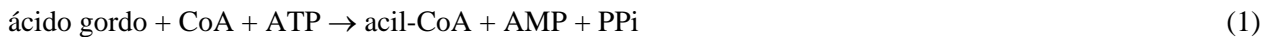
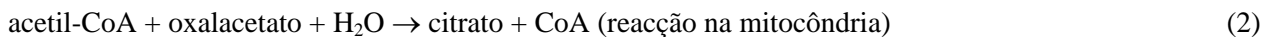


## Lipogénese e síntese dos triacilgliceróis

- 1- Embora os ácidos gordos com número par de carbonos (a maioria) não sejam substratos para a síntese de glicose, **a glicose pode ser substrato para a síntese de ácidos gordos**. Neste texto, quando não se especificar o contrário, a palavra **lipogénese** será usada no seu sentido restrito: a síntese de palmitato a partir da glicose. Contudo, com frequência, a palavra lipogénese é usada com significados mais amplos podendo incluir todos os processos metabólicos que levam à formação de lipídeos (incluindo a dessaturação e alongação de ácidos gordos e a esterificação). Quando se quer evidenciar a ideia de que não se está a incluir estes últimos processos é frequente usar-se a expressão lipogénese *de novo*.
- 2- Comparativamente com outros tecidos, a lipogénese é mais activa no fígado, no tecido adiposo e na glândula mamária activa. Nos músculos esqueléticos a lipogénese não existe porque não existe uma das enzimas desta via metabólica: a síntese do palmitato. A metabolização do palmitato formado implica a sua **prévia “activação” por acção catalítica da sintetase de acil-CoA** (ver equação 1). Quer o palmitato sintetizado endogenamente quer os ácidos gordos que provêm da dieta podem, depois de activados, servir como substratos na síntese de **triacilgliceróis**. Ao processo de formação de triacilgliceróis chama-se **esterificação**.



- 3- No homem adulto, a lipogénese é, nas condições das dietas mistas mais comuns nos países sem problemas de défice nutricional, uma via metabólica muito pouco activa; em geral, a massa de palmitato formada endogenamente não chega a 5% da massa dos ácidos gordos da dieta. O destino metabólico mais importante dos glicídeos é a conversão em glicogénio e, em última análise, a sua oxidação, não é a conversão em ácidos gordos [1]. Contudo, a lipogénese pode ter relevância quando existe ingestão elevada de glicídeos no contexto duma dieta pobre em lipídeos; se o valor calórico dos glicídeos da dieta exceder a despesa energética, os glicídeos em excesso são convertidos em palmitato [1]. **O acetil-CoA**, que é o substrato da lipogénese, forma-se na mitocôndria a partir do piruvato (produto da glicólise) por acção catalítica da **desidrogenase do piruvato**. No entanto, as enzimas envolvidas na conversão da acetil-CoA em palmitato estão **no citoplasma e não na mitocôndria**. O transporte de acetil-CoA da mitocôndria para o citoplasma envolve a (1º) formação de citrato na mitocôndria (**síntese do citrato**: ver equação 2), (2º) o **transporte de citrato** para o citoplasma (ver equação 3) e (3º) a regeneração de acetil-CoA no citoplasma (**ATP-citrato líase**: ver equação 4).



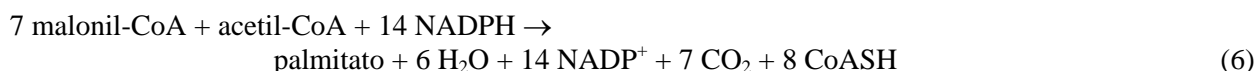
- 4- A **síntese do palmitato** ocorre pela adição sucessiva de unidades de 2 carbonos ao grupo acetilo do acetil-CoA. Estas unidades de 2 carbonos também têm origem no acetil-CoA mas a sua utilização requer a prévia “activação” a **malonil-CoA**. A **carboxilase de acetil-CoA** (ver equação 5) é uma lígase que contém como grupo prostético a biotina e que catalisa a formação de malonil-CoA. A reacção pode ser entendida como a acoplagem de um processo exergónico (a hidrólise do ATP) com outro endergónico (a de carboxilação da acetil-CoA). A síntese de malonil-CoA é o primeiro passo da lipogénese mas, mesmo em células onde a lipogénese não é um processo relevante ou não existe (músculos esquelético e cardíaco), a carboxilase de acetil-CoA tem um papel importante pois o malonil-CoA regula (inibe) a oxidação dos ácidos gordos.



- 5- A segunda enzima envolvida na síntese do palmitato é a **síntese do palmitato** (também designada de síntese de ácidos gordos), uma enzima dimérica citoplasmática que contém como grupo prostético a **4'-fosfopanteteína** (um derivado do ácido pantoténico). A síntese do palmitato é um **complexo multienzímico** que contém 7 actividades catalíticas distintas que operam sequencialmente. A síntese do palmitato começa com a (1) transferência de um resíduo acetilo da acetil-CoA para um **grupo tiol de um resíduo de cisteína** da síntase e (2) com a transferência do resíduo malonilo da malonil-CoA para outro grupo tiol, o grupo tiol da **4'-fosfopanteteína**. Seguidamente ocorre (3) a transferência do resíduo acetilo

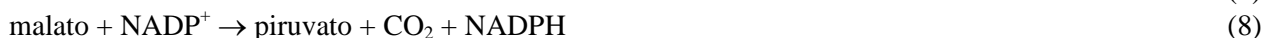
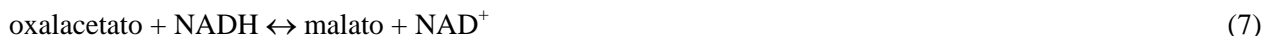
para o carbono 2 do resíduo malonilo com libertação do  $\text{CO}_2$  e a formação de aceto-acetil-enzima, (4) a redução **dependente do NADPH** do aceto-acetil-enzima a D-hidroxi-acil-enzima, (5) a desidratação do D-hidroxi-acil-enzima a  $\Delta^2$ -enoil-enzima e (6) a redução **também dependente do NADPH** do  $\Delta^2$ -enoil-enzima a acil-enzima. Após a adição de uma unidade de 2 carbonos ao acetilo o acil-enzima formado é o butiril-enzima (4C). A transferência do resíduo acilo ligado à 4'-fosfopanteteína para a cisteína e de um novo malonilo (do malonil-CoA) para a 4'-fosfopanteteína permite a continuação da síntese em sucessivos ciclos de adição de 2 carbonos. Na fase de palmitil-enzima (C16) ocorre (7) a hidrólise (tioestérase) e a libertação de palmitato não esterificado. Partindo de acetil-CoA, em cada ciclo catalítico (de 6 passos) são acrescentados 2 carbonos e, ao fim de 7 ciclos, dá-se uma hidrólise que liberta palmitato (C16). Em cada ciclo o dador dos 2 carbonos acrescentados é o malonil-CoA e o carbono 2 do resíduo de malonilo liga-se no carbono carboxílico do ácido gordo saturado intermediário (com sucessivamente 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14 carbonos) que é substrato em cada ciclo.

- 6- A equação soma relativa à actividade da **síntese do palmitato** pode ser escrita:

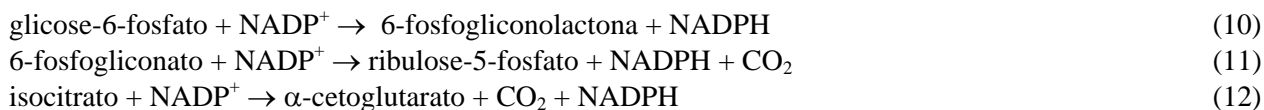


Durante o processo catalisado pela síntese do palmitato ocorre a libertação dos  $\text{CO}_2$  que haviam sido usados na carboxilação do acetil-CoA a malonil-CoA (ver equações 5 e 6). Na actividade da síntese de palmitato, o passo em que ocorre a libertação do  $\text{CO}_2$  é um passo exergónico que contribui para que o processo reactivo global evolua no sentido da formação do palmitato e não em sentido inverso. Embora todos os carbonos do palmitato sintetizado provenham do resíduo acetilo do acetil-CoA, apenas os carbonos 15 e 16 resultam directamente do acetil-CoA que não foi previamente (via carboxilase de acetil-CoA) convertido em malonil-CoA.

- 7- Se estritamente descrito pelas reacções representadas pelas equações 2-4, o processo de transporte de acetil-CoA da mitocôndria para o citoplasma seria, obviamente, insustentável: representam um processo cataplerótico sem que, simultaneamente, ocorra um outro anaplerótico. O processo descrito levaria ao esgotamento do oxalacetato mitocondrial e à sua acumulação no citoplasma. Uma via metabólica que poderá ter relevância no processo anaplerótico compensador inclui a acção da enzima málica: o oxalacetato é reduzido a malato (**desidrogénase do malato**; ver equação 7); de seguida, o malato é oxidado a piruvato (**enzima málica**; também designada de desidrogénase do malato dependente do  $\text{NADP}^+$ ; ver equação 8) e, por último, o piruvato entra para a mitocôndria onde é convertido em oxalacetato pela acção da **carboxilase do piruvato** (equação 9). Esta via permite, simultaneamente, fornecer parte dos equivalentes redutores (na forma de NADPH) para a actividade da síntese do palmitato e “transportar” oxalacetato do citoplasma para a matriz.



- 8- Por mole de palmitato sintetizado 14 moles de NADPH oxidam-se a  $\text{NADP}^+$  (ver equação 6). Assim, mesmo que admitamos que a via metabólica descrita pelas equações 7-9 é a única envolvida no “transporte” de oxalacetato do citoplasma para a mitocôndria, a via permite formar apenas 8 NADPH (1 por cada acetil-CoA transportado) por mole de palmitato sintetizado. Para além da **enzima málica** (ver equação 8) existem outras enzimas citoplasmáticas envolvidas na redução do  $\text{NADP}^+$  e que têm relevância na lipogénese. Na via das pentoses-fosfato, a redução do  $\text{NADP}^+$  ocorre por acção catalítica da **desidrogénase da glicose-6-P** e da **desidrogénase do 6-fosfogliconato** (ver equações 10 e 11) mas esta redução também pode resultar da acção da **desidrogénase do isocitrato** citoplasmática (ver equação 12). Dado que a glicose é o combustível da via das pentoses-fosfato e que, quer o malato, quer o isocitrato (intermediários do ciclo de Krebs) se formam (via carboxilase do piruvato) a partir da glicose, pode dizer-se que, para além de fornecer o substrato da lipogénese (acetil-CoA) a glicose é também essencial no processo de formação do agente redutor pertinente no processo: o NADPH.

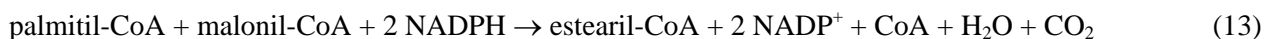


- 9- O destino metabólico do palmitato formado é ser tioesterificado com a CoA formando palmitil-CoA (**sintétase de acil-CoA**; ver equação 1) que pode estar na origem de triacilgliceróis e outros lipídeos (**esterificação**), de ácidos gordos com maior número de carbonos (**elongação**), de ácidos gordos insaturados (**dessaturação**) ou sofrer, eventualmente, **beta oxidação**.
- 10- Na regulação da lipogénese estão envolvidos quer “**mecanismos de curto prazo**” como a **fosforilação inactivadora** e a **activação e inibição alostéricas** da carboxilase de acetil-CoA, quer “**mecanismos de longo prazo**” envolvendo a **indução de genes** codificadores das enzimas que participam nestes processos. A **insulina tem acções activadoras** quer de “curto” quer de “longo prazo”. **No fígado, a glicagina e a adrenalina têm acções inibidoras** mas os mecanismos, sabendo-se que envolvem a activação da PKA, estão ainda mal esclarecidos. A **disponibilidade de glicose** tem também um papel independente da insulina na activação do processo. A pouca relevância da lipogénese *de novo* nos países mais desenvolvidos são uma consequência das dietas típicas nestes países (comparativamente com outras, mais ricas em lipídeos e mais pobres em glicídeos) e dos seus efeitos na regulação da lipogénese.
- 11- A lipogénese *de novo* pode ser activada se a dieta for rica em glicose (e pobre em lipídeos) durante uma série de dois ou mais dias (**regulação a “longo prazo”**). Neste efeito estão envolvidos mecanismos que envolvem a activação da transcrição dos genes de enzimas directamente envolvidas na lipogénese (**líase do ATP-citrato, carboxilase da acetil-CoA e síntase do palmitato**), de enzimas envolvidas na redução do NADP<sup>+</sup> (**desidrogenases de glicose-6-fosfato e 6-fosfogliconato e enzima málica**) e, no fígado, de enzimas da glicólise (**hexocínase IV e cínase do piruvato**). A transcrição destes genes é activada pela ingestão de glicose. Um dos mecanismos envolvidos é o aumento na concentração citoplasmática de xilulose-5-P que, alostericamente, activa uma fosfatase A2 que promove a desfosforilação e consequente activação de um factor de transcrição denominado **ChREBP** (proteína de ligação ao elemento de resposta aos carboidratos) [3-4]. Um outro mecanismo envolve a insulina (cuja síntese e libertação aumenta se a dieta for rica em glicídeos) que estimula a síntese de um outro factor de transcrição denominado **SREBP-1c** (proteína 1c de ligação ao elemento de resposta aos esteróides<sup>1</sup>). Os elementos de resposta aos factores de transcrição ChREBP e SREBP-1c existem nos promotores dos genes acima referidos e a ligação de um ou outro destes factores induz a sua transcrição.
- 12- A actividade da **carboxilase da acetil-CoA** fornece malonil-CoA para a lipogénese e elongação e a sua regulação “**de curto prazo**” tem sido muito estudada. Para além de regulada ao nível da transcrição a carboxilase de acetil-CoA também é regulada (i) por **fosforilação e desfosforilação** reversíveis e (ii) por mecanismos **alostéricos (citrato activador e acis-CoA inibidores)**. Quando a glicemia e/ou a insulina estão elevadas a concentração de citrato aumenta ligeiramente no fígado e admite-se que esta variação poderá contribuir para a activação da carboxilase de acetil-CoA. A fosforilação e consequente inactivação da carboxilase de acetil-CoA é catalisada pela **cínase de proteínas activada pelo AMP (AMPK)**. A AMPK é uma cínase de proteínas que está mais activa quando aumenta a concentração intracelular de AMP ou de ácidos gordos. Durante o jejum, o aumento da oferta de ácidos gordos ao fígado e a glicagina estimulam a **AMPK que catalisa a fosforilação da carboxilase de acetil-CoA em resíduos específicos que levam à sua inibição** e, consequentemente, à inibição da lipogénese. Potenciando este efeito, os acis-CoA formados a partir desses ácidos gordos, também tem efeito **inibidor alostérico** na carboxilase de acetil-CoA. No fígado, a glicagina e a adrenalina inactivam a carboxilase de acetil-CoA via activação da adenilciclase, formação de AMP cíclico e activação da PKA. A fosforilação que é catalizada pela PKA ocorre em resíduos aminoacídicos diferentes dos que são fosforilados pela AMPK e tem um efeito discreto na actividade da carboxilase de acetil-CoA. No entanto, pode ter algum efeito inactivador já que esta fosforilação diminui a sua sensibilidade para a acção activadora do citrato [5]. Sabe-se que o efeito activador “de curto prazo” (pós-prandial) da insulina é mediado por modulação do estado de fosforilação da carboxilase de acetil-CoA mas o mecanismo exacto é ainda controverso: o

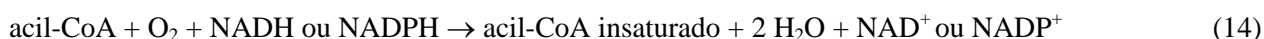
<sup>1</sup> Embora de denomine “*steroid response element binding protein-1c*” o SREBP-1c (ao contrário do SREBP-2) não se liga a esteróides.

efeito activador poderá depender da desfosforilação hidrolítica dos resíduos aminoácidos fosforilados pela acção da AMPK e da fosforilação de outros resíduos [5-6].

- 13- Os ácidos gordos **saturados** mais abundantes nos mamíferos são o **palmítico** (16:0) e o **esteárico** (18:0). O ácido esteárico pode formar-se endogenamente a partir de ácido palmítico por acção de enzimas do **retículo endoplasmático** que catalisam a adição de dois carbonos (do malonil-CoA) ao palmitil-CoA. Pela adição sucessiva de unidades de dois carbonos no carbono 1 de ácidos gordos (**elongação**) podem formar-se endogenamente ácidos gordos com um número de carbonos superior a 16 (por exemplo, formação de estearato a partir de palmitato). O processo de elongação envolve enzimas com actividades catalíticas semelhantes às que foram referidas para a síntese do palmitato. O dador da unidade de dois carbonos é também o malonil-CoA e o agente redutor o NADPH. No entanto, no caso da elongação existem para cada um dos passos do processo diferentes enzimas e os intermediários libertam-se em cada passo como derivados ligados ao CoA (e não à enzima) [2]. O processo parte de um acil-CoA em que o acilo tem n carbonos gerando outro acil-CoA com n+2 carbonos: a equação que descreve a elongação do palmitil-CoA a estearil-CoA é a seguinte:



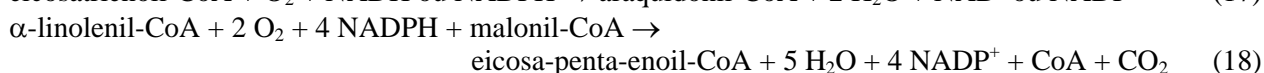
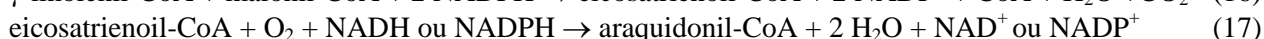
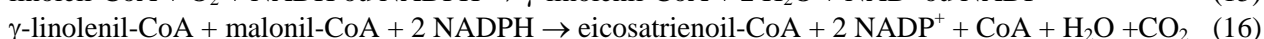
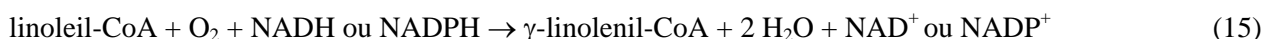
- 14- No **retículo endoplasmático** podem também formar-se ácidos gordos insaturados e a reacção é catalisada por sistemas enzimáticos genericamente designados como dessatúrases de acil-CoA. O processo de dessaturação envolve uma cadeia de oxiredútaes (que inclui o citocromo b5) em que o O<sub>2</sub> funciona como oxidante último do acil-CoA e do NADPH (ou do NADH). O somatório dos processos pode ser esquematizado:



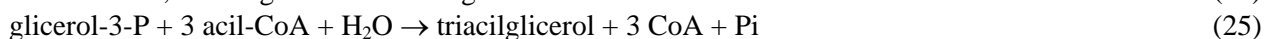
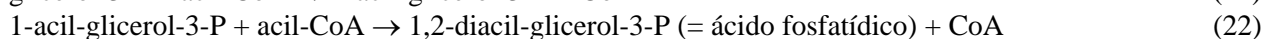
Existem dessatúrases com diferentes especificidades no que se refere ao carbono onde a dupla ligação é introduzida. A dessaturase  $\Delta 9$  (também designada de **dessaturase do estearil-CoA**) catalisa a conversão do ácido esteárico (18:0) em oleico (18:1;9) e do palmítico (16:0) em palmitoleico (16:1;9). Outras dessatúrases são a **dessaturase  $\Delta 6$**  e a **dessaturase  $\Delta 5$**  que estão envolvidas na introdução de novas duplas ligações em ácidos gordos poli-insaturados. Nos ácidos gordos poli-insaturados naturais entre duas duplas ligações consecutivas há sempre um grupo metileno (...CH=CH-CH<sub>2</sub>-CH=CH...).

- 15- No caso dos mamíferos **não é possível a introdução de duplas ligações em carbonos com número superior ao carbono 9**. Assim, os ácidos linoleico (18:2;9,12) e o ácido  $\alpha$ -linolénico (18:3;9,12,15) não são sintetizados nas células dos mamíferos e dizem-se essenciais ou **nutricionalmente indispensáveis**. O ácido linoleico é um exemplo de ácido gordo da série  $\omega 6$  (ómega 6). Nos ácidos gordos  $\omega 6$  a dupla ligação que está mais distante do grupo carboxílico situa-se entre o 6º e o 7º carbono a contar do fim; no caso do ácido linoleico o carbono  $\omega 6$  corresponde ao carbono 13. O ácido  $\alpha$ -linolénico é um exemplo de ácido gordo da série  $\omega 3$ ; ou seja, a dupla ligação mais distante do grupo carboxílico situa-se entre o 3º e o 4º carbono a contar do fim.
- 16- Nos mamíferos, é possível inter-converter diferentes ácidos gordos  $\omega 6$  entre si (ou diferentes  $\omega 3$  entre si) mas não é possível converter ácidos gordos de uma série na outra nem formar  $\omega 3$  ou  $\omega 6$  a partir de saturados. Quando se discutem inter-conversões envolvendo ácidos gordos insaturados a “nomenclatura  $\omega$ ” tem vantagens relativamente à que ordena os carbonos considerando o carbono 1 o carbono carboxílico (nomenclatura clássica). Quando ocorre elongação o número de carbonos de um ácido gordo aumenta 2 carbonos (que se ligam ao carbono que era originalmente o carboxílico) e, na nomenclatura clássica, o número associado aos carbonos onde existiam duplas ligações aumenta de igual modo; os carbonos continuam os mesmos mas passam a ter um número diferente. No entanto, explicando a preferência pela “nomenclatura  $\omega$ ” quando se tratam destes temas, a numeração  $\omega$  não é afectada.

- 17- O **ácido araquidónico** (20:4;5,8,11,14) é um ácido gordo  $\omega 6$  e é precursor na síntese de eicosanoides<sup>2</sup> e do neurotransmissor anandamida. O ácido araquidónico ( $\omega 6$ ; 20:4) pode formar-se nos mamíferos a partir do linoleico ( $\omega 6$ ; 18:2), por acção sequenciado da (1) dessaturase  $\Delta 6$ , (2) de elongação e (3) da dessaturase  $\Delta 5$ . A dessaturação no carbono 6 (ver equação 15) forma o ácido  $\gamma$ -linolénico (18:3;6,9,12 ou  $\omega 6$ ; 18:3), que, elongado em 2 carbonos (ver equação 16), origina o ácido eicosatrienóico da série  $\omega 6$  (20:3;8,11,14 ou  $\omega 6$ ; 20:3); a dessaturação, agora no carbono 5, origina o ácido araquidónico (ver equação 17). O **EPA** (*ácido eicosa-penta-enoico*, 20:5;5,8,11,14,17 ou  $\omega 3$ , 20:5) é, tal como o  $\alpha$ -linolénico ( $\omega 3$ ; 18:3), um ácido  $\omega 3$ ; forma-se numa sequência de reacções iguais às referidas para o caso do ácido araquidónico mas neste caso partindo do ácido  $\alpha$ -linolénico. Admitindo que o NADH não intervém, a equação 18 é a que representa o somatório do processo de síntese de eicosa-penta-enoil-CoA a partir de  $\alpha$ -linolenil-CoA. De facto, em qualquer dos casos, quer os substratos quer os intermediários das vias de conversão são sempre ácidos gordos activados: os acis-CoA respectivos.



- 18- Durante a digestão intestinal dos triacilgliceróis (os mais abundantes lipídeos da dieta) forma-se maioritariamente **2-monoacilglicerol** e ácidos gordos que são absorvidos. Os ácidos gordos de cadeia longa e muito longa são esterificados nos enterócitos regenerando-se os triacilgliceróis: os ácidos gordos são activados (**shintétase de acil-CoA**: ver equação 1) e os resíduos acilo dos acis-CoA transferidos para as posições 1 e 3 do 2-monoacilglicerol por acção catalítica de duas transféras de acilo. Estes acis-CoA vão a seguir incorporar-se nos quilomicra.
- 19- No fígado, no rim, na glândula mamária activa e no tecido adiposo o aceitador de resíduos acilo no processo de síntese de triacilgliceróis não é o 2-monoacilglicerol mas o **glicerol-3-P**. No tecido adiposo não existe **cínase do glicerol** (ver equação 19) e todo o glicerol-3-P resulta da redução da dihidroxiacetona-P (**desidrogénase do glicerol-3-P**: ver equação 20). Nos casos do fígado, do rim e da glândula mamária activa, a presença da **cínase do glicerol** permite a formação de glicerol-3-P a partir de glicerol e ATP. Na via da síntese dos triacilgliceróis, o glicerol-3-P aceita (por acção catalítica de duas transféras de acilo que actuam sequencialmente) dois resíduos acilo de acis-CoA formando-se, primeiro, o 1-acil-glicerol-3-fosfato e a seguir o **1,2-diacilglicerol-fosfato (ou ácido fosfatídico ou fosfatidato)**; ver equações 21 e 22. De seguida, a **fosfátase do ácido fosfatídico** catalisa a formação do 1,2-diacilglicerol (ver equação 23) que aceita outro acilo formando-se o triacilglicerol (ver equação 24). A equação soma que descreve a síntese de triacilglicerol (esterificação) a partir de glicerol-3-P e acis-CoA é a equação 25.



Os triacilgliceróis constituem a mais abundante forma de reserva de energia num indivíduo normal e encontram-se maioritariamente no tecido adiposo (cerca de 95% dos lipídeos de um homem jovem

<sup>2</sup> Eicosanoides são substâncias (prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos e lipoxinas) formadas a partir de ácidos gordos poli-insaturados com 20 carbonos que se libertam em muitas células do organismo e que provocam efeitos interagindo com receptores situados na membrana celular das mesmas células onde se libertam (sinalização autócrina) ou em outras células da proximidade (sinalização parácrina).

normal encontram-se no tecido adiposo). A gordura de um indivíduo adulto normal com 70 kg (cerca de 10-15 Kg de gordura) permite custear as suas necessidades energéticas durante cerca de 2 meses.

- 20- A acção activadora da insulina na lipogénese não se limita à lipogénese *de novo*. A activação da síntese de SREBP-1c também leva ao aumento da transcrição dos genes da lipogénese entendida num sentido mais amplo. São genes alvo os genes da **dessatúrase do estearil-CoA** [7], da **acil-transférase do glicerol-3-fosfato** (a primeira enzima no processo de esterificação; ver equação 21) e genes de enzimas envolvidas no processo de **elongação** de ácidos gordos.

1. Hellerstein, M. K. (1999) De novo lipogenesis in humans: metabolic and regulatory aspects, *Eur J Clin Nutr.* 53 Suppl 1, S53-65.
2. Moon, Y. A. & Horton, J. D. (2003) Identification of two mammalian reductases involved in the two-carbon fatty acyl elongation cascade, *J Biol Chem.* 278, 7335-43.
3. Veech, R. L. (2003) A humble hexose monophosphate pathway metabolite regulates short- and long-term control of lipogenesis, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 100, 5578-80.
4. Liu, Y. Q. & Uyeda, K. (1996) A mechanism for fatty acid inhibition of glucose utilization in liver. Role of xylulose 5-P, *J Biol Chem.* 271, 8824-30.
5. Saggerson, D. (2008) Malonyl-CoA, a key signaling molecule in mammalian cells, *Annu Rev Nutr.* 28, 253-72.
6. Brownsey, R. W., Boone, A. N., Elliott, J. E., Kulpa, J. E. & Lee, W. M. (2006) Regulation of acetyl-CoA carboxylase, *Biochem Soc Trans.* 34, 223-7.
7. Foster, D. W. (2004) The role of the carnitine system in human metabolism, *Ann N Y Acad Sci.* 1033, 1-16.