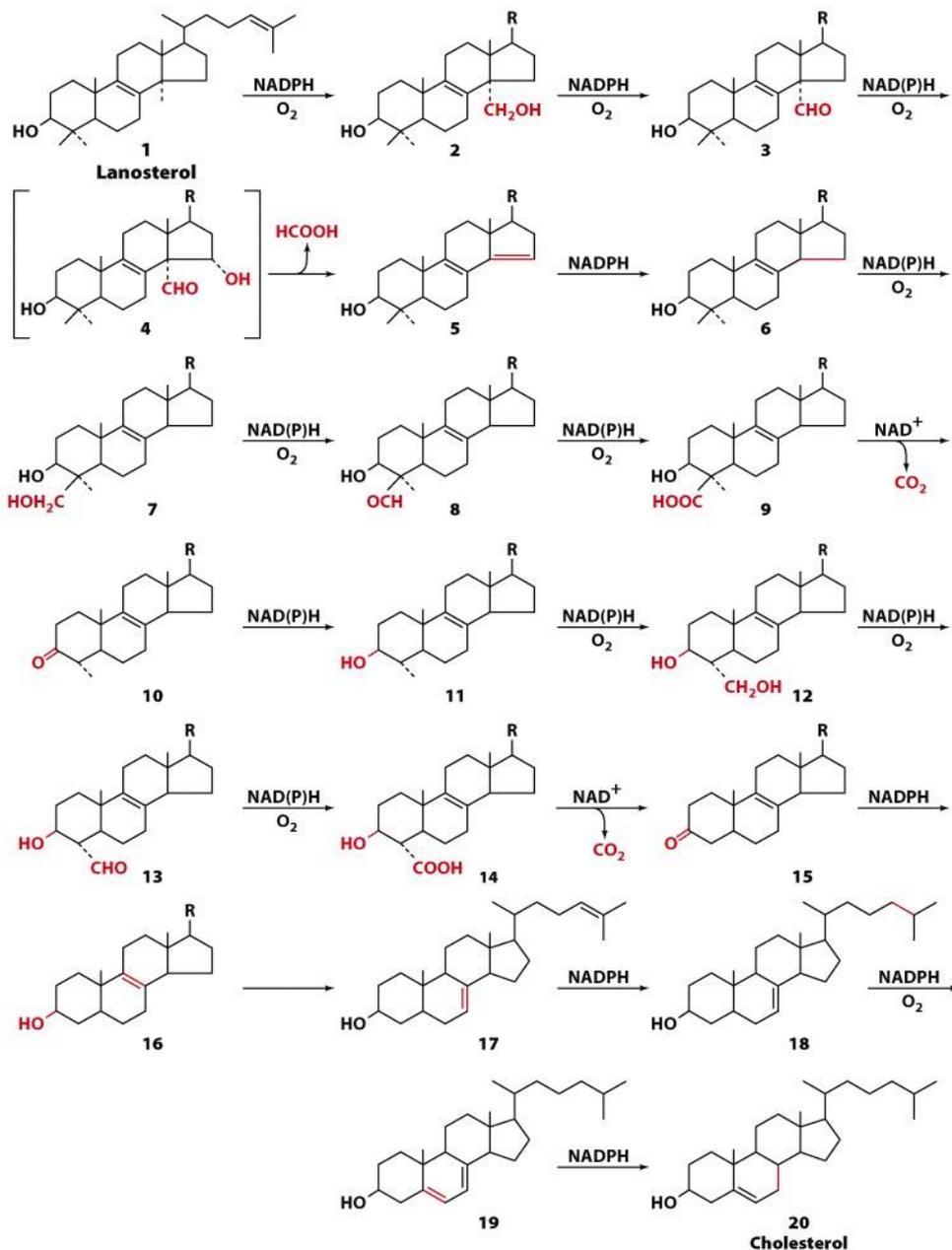


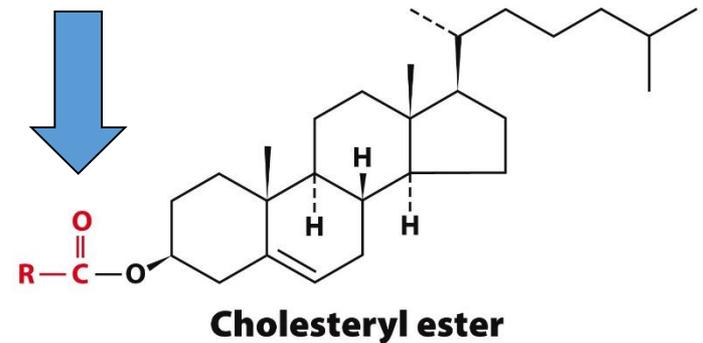
Figure 25-57

© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.



Il colesterolo viene infine sintetizzato per una serie di reazioni (19) che **richiedono l'ossidazione e la perdita di 3 gruppi metilici**: 1 come formiato e 2 come CO₂.

Il colesterolo può essere poi esterificato dalla ACAT (acil-CoA:colesterolo acil trasferasi).



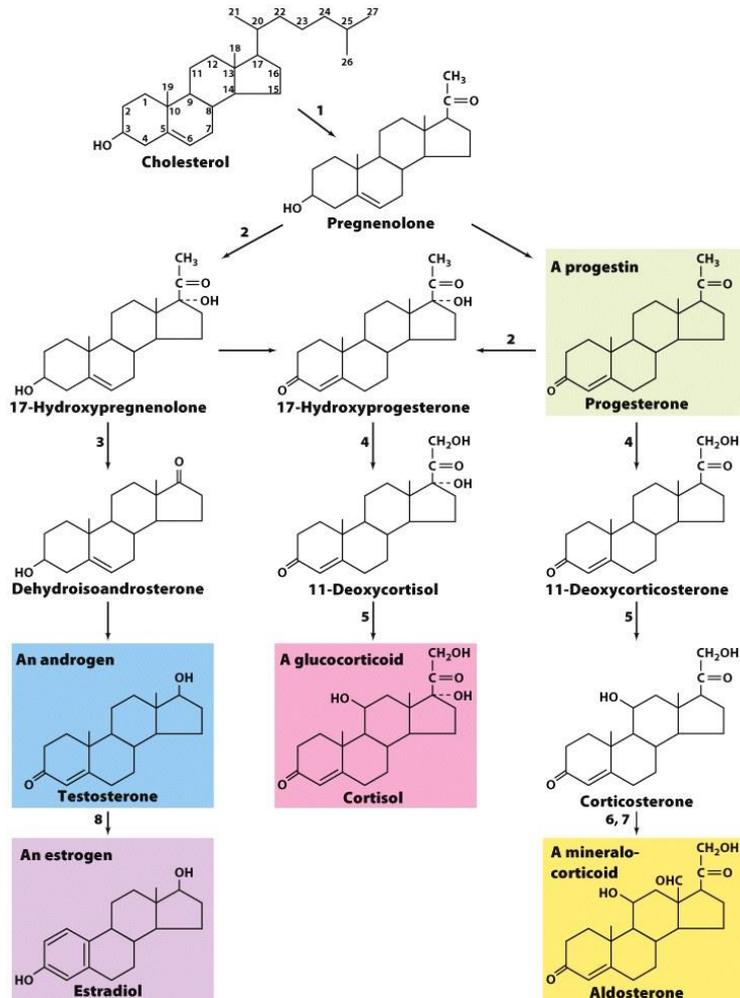
Unnumbered 25 p984
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

Il colesterolo, come già detto, circola complessato inizialmente alle proteine **VLDL**

Figure 25-59
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

Utilizzo del colesterolo

Precursore di ormoni steroidei



Acidi biliari

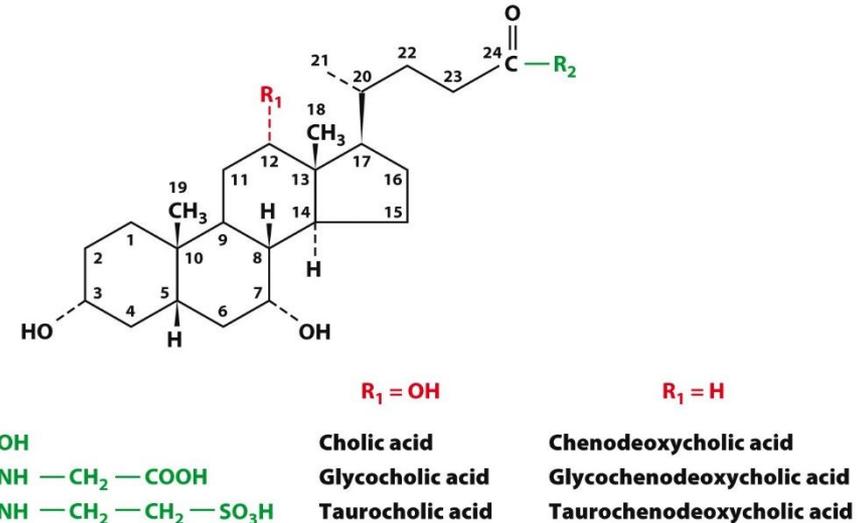


Figure 25-65
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

Quantitativamente, rappresenta l'unica via di escrezione del colesterolo. I maggiori sono il colato e chenodeossicolato, secreti come coniugati della glicina o taurina.

Figure 25-64
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

Regolazione della sintesi del colesterolo

Il colesterolo può essere sintetizzato *de novo* (appena visto) o acquisito con la dieta.

La sintesi può essere regolata in diversi modi:

- 1) **Regolazione dell'attività della HMG-CoA reduttasi** a *breve termine* (tramite allosterismo, inibizione, modifica covalente (fosforilazione/defosforilazione)) o a *lungo termine* (controllo sintesi/degradazione della proteina)
- 2) **Regolando il tasso di sintesi dei recettori per le LDL** (e quindi l'uptake):
↓[colesterolo intracellulare] → ↑sintesi LDL receptor/uptake
- 3) **Regolando il tasso di esterificazione del colesterolo**, e quindi la rimozione di colesterolo libero (ACAT regolata da fosforilazione/trascrizione)

1) Controllo dell'HMG-CoA reduttasi: trascrizione

Catalizza lo step limitante della sintesi del colesterolo, ma fa parte anche di altre vie (ubiquinone, dolicolo, farnesilazione ecc..). Il suo controllo è fine.

La **principale via di controllo** è quella a lungo termine → **trascrizione**.

I geni per il metabolismo del colesterolo (HMG-CoA reduttasi, LDL receptor etc) hanno una sequenza **SRE**, **sterol regulatory element** a cui si lega un fattore di trascrizione **SREBP**.

High cholesterol

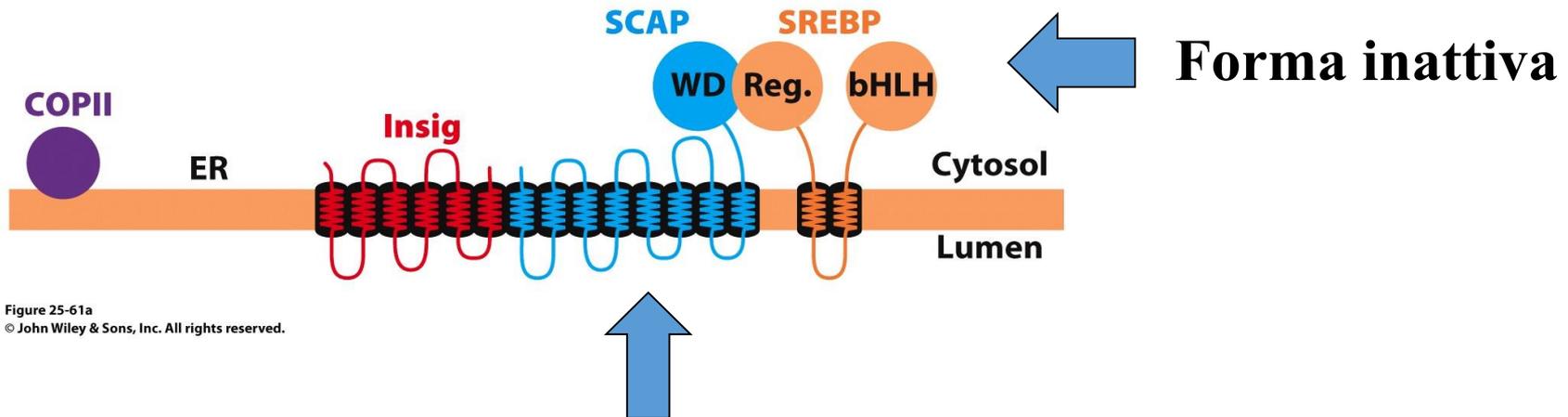


Figure 25-61a
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

Sensore degli steroli
(sequenza di legame TM)

(b) Low cholesterol

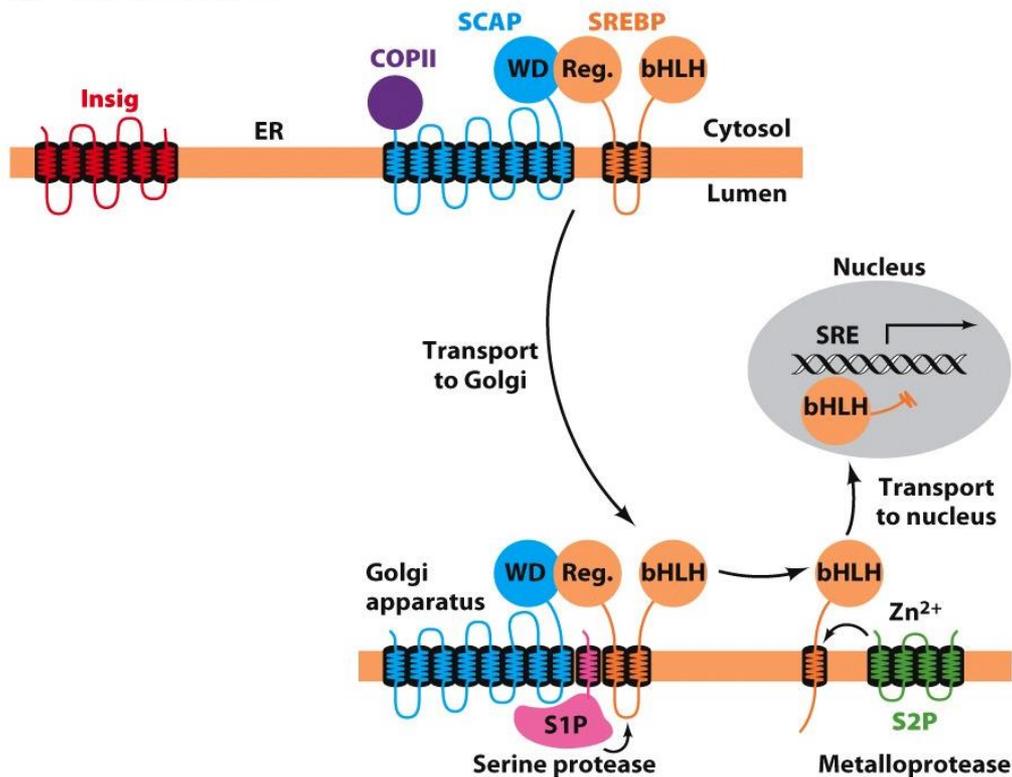
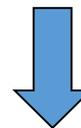


Figure 25-61
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

Insig può legare anche HMG-CoA
reduttasi in presenza di lanosterolo,
marcandola per la **degradazione tramite
il sistema ubiquitina/proteosoma**

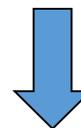
Il colesterolo nella membrana
RE cala



Insig si dissocia e si lega una
proteina COPII (per il trasporto
al Golgi) al complesso

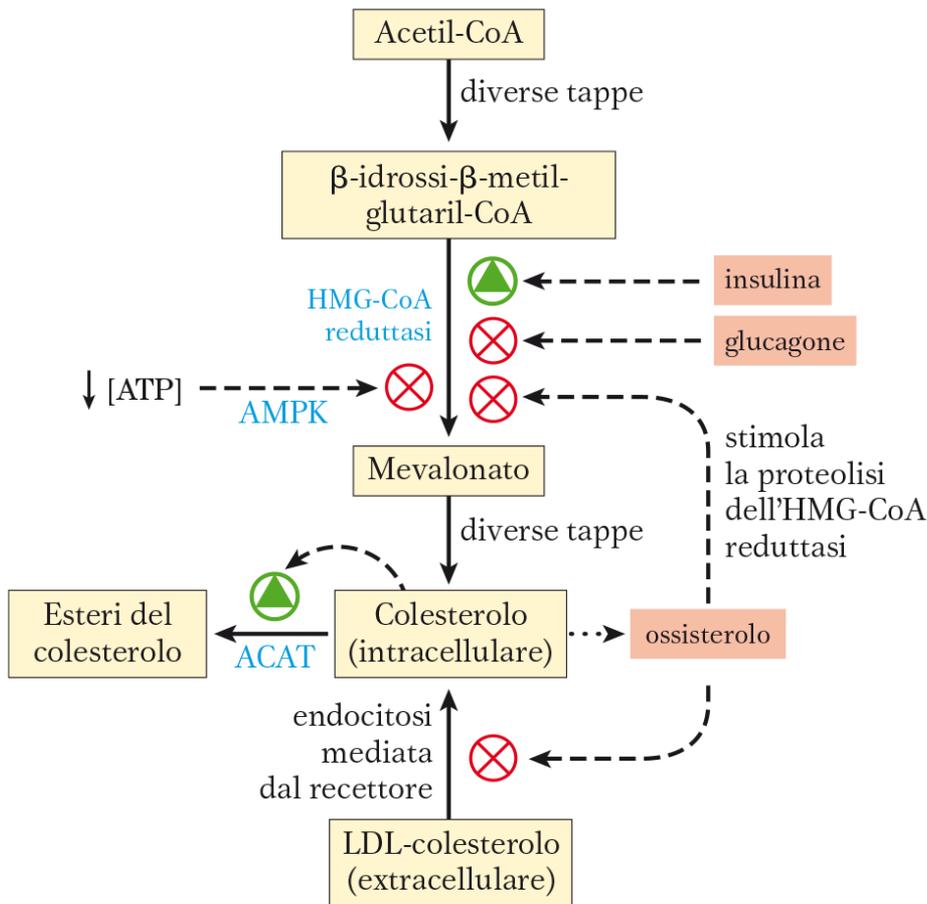


Nel Golgi, SREBP viene tagliata
sequenzialmente da 2 proteasi di
membrana che rilasciano il
dominio bHLH di legame al
DNA



Migrazione nel nucleo e
trascrizione

1) Controllo dell'HMG-CoA reduttasi: modifiche covalenti



AMPK regola l'attività dell'enzima: **fosforilazione = diminuzione attività**

Meccanismo utilizzato per risparmiare energia quando ci sono bassi livelli di ATP

2) Controllo dei recettori per le LDL (LDL receptor)

Normal

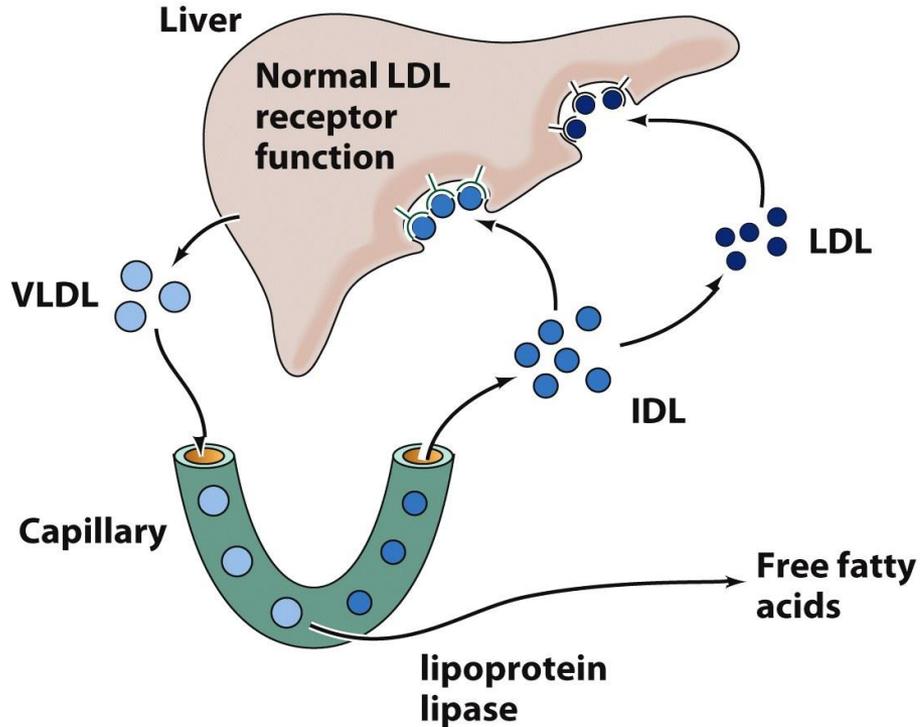


Figure 25-62a
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

In condizioni normali, circa il 50% delle IDL viene captato dal fegato tramite i recettori per le LDL. Le restanti IDL diventano LDL → la concentrazione delle LDL nel sangue dipende dalla capacità di rimozione delle IDL e quindi da quanti recettori funzionanti per le LDL esistono sulla cellula,

L'ipercolesterolemia può essere dovuta a:

- 1) Ipercolesterolemia familiare (FH)
- 2) Dieta ad alto colesterolo

Familial hypercholesterolemia

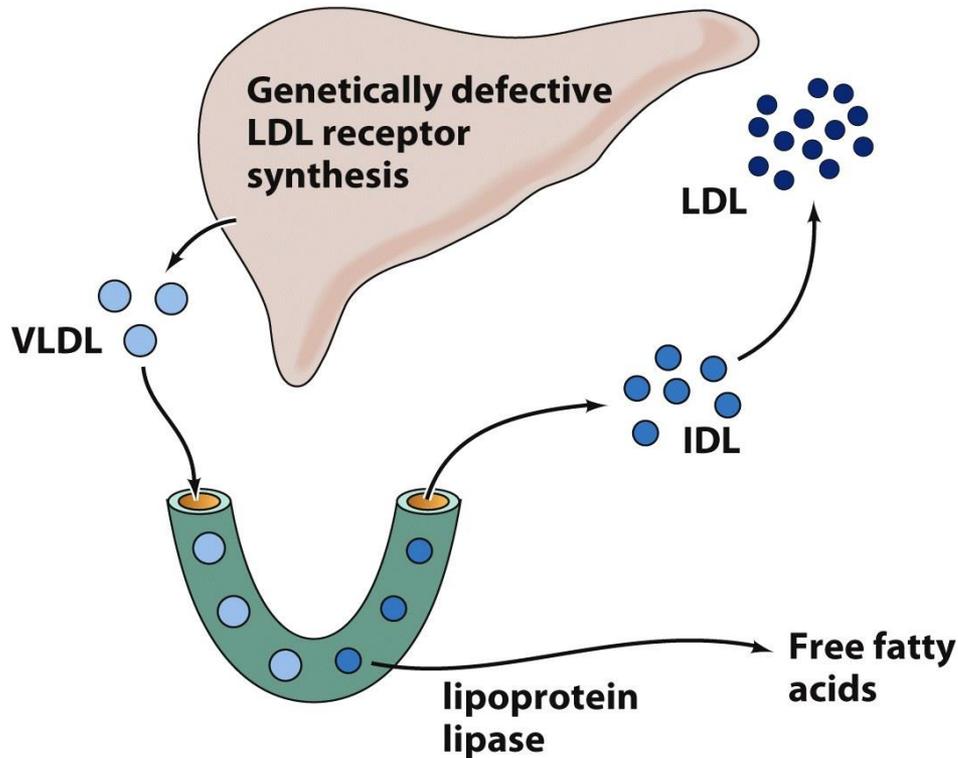


Figure 25-62b
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

Omozigoti: i recettori per le LDL non funzionano bene: **le IDL maturano tutte a LDL.**

Livelli di LDL da 3 a 5 volte maggiori del normale (<130 mg/dL)

Eterozigoti (più comuni): ~ metà dei recettori funziona correttamente → livelli di LDL circa il doppio del normale.

High cholesterol diet

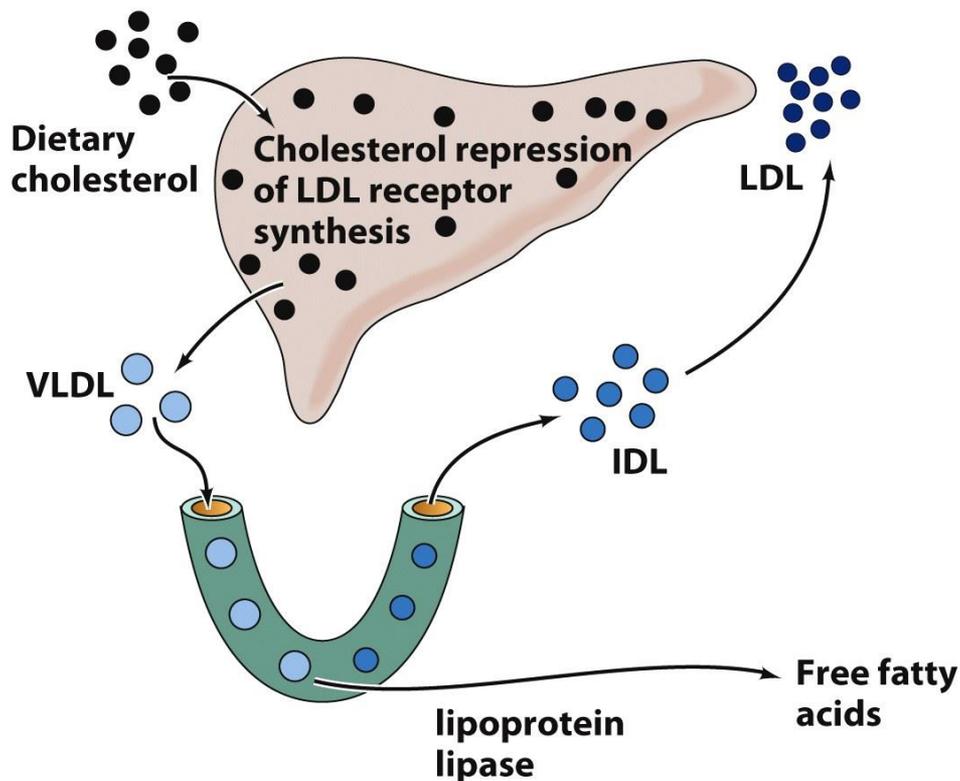
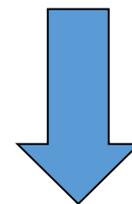


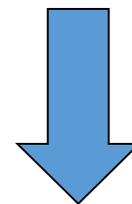
Figure 25-62c
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

Una dieta ricca di colesterolo ha un effetto simile a quello della FH.

Il colesterolo entra con i residui di chilomicroni



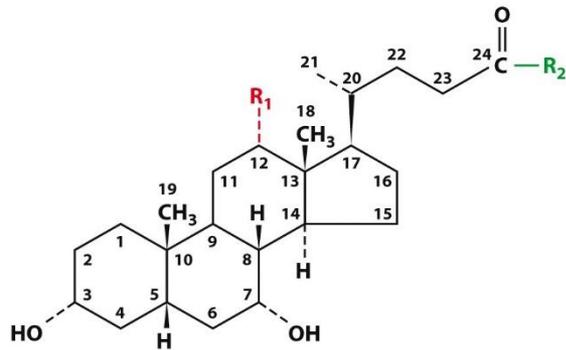
Calo sintesi ed espressione recettore LDL sulle cellule



Mancata captazione IDL/LDL e aumento ematico [LDL]

Come diminuire il colesterolo LDL?

A) Ingestione di resine che legano i sali biliari.



$R_2 = \text{OH}$

$R_2 = \text{NH} - \text{CH}_2 - \text{COOH}$

$R_2 = \text{NH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{SO}_3\text{H}$

$R_1 = \text{OH}$

Cholic acid

Glycocholic acid

Taurocholic acid

$R_1 = \text{H}$

Chenodeoxycholic acid

Glycochenodeoxycholic acid

Taurochenodeoxycholic acid

Figure 25-65
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

I sali biliari sono l'unica via di eliminazione del colesterolo.

La maggior parte viene riassorbita per riciclarli 2-3 volte.

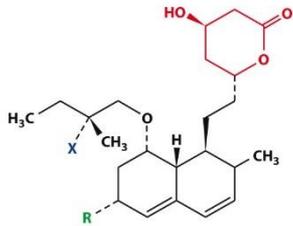
Le resine per i sali biliari (insolubili nell'organismo) legano i sali biliari che quindi sono escreti.

Intervento poco efficace, abbassa $\sim 15\text{-}20\%$ $[\text{LDL}]_{\text{em}}$ perché stimolano la trascrizione di HMG-CoA reduttasi

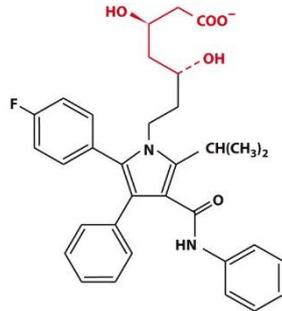
B) Trattamento con inibitori della HMG-CoA reduttasi: **statine**

Sono inibitori competitivi della HMG-CoA reduttasi, con struttura che rispecchia l'HMG-CoA ed il mevalonato.

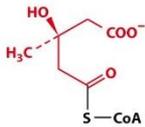
Il trattamento causa l'inibizione della sintesi endogena del colesterolo (anche delle altre vie del mevalonato).



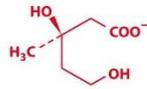
X = H R = CH₃ Lovastatin (Mevacor)
X = H R = OH Pravastatin (Pravachol)
X = CH₃ R = CH₃ Simvastatin (Zocor)



Atorvastatin (Lipitor)



HMG-CoA



Mevalonate

Figure 25-63
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.



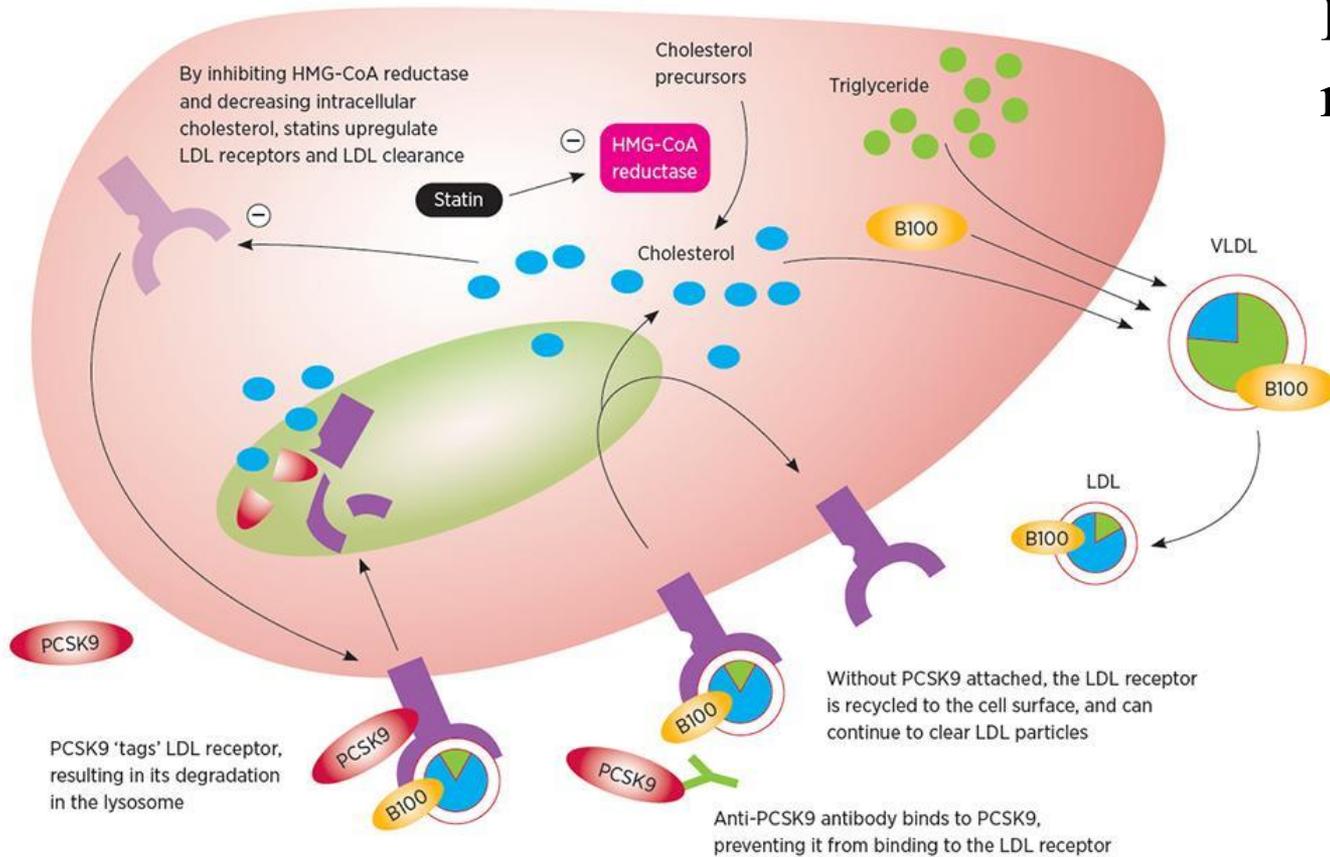
Abbassamento $[LDL]_{em}$ e **aumento recettori LDL**



Aumento rimozione LDL ed IDL con ulteriore abbassamento $[LDL]_{em} \sim 40-50\%$.

C) Utilizzo di anticorpi anti PCSK9

PCSK9 è una proteina coinvolta nella degradazione dei recettori delle LDL nel fegato.

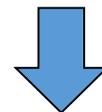


Legame PCSK9 ai recettori LDL



Degradazione del recettore

Inibizione PCSK9



Aumento riciclo recettore LDL