



Fundação

CECIERJ

Consórcio **cederj**

Centro de Educação Superior a Distância do Estado do Rio de Janeiro

Bioquímica II

Volume 2
3ª Edição

Andrea Thompson Da Poian
Debora Foguel
Marília Dansa Petretski
Olga Lima Tavares Machado



GOVERNO DO
Rio de Janeiro

**SECRETARIA DE CIÊNCIA,
TECNOLOGIA, INOVAÇÃO E
DESENVOLVIMENTO SOCIAL**

UNIVERSIDADE
ABERTA DO BRASIL

MINISTÉRIO DA
EDUCAÇÃO



Apoio:



FAPERJ

Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo
à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

Fundação Cecierj / Consórcio Cederj

www.cederj.edu.br

Presidente

Carlos Eduardo Bielschowsky

Vice-presidente

Marilvia Dansa de Alencar

Coordenação do Curso de Biologia

UENF – Marilvia Dansa de Alencar Petretski
UERJ – Celly Cristina Alves do Nascimento Saba
UFRJ – Benedita Aglai Oliveira da Silva

Material Didático

ELABORAÇÃO DE CONTEÚDO

Andrea Thompson Da Poian
Debora Foguel
Marilvia Dansa Petretski
Olga Lima Tavares Machado

COORDENAÇÃO E REVISÃO

Ana Tereza de Andrade

DESIGN INSTRUCIONAL E REVISÃO

Alexandre Rodrigues Alves
Carmen Irene Correia de Oliveira
José Meyohas

REVISÃO TÉCNICA

Marta Abdala

Departamento de Produção

EDITOR

Fábio Rapello

COORDENAÇÃO EDITORIAL

Jane Castellani

REVISÃO TIPOGRÁFICA

Jane Castellani
Kátia Ferreira dos Santos

COORDENAÇÃO DE PRODUÇÃO

Bianca Giacomelli

PROGRAMAÇÃO VISUAL

Equipe CEDERJ

ILUSTRAÇÃO

Jefferson Caçador
Salmo Dansa
Sami Souza

CAPA

Eduardo Bordoni

PRODUÇÃO GRÁFICA

Verônica Paranhos

Copyright © 2014, Fundação Cecierj / Consórcio Cederj

Nenhuma parte deste material poderá ser reproduzida, transmitida e gravada, por qualquer meio eletrônico, mecânico, por fotocópia e outros, sem a prévia autorização, por escrito, da Fundação.

B615

Bioquímica II. v. 2 / Andrea Thompson Da Poian...[et al]. – 3. ed. –
Rio de Janeiro : Fundação CECIERJ, 2014.
194p.; 19 x 26,5 cm.

ISBN: 978-85-7648-951-1

1. Bioquímica. 2. Ciclo da uréia. 3. Metabolismo de aminoácidos.
4. Metabolismo de carboidratos. 5. Degradação de lipídios. 6. Síntese
de ácidos graxos. I. Foguel, Debora. II. Petretski, Marilvia Dansa. III.
Machado, Olga Tavares. IV. Título.

CDD: 572

Governo do Estado do Rio de Janeiro

Governador

Luiz Fernando de Souza Pezão

Secretário de Estado de Ciência, Tecnologia, Inovação e Desenvolvimento Social

Gabriell Carvalho Neves Franco dos Santos

Universidades Consorciadas

**CEFET/RJ - CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO
TECNOLÓGICA CELSO SUCKOW DA FONSECA**
Diretor-geral: Carlos Henrique Figueiredo Alves

**FAETEC - FUNDAÇÃO DE APOIO
À ESCOLA TÉCNICA**
Presidente: Alexandre Sérgio Alves Vieira

**IFF - INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO,
CIÊNCIA E TECNOLOGIA FLUMINENSE**
Reitor: Jefferson Manhães de Azevedo

**UENF - UNIVERSIDADE ESTADUAL
DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**
Reitor: Luis César Passoni

**UERJ - UNIVERSIDADE DO ESTADO
DO RIO DE JANEIRO**
Reitor: Ruy Garcia Marques

UFF - UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
Reitor: Sidney Luiz de Matos Mello

**UFRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO DE JANEIRO**
Reitor: Roberto Leher

**UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DO RIO DE JANEIRO**
Reitor: Ricardo Luiz Louro Berbara

**UNIRIO - UNIVERSIDADE FEDERAL
DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**
Reitor: Luiz Pedro San Gil Jutuca

SUMÁRIO

Aula 14 - A oxidação dos aminoácidos e a produção de uréia _____	7
<i>Marília Dansa Petretski / Olga Lima Tavares Machado</i>	
Aula 15 - Ciclo da uréia _____	19
<i>Olga Lima Tavares Machado</i>	
Aula 16 - Metabolismo de aminoácidos _____	27
<i>Marília Dansa Petretski</i>	
Aula 17 - Degradação de lipídeos _____	39
<i>Debora Foguel</i>	
Aula 18 - Síntese de ácidos graxos _____	59
<i>Debora Foguel</i>	
Aula 19 - Via das pentoses-fosfato _____	73
<i>Andrea Thompson Da Poian</i>	
Aula 20 - Degradação do glicogênio _____	83
<i>Olga Lima Tavares Machado</i>	
Aula 21 - Biossíntese do glicogênio _____	91
<i>Olga Lima Tavares Machado</i>	
Aula 22 - Regulação do metabolismo do glicogênio _____	99
<i>Olga Lima Tavares Machado</i>	
Aula 23 - Introdução à gliconeogênese _____	111
<i>Andrea Thompson Da Poian</i>	
Aula 24 - A via gliconeogênica _____	123
<i>Andrea Thompson Da Poian</i>	
Aula 25 - Regulação da gliconeogênese _____	211
<i>Andrea Thompson Da Poian</i>	
Aula 26 - Introdução aos hormônios _____	223
<i>Andrea Thompson Da Poian</i>	
Aula 27 - Glucagon e adrenalina _____	235
<i>Andrea Thompson Da Poian</i>	
Aula 28 - Insulina e glicocorticóides _____	249
<i>Andrea Thompson Da Poian</i>	
Gabarito _____	265

A oxidação dos aminoácidos e a produção de uréia

AULA

14

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Identificar as situações metabólicas nas quais ocorre o catabolismo dos aminoácidos.
- Conhecer o destino do grupamento amina (NH_2) presente nos aminoácidos.
- Conhecer o destino do esqueleto de carbonos dos aminoácidos.
- Conhecer as principais vias de modificação do grupamento amina, formado em tecidos extra-hepáticos, e de seu transporte para o fígado.

Pré-requisitos

Conhecimento da estrutura e da simbologia dos aminoácidos obtido em Bioquímica I (Módulo 2, Aulas 8 a 10).

Conhecimento do ciclo de Krebs obtido nas Aulas 13 e 14 desta disciplina.

INTRODUÇÃO

Agora, nós voltaremos nossa atenção para o processo de obtenção de energia a partir da oxidação dos aminoácidos. A fração de energia metabólica que pode ser obtida dos aminoácidos provenientes das proteínas da dieta ou das proteínas musculares varia consideravelmente com o tipo do organismo e com as condições metabólicas do mesmo. Carnívoros, logo após a alimentação, podem obter até 90% dos seus requerimentos energéticos da oxidação dos aminoácidos, enquanto os herbívoros podem obter pouca energia dessa rota metabólica. Microorganismos podem obter aminoácidos do meio e aproveitá-los, já as plantas raramente oxidam aminoácidos para obter energia; a maior parte da sua energia metabólica é obtida da degradação de carboidratos. A concentração dos aminoácidos nas plantas é ajustada para atender à síntese de proteínas, de ácidos nucléicos e de outras moléculas necessárias ao seu crescimento.

Em animais, os aminoácidos sofrem o processo oxidativo em três diferentes circunstâncias metabólicas:

1. Durante a síntese e degradação normal das proteínas, que recebe o nome de *turnover* de proteínas, alguns aminoácidos obtidos pela degradação são utilizados para a síntese de novas proteínas.
2. Quando a dieta é rica em proteínas, e a ingestão excede as necessidades do corpo para a síntese de suas próprias proteínas (após um churrasco, por exemplo), tal excesso é degradado, visto que os aminoácidos não podem ser estocados.
3. Durante o jejum ou em doenças como a diabetes **melito**, quando os carboidratos já não estão mais disponíveis ou não podem ser utilizados, as proteínas celulares são utilizadas como combustível.

Em todas essas condições metabólicas, os **aminoácidos perdem** seus grupamentos **amino** para **formar alfa-cetoácidos** (moléculas como aquelas que você aprendeu ao estudar o ciclo de Krebs, Aula 14). Os "esqueletos de carbonos", ou seja, a cadeia carbônica dos aminoácidos, formam os α -cetoácidos. Como você aprendeu (Aula 14), os alfa-cetoácidos podem ser degradados a CO_2 e H_2O ou, com maior frequência, podem fornecer esqueletos com três ou quatro unidades de carbono que serão convertidos em moléculas de glicose, combustível necessário ao cérebro, músculo e outros tecidos. Esse processo é feito através de uma rota metabólica, denominada gliconeogênese, que você aprenderá na Aula 30. As vias de degradação dos aminoácidos são muito parecidas em diversos organismos; o foco desta aula será o catabolismo que ocorre em vertebrados. De um modo geral, as vias de degradação convergem para vias metabólicas centrais.

Você pôde observar, nas Aulas de 9 a 11, que a degradação dos carboidratos forneceu piruvato, que, por sua vez, foi convertido a acetil-CoA; a degradação de ácidos graxos também gerou moléculas de acetil-CoA que foi oxidada no ciclo de Krebs.

Um **ponto importante** para **distinguir o metabolismo dos aminoácidos do processo de degradação dos ácidos graxos e dos carboidratos** é que todos os **aminoácidos contêm grupamento amino**; logo, **seu processo de degradação inclui uma etapa chave, na qual o grupamento amino é separado do esqueleto de carbonos** e desviado para vias específicas de utilização de aminoácidos. Veja um resumo esquemático da transformação dos aminoácidos na **Figura 17.1**. Nela, podemos observar que os aminoácidos podem vir tanto da dieta quanto de outras proteínas intracelulares. A cadeia de carbonos é utilizada em rotas metabólicas que você já conhece, enquanto a **parte nitrogenada dos aminoácidos, na forma de amônia, é processada** em uma via denominada **"ciclo da uréia"**, que será abordada em detalhes na Aula 18.

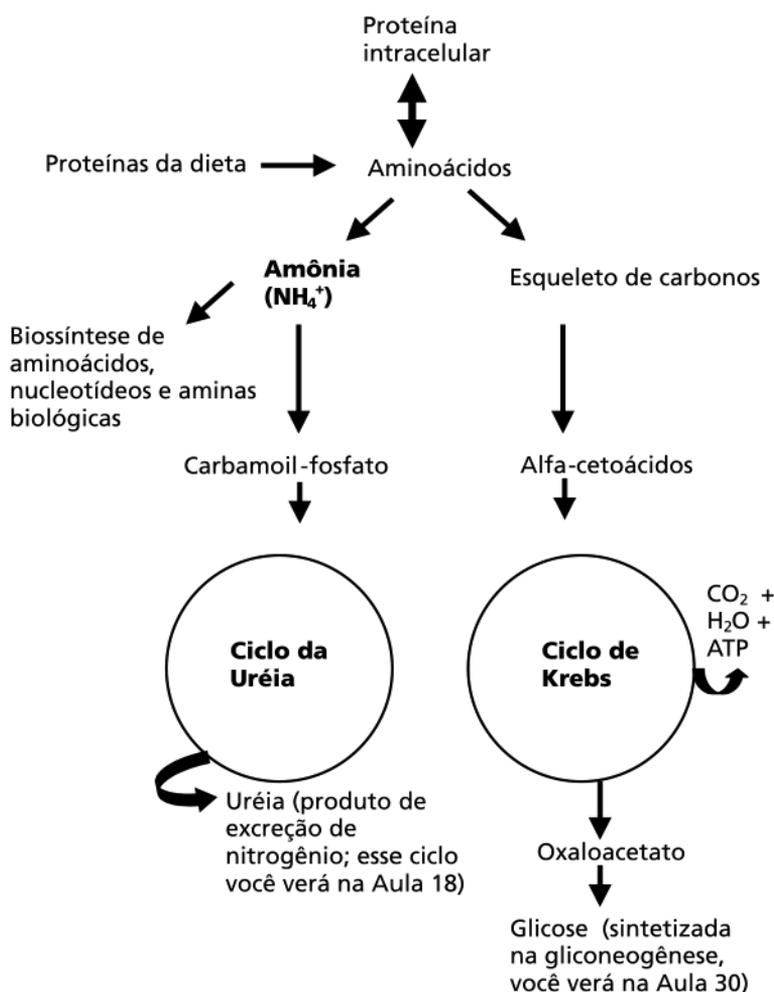


Figura 17.1: Visão geral do catabolismo dos aminoácidos em mamíferos.

AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS

São aqueles que devem ser ingeridos na dieta. As células não possuem enzimas para sintetizar seu esqueleto carbônico. Em mamíferos são: **isoleucina, leucina, valina, lisina, treonina, triptofano, fenilalanina, metionina e histidina.**

DESTINO DO ESQUELETO DE CARBONOS DOS AMINOÁCIDOS

Os aminoácidos, quando desaminados, produzem α -cetoácidos que, diretamente ou através de reações adicionais, rendem componentes do ciclo de Krebs. Os aminoácidos podem ser agrupados em duas classes: glicogênicos e cetogênicos.

DESTINO METABÓLICO DOS GRUPAMENTOS AMINO

O nitrogênio molecular existe na natureza, em bastante quantidade; no entanto, antes de ser utilizado pelos animais, ele deve ser “fixado”, isto é, reduzido da forma de N_2 para NH_3 por microorganismos e plantas. A amônia é então incorporada, por esses organismos, em aminoácidos e proteínas.

Você aprendeu em Bioquímica 1 que alguns **AMINOÁCIDOS** são considerados **ESSENCIAIS**, pois não podem ser sintetizados pelo organismo, e, portanto, devem ser ingeridos na dieta. Os **não-essenciais** podem ser produzidos no nosso organismo a partir dos essenciais. Humanos não podem sintetizar 11 dos 20 aminoácidos necessários à síntese de proteínas endógenas. Os carbonos dos aminoácidos entram no metabolismo intermediário em um dos pontos apresentados a seguir: **AMINOÁCIDOS** denominados **GLICOGÊNICOS** (poderão formar **glicose**) são metabolizados em **piruvato, 3-fosfoglicerato, α -cetoglutarato, oxaloacetato, fumarato ou succinil-CoA**; **AMINOÁCIDOS CETOGÊNICOS** (que podem formar **corpos cetônicos**) produzem **acetil-CoA ou acetoacetato**. O metabolismo de alguns aminoácidos resulta em mais de um dos pontos apresentados e, assim, alguns aminoácidos podem ser tanto glicogênicos como cetogênicos. Veja, na **Figura 17.2**, os pontos de entrada dos aminoácidos glicogênicos e cetogênicos nas rotas metabólicas.

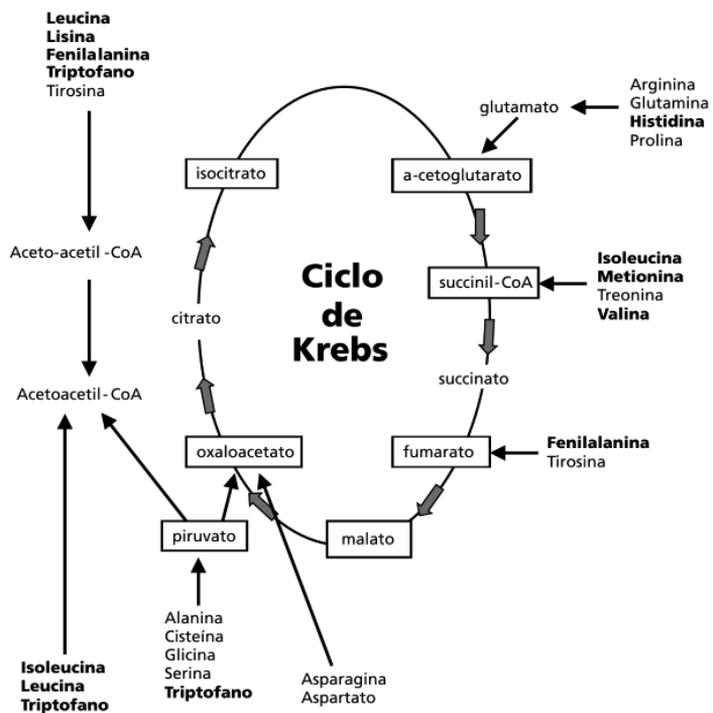


Figura 17.2: Pontos de entrada dos aminoácidos no ciclo de Krebs. Nas caixas estão registrados os pontos de entrada dos aminoácidos glicogênicos. Aminoácidos cetogênicos produzem acetil-CoA ou aceto-acetil-CoA. Em negrito estão destacados os aminoácidos essenciais.

Até este ponto da aula você aprendeu que os aminoácidos, para serem utilizados como fonte de energia, perdem seus grupamentos amino e são convertidos em intermediários do ciclo de Krebs e que a amônia pode ser convertida em uréia para ser eliminada. Na realidade, a amônia pode ser eliminada como amônia nos animais aquáticos, como ácido úrico em aves e répteis e como uréia em muitos vertebrados terrestres. Assim, daremos prosseguimento à nossa aula, **apresentando** inicialmente as **formas de transferência do grupamento amônia** (NH_3) e em seguida o processo de **formação da uréia**, que será aprofundado na Aula 18.

Os aminoácidos da dieta são a principal fonte de grupos amino; a maioria é metabolizada no fígado. Alguma amônia gerada nesse processo é reciclada e usada em diversas vias biossintéticas. O excesso é eliminado como uréia, amônia ou ácido úrico. O excesso de amônia gerado em outros tecidos também é transportado para o fígado para ser convertido em sua forma de excreção. Para entendermos o mecanismo de oxidação dos aminoácidos, devemos considerar alguns aspectos importantes que serão abordados de forma integrada; no entanto, você deverá ler com atenção os tópicos destacados nas caixas laterais, para fixá-los separadamente. Abordaremos os seguintes pontos:

1. **A importância das transaminases** e a formação do glutamato.
2. **O papel da glutamina** no processo de desintoxicação.
3. **A importância da alanina** para o transporte de grupamentos amino gerados pelo catabolismo dos aminoácidos em tecidos extra-hepáticos, como os músculos.

Glutamato e glutamina têm um **papel crítico no metabolismo do nitrogênio**. A maioria dos grupamentos NH_3 dos aminoácidos é transferida para o **alfa-cetoglutarato**, formando o **íon glutamato**. O íon glutamato é então transportado para a mitocôndria, onde o grupamento amino é removido para formar o íon amônio (NH_4^+).

O **excesso de amônia** gerado em outros tecidos é **convertido em grupamento amida da glutamina**, a qual passa para o citosol dos hepatócitos e desse para a mitocôndria do hepatócito. Na maioria dos tecidos, glutamina ou glutamato ou ambos estão presentes em concentrações maiores do que qualquer outro aminoácido.

No músculo, o excesso de grupamentos amino gerado é transferido para o piruvato, formando alanina, uma outra molécula importante para o transporte de grupamentos amino para o fígado. **A transferência de grupamentos amino** é catalisada por enzimas denominadas **aminotransferases ou transaminases**. Observe um exemplo genérico dessas reações na **Figura 17.3**. As transaminases apresentam outros papéis, que são destacados na caixa lateral.

AMINOÁCIDOS GLICOGÊNICOS

Os esqueletos carbônicos dos aminoácidos glicogênicos são degradados em piruvato ou intermediários, de 4 e 5 carbonos, do ciclo de Krebs. Os aminoácidos glicogênicos são as principais fontes de carbono da gliconeogênese quando os níveis de glicose caem. Eles podem ser degradados para produzir energia ou ser convertidos em glicogênio ou ácidos graxos para estocar energia.

AMINOÁCIDOS CETOGÊNICOS

Os esqueletos de carbonos dos aminoácidos cetogênicos são degradados em acetil-CoA e acetoacetato. O esqueleto carbônico dos aminoácidos cetogênicos pode ser catabolizado para a produção de energia ou ser convertido a corpos cetônicos ou ácidos graxos.

DESAMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS

Além de equilibrar os grupamentos amino entre α -cetoácidos, as **transaminases** recolhem o grupamento amino do excesso de aminoácidos da dieta e transferem para aqueles aminoácidos que podem ser desaminados, como por exemplo o glutamato. O esqueleto de carbonos dos aminoácidos, que podem ser desaminados, pode ser catabolizado para obter energia ou ser usado para a síntese de glicose ou ácidos graxos para estocar energia. Somente alguns aminoácidos podem ser desaminados diretamente.

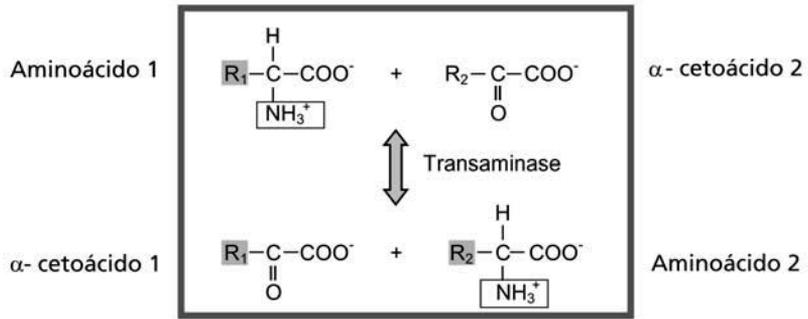


Figura 17.3: Reação catalisada por uma transaminase ou aminotransferase – enzimas que catalisam a transferência reversível de um grupo amino entre dois α -cetoácidos.

Transaminases são enzimas que transferem grupamentos amino de aminoácidos para α -cetoácidos.

Essas enzimas equilibram os grupamentos amino entre os α -cetoácidos. Elas permitem a síntese de aminoácidos não-essenciais a partir de outros aminoácidos. Assim, o balanço entre diferentes aminoácidos é mantido, e várias proteínas podem ser sintetizadas.

A **Figura 17.4** mostra como os amino grupos da alanina e do ácido aspártico são transferidos para o α -cetogluturato para formar glutamato. Nessa reação, o piruvato produzido fornece carbonos para formar glicose (gliconeogênese, você verá na Aula 30) ou pode ser descarboxilado a

acetil-CoA (Aula 14) para entrar no ciclo de Krebs e gerar energia. A transaminação é a reação mais comum envolvendo aminoácidos; somente dois aminoácidos, lisina e treonina, não participam de reações de transaminação. Observe novamente a **Figura 17.4** e note que o par α -cetogluturato e glutamato está sempre presente; o que muda é o aminoácido a ser transformado e, conseqüentemente, o novo α -cetoácido formado.

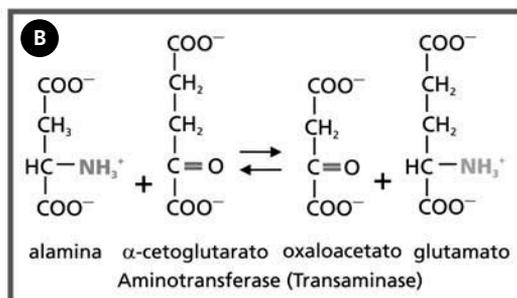
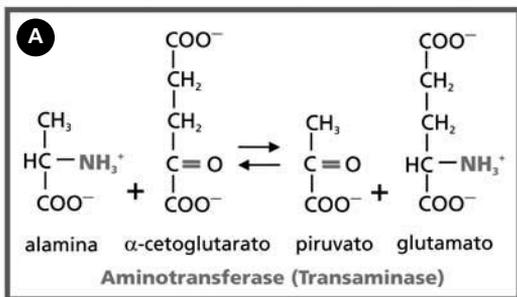


Figura 17.4: A) Reação catalisada pela alanina aminotransferase; B) Reação catalisada pela aspartato aminotransferase. Observe em A que a alanina doa seu grupamento amino sendo convertida no α -cetoácido, o piruvato; em B o aspartato doa seu grupamento amino sendo convertido no α -cetoácido, o oxaloacetato; em ambas as reações o α -cetogluturato recebe o grupamento amino, tornando-se o aminoácido glutamato.

Assim, por exemplo, no caso da alanina o produto formado é o piruvato; se o aminoácido for o ácido aspártico, na forma de aspartato, o produto gerado será o oxaloacetato.

As transaminases são enzimas que apresentam como co-fator o grupamento piridoxal fosfato, a forma funcional da vitamina B₆. O sítio ativo das transaminases contém piridoxal fosfato associado, por uma ligação covalente, ao grupo ε-amino do aminoácido lisina, denominado base de Schiff. É esse grupamento que se encarrega de transportar o grupamento NH₃ dos aminoácidos. A Figura 17.5 (letras “A” a “D”) apresenta o esquema de formação da base de Schiff e do mecanismo de reação catalisado por transaminases, o primeiro passo para o catabolismo da maioria dos aminoácidos.

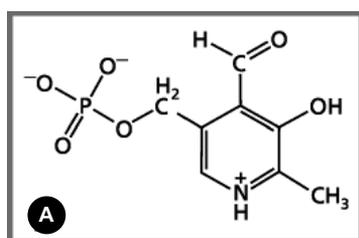


Figura 17.5: A) Estrutura do piridoxal fosfato – O grupo prostético das transaminases é o piridoxal fosfato (PLP), um derivado da vitamina B₆.

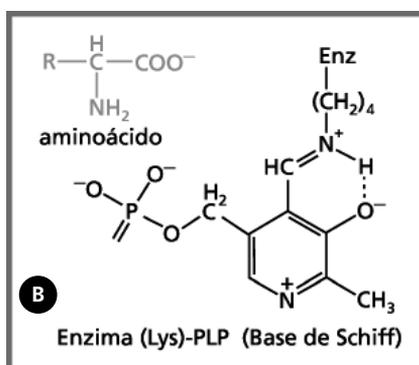


Figura 17.5: B) Enzima (Lys) – PLP – No estado de repouso, o grupamento aldeído do piridoxal fosfato está ligado ao grupamento ε-amino do resíduo de lisina da transaminase.

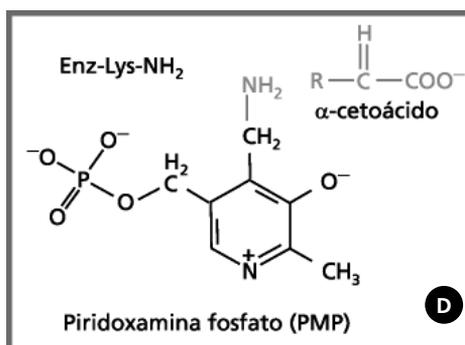
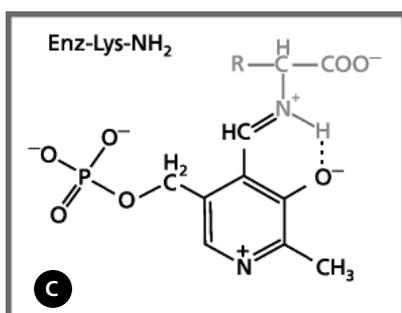


Figura 17. 5: Aminoácido – PLP na forma de uma base de Schiff – C) O α-amino grupo do substrato aminoácido desloca lisina da enzima, para formar uma base de Schiff com o PLP. D) Esse tipo de ligação promove a posterior hidrólise, liberando o α-cetoácido derivado do aminoácido, o piridoxal fosfato é convertido em uma piridoxaminafosfato.

FUNÇÃO DA ENZIMA L-GLUTAMATO DESIDROGENASE

Retirar do aminoácido glutamato o íon amônio (NH_3), proveniente de diversos aminoácidos, para que amônia tóxica seja utilizada na formação da uréia.

MECANISMOS POSTULADOS PARA A TOXICIDADE DA AMÔNIA

1 - Altas concentrações de amônia deslocam o equilíbrio da reação catalisada pela glutamina sintetase no sentido de formação de glutamina. Isso leva a um consumo aumentado do glutamato, um neurotransmissor e precursor para a síntese de um outro neurotransmissor, o ácido gama-amino butírico (GABA).
 2 - O consumo de glutamato e altas concentrações de amônia poderiam deslocar o equilíbrio da reação catalisada pela glutamato desidrogenase no sentido reverso, ou seja, no sentido de consumir α -cetoglutarato, um intermediário essencial para o ciclo de Krebs. Isso limita o metabolismo energético do cérebro.

Como vimos até aqui, o **glutamato** atua como o transportador da **amônia de muitos aminoácidos para o fígado**. Como os amino grupos do glutamato são removidos para serem excretados?

Nos hepatócitos, o **glutamato** é transportado do citosol para as mitocôndrias, onde **sofre uma desaminação oxidativa** (retirada do grupamento amônia com perda de hidrogênios), catalisada pela **ENZIMA L-GLUTAMATO DESIDROGENASE**. Em mamíferos, essa enzima pode utilizar tanto NAD^+ como NADP^+ como acceptor de equivalentes redutores. A reação catalisada pela L-glutamato desidrogenase é apresentada na **Figura 17.6**.

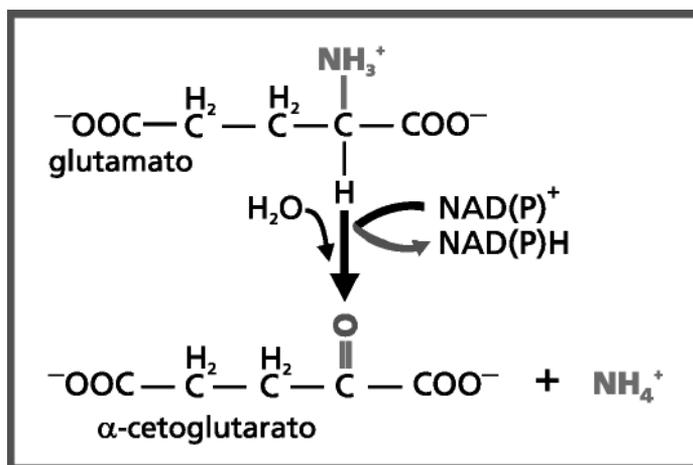


Figura 17.6: Reação catalisada pela glutamato desidrogenase. A glutamato desidrogenase remove os grupamentos N do pool de aminoácidos. Ela é uma das poucas enzimas que podem utilizar tanto NAD^+ como NADP^+ como acceptor de elétrons.

A amônia é muito tóxica para o tecido animal. Em muitos animais ela é convertida em componentes não-tóxicos antes de ser exportada dos tecidos extra-hepáticos para o sangue, para ser levada para os rins ou fígado. **Novamente o glutamato é crítico nessa etapa. Ele recebe mais um grupamento amino, sendo convertido em glutamina**, a qual exerce essa função de transporte. Observe que, nesse caso, houve a formação de uma amida. Vale ressaltar que a amônia, gerada em muitos tecidos, como o cérebro, por exemplo, pode ser produzida pelo metabolismo de outras moléculas, como os nucleotídeos. **A enzima que combina a amônia livre com o glutamato para formar a glutamina é a glutamina sintetase.** Essa reação requer ATP (já que é uma reação de síntese, onde ligações químicas são formadas) e ocorre em duas etapas. Veja a **Figura 17.7**.

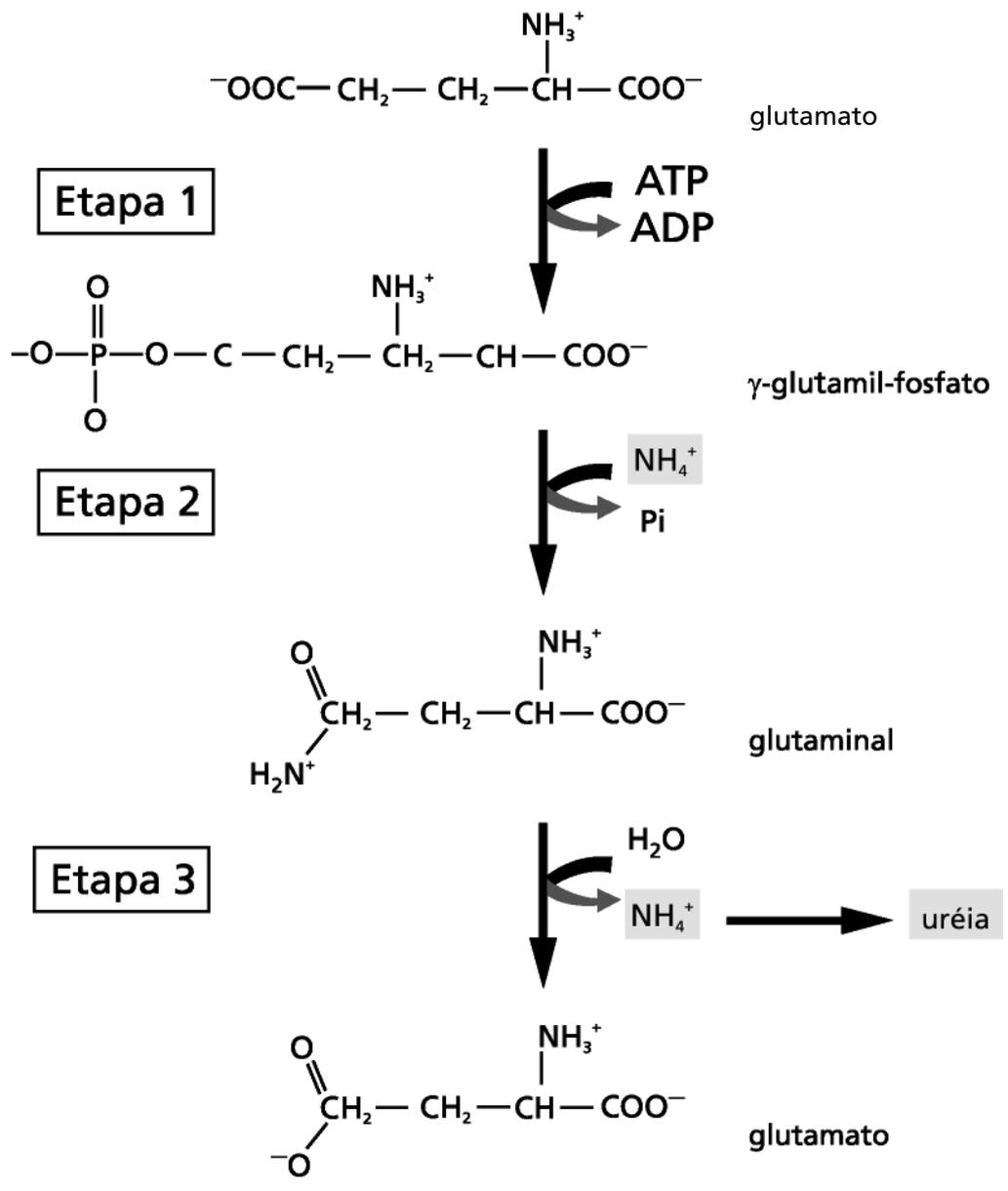


Figura 17.7: Reação catalisada pelas enzimas glutamina sintetase e glutaminase. As duas primeiras etapas são catalisadas pela enzima glutamina sintetase. Observe que há consumo de ATP na primeira. A terceira etapa é catalisada pela enzima glutaminase.

**FUNÇÃO DA
ENZIMA
GLUTAMINA
SINTETASE**

Introduzir um grupamento NH_3 no aminoácido glutamato para sintetizar o aminoácido glutamina. Esta reação ocorre para reduzir a concentração da amônia livre.

**FUNÇÃO DA
ENZIMA
GLUTAMINASE**

Retirar a amônia que estava sendo transportada pela glutamina. Essa reação ocorre para alimentar vias biossintéticas e para alimentar o ciclo da uréia.

A glutamina não só transporta a amônia para ser eliminada como também pode ser usada como fonte de amônia para reações biossintéticas. **O nitrogênio na forma de amida é liberado como amônia por uma enzima denominada glutaminase (Figura 17.7)**, que está presente somente no fígado e no rim. No fígado, essa enzima fornecerá o íon amônio (NH_4^+) para alimentar o ciclo da uréia. O íon amônio liberado nos rins pela ação da glutaminase não é transportado pelo sangue nem é convertido em uréia, ele é eliminado diretamente na urina.

Devemos ressaltar ainda a **importância** do aminoácido **alanina** no **transporte** de grupamentos NH_3 . O músculo, ao degradar uma de suas reservas energéticas, o glicogênio, produz glicose. Esta por sua vez é degradada a piruvato para produzir energia. Esse assunto foi abordado nas Aulas de 9 a 11. O piruvato é uma molécula que pode ser utilizada para regenerar glicose. Esse processo ocorre no fígado. Por outro lado, o músculo degrada também proteínas, gerando aminoácidos. **Uma solução econômica, para transportar tanto o piruvato quanto a amônia dos aminoácidos gerados nos músculos para o fígado, é sintetizar o aminoácido alanina a partir desses componentes.** Veja um resumo dessas informações no ciclo glicose-alanina, apresentado na **Figura 17.8**.

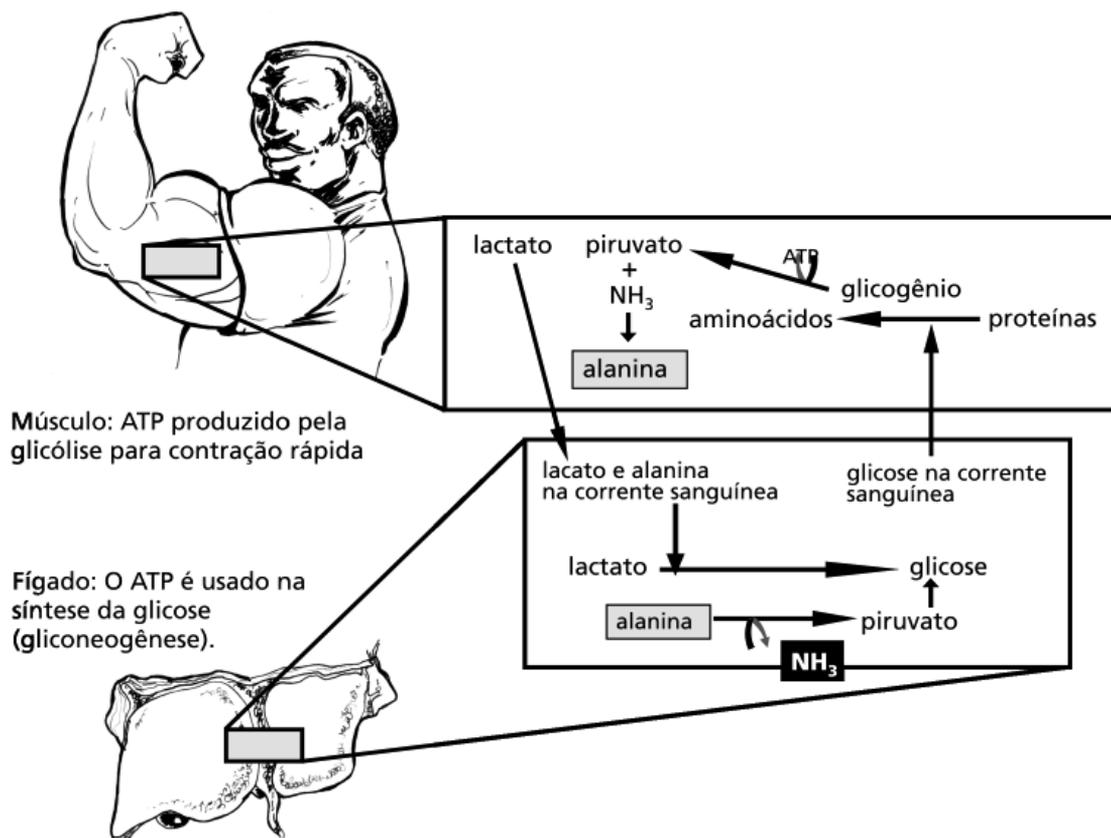


Figura 17.8: Ciclo glicose-alanina. A alanina atua como um carreador de amônia e de esqueletos de carbonos do piruvato dos músculos para o fígado. A amônia é excretada e o piruvato é reutilizado para formar glicose, a qual retorna ao músculo.

RESUMO

- A amônia é extremamente tóxica para o organismo e, portanto, deve ser eliminada.
- A amônia, apesar de solúvel em meio aquoso, por ser tóxica para o organismo, não pode ser transportada livremente pelo sangue.
- Para ter sua toxicidade reduzida, o grupamento NH_3 dos aminoácidos é transportado associado ao α -cetogluturato, formando o glutamato. Essa etapa é catalisada por enzimas denominadas transaminases.
- O excesso de íons amônio é associado ao íon glutamato, formando o aminoácido glutamina pela ação da enzima glutamino sintetase.

- Os grupamentos NH_3 provenientes do catabolismo dos aminoácidos das proteínas musculares podem ser transferidos para o piruvato, composto gerado pela degradação de glicose, formando o aminoácido alanina. A alanina é então transportada para o fígado e lá pode liberar o íon amônio, que será convertido em uréia e eliminado na urina, enquanto o esqueleto de carbonos poderá ser reutilizado para formar glicose.

EXERCÍCIOS

1. Faça uma distinção entre aminoácidos essenciais e aminoácidos não-essenciais. Indique os principais pontos de entrada desses aminoácidos no ciclo de Krebs.
2. O que são aminoácidos glicogênicos e cetogênicos? Dê exemplos.
3. Represente reações catalisadas por transaminases, glutamato desidrogenase, glutamina sintetase. Escreva sobre a importância de cada uma dessas enzimas.
4. Pesquise, em outras fontes, razões que expliquem a toxicidade dos íons amônia.
5. Pense no tipo de alimento e no ambiente em que vivem os peixes, aves e mamíferos e procure responder: por que esses animais eliminam a amônia de diversas maneiras, ou seja, peixes como amônia; aves como ácido úrico; mamíferos como uréia?

INFORMAÇÃO SOBRE A PRÓXIMA AULA

Na próxima aula, nós detalharemos o processo de desintoxicação da amônia que ocorre em mamíferos e em muitos outros animais vertebrados; nós estudaremos a formação da uréia que ocorre em um processo cíclico e, portanto, denominado "ciclo da uréia".

Ciclo da uréia

AULA

15

objetivo

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Entender as etapas de formação da uréia.

Pré-requisito

Conhecimentos adquiridos na Aula 17.

INTRODUÇÃO

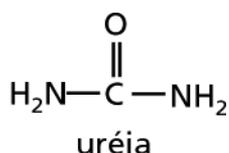


Figura 18.1: Estrutura da uréia.

Na Aula 17, você aprendeu que a amônia é um composto tóxico e que precisa ser eliminada pelo organismo. Vimos que em vários animais o produto de excreção é a uréia. Na aula anterior, foram apresentadas algumas reações para a canalização de íons amônio, de diversos aminoácidos, até o fígado, local onde o processo de desintoxicação ocorre. Falamos da importância das reações de transaminação, desaminação oxidativa e do transporte da amônia na forma de alanina e glutamina. Nesta aula, discutiremos sobre as reações de formação da uréia, o principal produto final do catabolismo do nitrogênio, no homem. Um indivíduo humano consome em torno de 300g de carboidratos, 100g de gordura e 100g de proteínas, diariamente; excreta cerca de 16,5g de nitrogênio, sendo 95% na urina e 5% nas fezes. A uréia pode constituir cerca de 90% do nitrogênio excretado. O ciclo da uréia e o ciclo dos ácidos tricarbóxicos (TCA) foram descobertos por Hans Krebs e colaboradores. De fato, o ciclo da uréia foi descrito antes do ciclo TCA. Em mamíferos, o ciclo da uréia é o mecanismo de escolha para a excreção de amônia. Veja a estrutura da uréia na **Figura 18.1**.

VISÃO GERAL DO PROCESSO DE SÍNTESE DA URÉIA

A síntese de 1 mol de uréia requer 4 moles de ATP. Os dois nitrogênios de uma molécula de uréia (**Figura 18.1**) são derivados de duas fontes: amônia livre e amino grupo do aspartato. Cinco enzimas catalisam o processo de formação da uréia. Seis aminoácidos são intermediários do ciclo. Alguns deles você já conhece: arginina e aspartato. Citrulina, ornitina e argino-succinato não são aminoácidos protéicos; existem somente como aminoácidos livres no organismo. N-acetil glutamato funciona somente como um ativador enzimático. Os outros funcionam como carreadores dos átomos que finalmente formam a uréia.

A amônia, primeira fonte de nitrogênio, entra no ciclo após a condensação com o bicarbonato para formar carbamoil-fosfato, o qual reage com a ornitina para formar citrulina. O aspartato, segundo doador de nitrogênio para formar uréia, reage com a citrulina para formar argino-succinato, o qual é clivado para formar arginina e fumarato. A arginina é hidrolisada para formar uréia e regenerar a ornitina. Como veremos, **a biossíntese da uréia é um processo cíclico, ou seja, um dos compostos (a ornitina) é consumido em uma reação e é regenerado em outra (reações 2 e 5, respectivamente, conforme apresentaremos mais adiante, nesta aula).**

Não há perda ou ganho efetivo de ornitina, de citrulina, argino-succinato e arginina. Todavia, íon amônio, CO_2 , aspartato e ATP são consumidos. Algumas reações da síntese da uréia ocorrem na mitocôndria, enquanto outras ocorrem no citosol. A uréia é então transportada para o rim e eliminada na urina.

REAÇÕES DO CICLO DA URÉIA

1ª reação: síntese do carbamoil-fosfato

A biossíntese da uréia começa com a condensação do dióxido de carbono, com a amônia, utilizando ATP para formar carbamoil-fosfato. Tal reação é catalisada pela carbamoil-fosfato sintase I (Figura 18.2).

A formação de carbamoil-fosfato requer dois moles de ATP. Um ATP ativa o bicarbonato e o outro doa o grupo fosfato para formar o carbamoil-fosfato. A carbamoil-fosfato sintase I ocorre na matriz mitocondrial, usa amônia como doador de nitrogênio e é absolutamente dependente de N-acetil glutamato para a sua atividade.

A ação conjugada da glutamato desidrogenase e da carbamoil-fosfato sintase I forma um intermediário com alto potencial de transferência de grupo, ou seja, um composto rico em energia.

A síntese do carbamoil-fosfato, aparentemente complexa, ocorre em etapas, como descrito a seguir. Na primeira etapa, ocorre a reação do bicarbonato com o ATP formando o **carbonil-fosfato** e ADP. Na segunda etapa, a amônia desloca o ADP, formando **carbamato** e **ortofosfato**. Finalmente, ocorre a fosforilação do carbamato pelo segundo ATP, formando o **carbamoil-fosfato**. A carbamoil-fosfato sintase I é a enzima do ciclo da uréia, **limitante da velocidade**, ou **marcapasso**. Essa enzima regulatória é ativa somente na presença do ativador alostérico N-acetil-glutamato, cuja ligação induz uma mudança conformacional, que aumenta a afinidade da enzima pelo ATP. Veja a Figura 18.2.

! Se você tiver dúvidas sobre composto rico em energia, releia as Aulas 1 e 2.

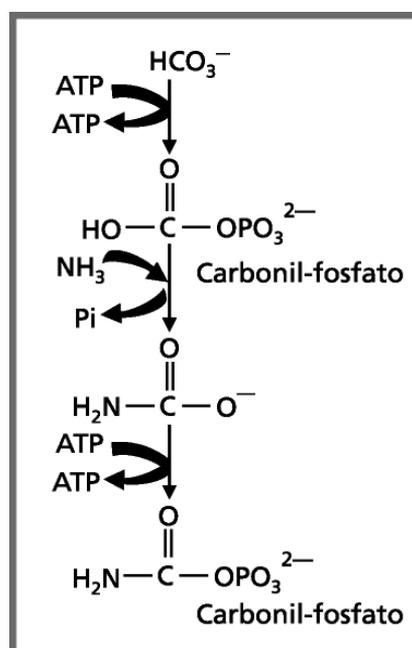


Figura 18.2: Reação catalisada pela carbamoil-fosfato sintase tipo I. A enzima catalisa a reação em três etapas.

2ª reação: carbamoil-fosfato mais ornitina formam a citrulina

A síntese da citrulina ocorre na mitocôndria e é catalisada pela L-ornitina transcarbamoilase. Esta enzima catalisa a transferência do grupo carbamoil-fosfato para a ornitina, e com isso forma a citrulina. Nesta reação, ocorre a liberação de fosfato inorgânico (Pi). Observe a etapa 2 da **Figura 18.3**. A citrulina é transportada da mitocôndria para o citosol, onde ocorrem as outras reações do ciclo. A citrulina, o composto utilizado nesta reação, foi formada na mitocôndria e de lá foi transportada para a mitocôndria. Tanto a entrada da ornitina para a mitocôndria quanto a saída da citrulina da mesma mitocôndria, portanto, envolvem sistemas de transporte pela membrana interna mitocondrial (**Figura 18.4**).

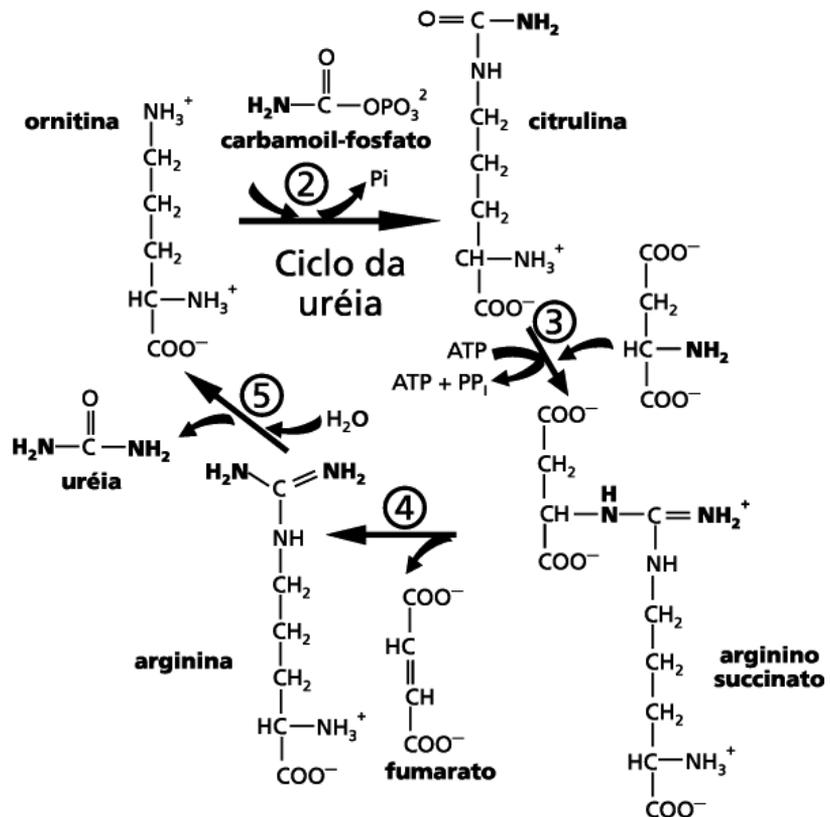


Figura 18.3: Ciclo da uréia.

A reação 1, catalisada pela carbamoil-fosfato sintase I, foi apresentada na figura anterior. As outras reações encontram-se enumeradas de 2 a 5; a reação 2 ocorre na mitocôndria e é catalisada pela ornitina transcarbamilase; as reações de 3 a 5 ocorrem no citosol e são catalisadas pelas enzimas do citosol: respectivamente arginino-succinato sintase; arginino succinase; arginase.

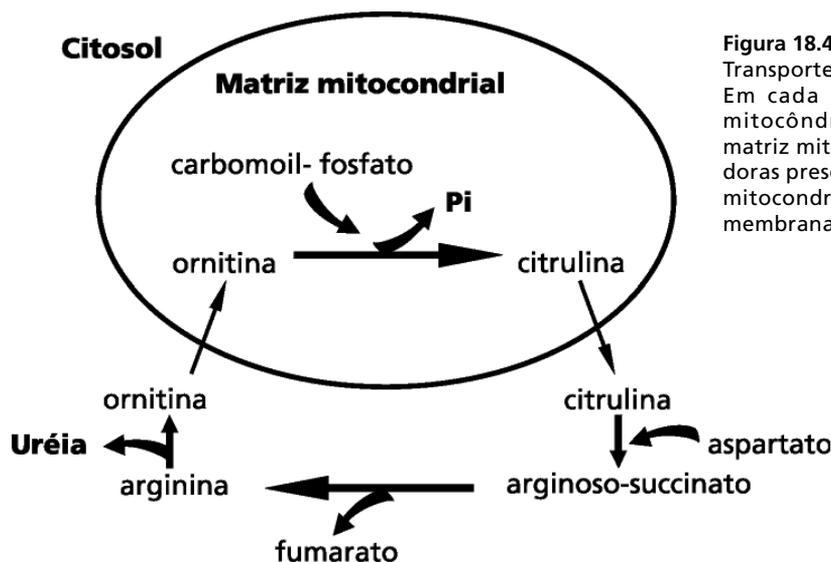


Figura 18.4:

Transporte de citrulina e de ornitina. Em cada ciclo, a citrulina deixa a mitocôndria e a ornitina entra na matriz mitocondrial. Proteínas carreadoras presentes na membrana interna mitocondrial facilitam o fluxo transmembrana de citrulina e de ornitina.

3ª reação: citrulina mais aspartato formam argino-succinato

A 3ª reação é catalisada pela argino-succinato sintase, que liga o aspartato à citrulina, via aminogruppo do aspartato (Figura 18.3), e fornece o segundo nitrogênio. Tal reação requer ATP e envolve a formação intermediária de citrulinil-AMP. O deslocamento subsequente do AMP pelo aspartato, então, forma o argino-succinato. Esta é uma reação de condensação, onde a argino-succinato sintase requer a hidrólise de um ATP, o qual é hidrolisado em adenosina monofosfato (AMP) mais pirofosfato inorgânico (Ppi).

4ª reação: a clivagem do argino-succinato forma arginina e fumarato

A clivagem do argino-succinato, catalisada pela argino-succinase, retém nitrogênio no produto arginina e libera o esqueleto aspartato como fumarato (Figura 18.3). A adição de água ao fumarato forma o L-malato, e a oxidação subsequente do malato, uma reação NAD⁺ dependente, forma o oxaloacetato. Essas duas reações, embora análogas às do ciclo de Krebs (Aula 14), são catalisadas pela fumarase e pela malato desidrogenase citosólicas. A transaminação do oxaloacetato pelo glutamato, então, forma novamente o aspartato. O esqueleto carbônico, tanto de aspartato como de fumarato, atua como um carreador no transporte de nitrogênio do glutamato para um precursor da uréia.

5ª reação: a clivagem da arginina libera uréia e regenera ornitina

A reação final do ciclo da uréia, a clivagem hidrolítica do grupo guanidino da arginina, catalisada pela arginase hepática, libera uréia. O outro produto, a ornitina, torna a penetrar na mitocôndria hepática, para participar das etapas adicionais do ciclo da uréia. Veja a etapa 5 da **Figura 18.3**. Quantidades menores de arginase também ocorrem no tecido renal, no cérebro, nas glândulas mamárias e na pele.

Regulação da síntese de uréia

A carbamoil-fosfato sintetase requer N-acetil glutamato como ativador alostérico. Este composto é sintetizado a partir do glutamato e do acetil-CoA, pela enzima N-acetil glutamato sintetase, a qual, por sua vez, é ativada por arginina. Acetil-CoA, glutamato e arginina são necessários para fornecer intermediários ou energia para o ciclo da uréia, e a presença de N-acetil-glutamato indica que todos eles estão disponíveis.

A indução das enzimas do ciclo da uréia ocorre (10 a 20 vezes) quando a liberação de amônia ou de aminoácidos para o fígado aumenta. A concentração dos intermediários também tem um papel importante nessa regulação. Um alto teor de proteínas na dieta (excesso de fornecimento de aminoácidos), bem como situações de jejum (aumento da degradação de proteínas endógenas) resultam na indução de enzimas do ciclo da uréia.

RESUMO

- A maioria dos animais terrestres converte o excesso de nitrogênio em uréia antes de excretá-lo.
- A uréia é menos tóxica do que a amônia.
- O ciclo da uréia ocorre principalmente no fígado.
- Os dois átomos de nitrogênio entram no ciclo da uréia como NH_3 , produzido principalmente pela glutamato desidrogenase e como N do aspartato.
- A amônia (NH_3) e o bicarbonato (HCO_3^-) que irão formar a uréia são incorporados inicialmente ao carbamoil-fosfato.
- O ciclo da uréia é composto por cinco reações.
- A biossíntese da uréia é um processo cíclico, ou seja, um dos compostos (a ornitina) é consumido no início do processo e é regenerado na última reação. Não há perda ou ganhos efetivos de ornitina, de citrulina, argino-succinato e arginina.
- O íon amônio, o CO_2 , o aspartato e ATPs são consumidos.
- Algumas reações da síntese da uréia ocorrem na mitocôndria, enquanto outras ocorrem no citosol.
- A uréia é formada no fígado, transportada para o rim e eliminada na urina.

EXERCÍCIOS

1. Que composto formado no ciclo da uréia pode ser utilizado no ciclo de Krebs?
2. Explique a razão pela qual são consumidas moléculas de ATP no processo de formação da uréia.
3. Pesquise algumas explicações para que os animais tenham escolhido diferentes compostos para eliminar o "nitrogênio tóxico": amônia em animais aquáticos; uréia em vertebrados e na maioria dos animais terrestres; ácido úrico em aves.
4. Faça um resumo das reações do ciclo da uréia.

Metabolismo de aminoácidos

AULA

16

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Conhecer alguns erros do metabolismo geral dos aminoácidos e suas conseqüências.
- Conhecer experiências que permitam demonstrar que a uréia é sintetizada no fígado, que os aminoácidos fornecem nitrogênio para a molécula de uréia, que a partir dos aminoácidos se forma a amônia e a partir da amônia é sintetizada a uréia.
- Analisar criticamente os resultados obtidos em experiências realizadas ao longo do século passado sobre o ciclo da uréia, relacionando-os.
- Explicar mudanças na atividade das transaminases no soro, relacionando-as com possíveis lesões celulares hepáticas, cardíacas e erros metabólicos.

INTRODUÇÃO



Figura 19.1: Você sabe o que é o teste do pezinho e o que ele tem a ver com o metabolismo de aminoácidos? Veja em: <http://www.yourgenesyourhealth.org/ygyh/mason/gyh.html.syndrome=pku>

Na última aula, vimos os principais caminhos pelos quais o esqueleto carbonado de aminoácidos pode ser obtido e como o nitrogênio é excretado em mamíferos. Agora, conheceremos alguns defeitos metabólicos relacionados ao ciclo da uréia e suas conseqüências. Ao final, apresentaremos uma série de temas para discussão. Estes temas são importantes, pois reproduzem vários experimentos científicos a partir dos quais você entenderá como o ciclo da uréia foi descoberto e por que o metabolismo de aminoácidos é tão importante. Como em aulas anteriores, o conteúdo das discussões não é essencial para se entender o ciclo da uréia ou os erros inatos do metabolismo. É apenas uma oportunidade de refletir e pensar sobre o universo científico, sua lógica e suas histórias.

ERROS INATOS DO METABOLISMO DE AMINOÁCIDOS E SUAS CONSEQÜÊNCIAS

Desordens do ciclo da uréia



Figura 19.2: Recém-nascidos são vítimas preferenciais das desordens do ciclo da uréia, que podem acarretar danos cerebrais ou mesmo levar à morte.

A ausência completa de qualquer uma das enzimas do ciclo da uréia resulta na morte do indivíduo pouco tempo após o seu nascimento. Entretanto, em indivíduos vivos, têm sido identificados quadros clínicos que resultam da deficiência dessas enzimas, quer seja por uma redução no nível de expressão, quer seja por uma alteração na atividade. Essas deficiências são chamadas **desordens do ciclo da uréia** ou simplesmente DCUs, erros inatos do metabolismo. Em geral esses erros são doenças raras, mas representam causa substancial de danos cerebrais e morte entre recém-nascidos e crianças. A estimativa exata da incidência de DCUs é desconhecida e, provavelmente, subestimada, pois ainda hoje existe grande dificuldade em diagnosticar tais desordens, e muitas crianças morrem antes de um diagnóstico definitivo.

Os sintomas aparecem nas primeiras 24 horas de vida. O recém-nascido mostra-se inicialmente irritado e, a seguir, aparecem vômitos e um aumento da letargia. Logo depois, observa-se hipotonia (tônus muscular deficiente) e angústia respiratória que podem levar ao coma. Em alguns casos, os sintomas podem aparecer tardiamente durante a infância ou mesmo durante a vida adulta.

Existem sete principais DCUs. Cada uma delas recebe uma denominação relacionada às iniciais da enzima deficiente. Assim:

- CPS- deficiência na carbamoil-fosfato sintetase.
- NAGS- deficiência na N-acetilglutamato sintetase.
- OTC- deficiência na ornitina transcarbamilase.
- AS- deficiência na ácido arginino-succínico sintetase (citrulinemia).
- AL/ASA- deficiência na arginino-succinato liase (arginino-succínico aciduria).
- AG- deficiência na arginase.
- AO- deficiência na ornitina aminotransferase.

As deficiências são, quase todas, conhecidas como hiperamoniemias, porque o diagnóstico detecta um alto nível de amônia no sangue. Isso não ocorre apenas no caso da deficiência de ornitina aminotransferase. Na página <http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/searchomim.html> você pode entrar com o nome da doença genética (em inglês) e ver sintomas, características metabólicas e diagnóstico laboratorial. Esse é um banco de dados do *National Center for Biotechnology Information*. Neste centro de informações, você pode acessar o *Online Mendelian Inheritance in Man da Johns Hopkins University*. Dê uma olhada quando puder.

Veja na Tabela 19.1, um resumo de algumas dessas desordens.

Tabela 19.1: Principais DCUs.

DCU	Enzima Deficiência	Sintomas/Comentários
Hiperamonemia do tipo I - CPS	Carbamoil-fosfato sintetase I	24h - 72h após o nascimento o recém-nascido torna-se letárgico, necessitando de estímulo para comer, apresentando vômito, aumento da letargia, hipotermia e hiperventilação; o recém-nascido irá morrer caso não ocorra o diagnóstico por medidas do nível de amônia sérica e intervenção apropriada: tratamento com arginina que ativa N-acetilglutamato sintetase.
Deficiência de N-acetilglutamato sintetase - NAGS	N-acetilglutamato sintetase	Hiperamonemia severa; hiperamonemia suave associada com coma profundo, acidose, diarreia recorrente, ataxia, hipoglicemia, hiperornitinemia. Tratamento inclui administração de carbamoil-glutamato para ativar a CPS.
Hiperamonemia do Tipo 2 - CPS	Ornitina transcarbamilase	A DCU mais comum é ligada ao cromossomo X. Níveis de amônia e aminoácidos elevados no soro; aumento do ácido orótico no soro devido ao carbamoil-fosfato mitocondrial ser liberado no citoplasma e incorporado em nucleotídeos do tipo pirimidina, o que leva a um excesso de produção de produtos catabólicos. Tratamento com dieta rica em carboidratos e pobre em proteínas; detoxificação de amônia com fenilacetato de sódio ou benzoato de sódio.
Citrulinemia clássica - AS	Arginino-succinato sintetase	Hiperamonemia episódica, vômito, letargia, ataxia, convulsão, coma eventual. Tratamento com administração de arginina para aumentar a excreção de citrulina e também com benzoato de sódio para detoxificação de amônia.
Arginino-succínico acidúria - AL/ASA	Arginino-succinato liase (arginino-succinase)	Sintomas episódicos similares à citrulinemia clássica; níveis de argino-succinato elevados no plasma e fluido espinhal cerebral. Tratamento com arginina e benzoato de sódio.
Hiperargininemia-AG	Arginase	DCU rara, quadriplegia progressiva e retardo mental; alto nível de amônia e arginina no fluido espinhal e no soro; altos níveis de arginina, lisina e ornitina na urina. Tratamento inclui dieta de aminoácidos essenciais, excluindo arginina e dieta pobre em proteínas.

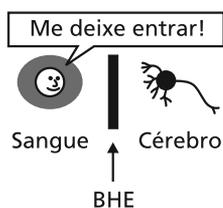


Figura 19.3: A barreira hematoencefálica (BHE).

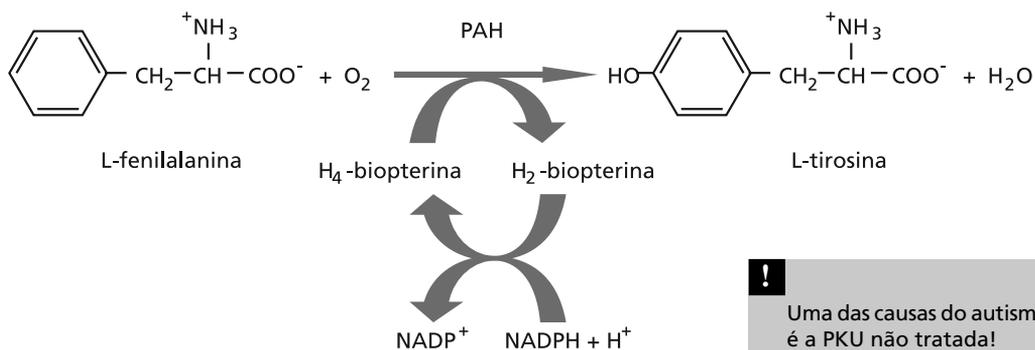
Neurotoxicidade associada à amônia

Os efeitos do aumento dos níveis de amônia circulante são vários. A alteração do pH do sangue é apenas um deles. Mas, o mais importante é que a amônia pode atravessar a **barreira hematoencefálica (BHE)**. No cérebro, ela pode ser convertida em glutamato, por ação da enzima glutamato desidrogenase. Entretanto, essa ação “depleta”, ou seja, faz com que o cérebro perca substâncias importantes como α -cetoglutamato, o substrato da enzima. Como consequência deste fato, há uma diminuição dos níveis de oxaloacetato e uma queda drástica na atividade do ciclo do ácido cítrico. Você pode imaginar o que isso significa para o cérebro?... A queda da atividade respiratória causa sérios e irreparáveis danos aos tecidos neurais, levando-os à morte. Além disso, o excesso de glutamato

posteriormente ativa a formação de glutamina. Isso resulta numa queda da concentração dos estoques de glutamato. O glutamato é, no tecido neural, um neurotransmissor e também um substrato para a síntese de outro neurotransmissor, o γ -aminobutirato.

Fenilcetonúria (PKU)

Além dos erros inatos ligados diretamente às enzimas do ciclo da uréia, algumas outras doenças genéticas são conseqüências de outras alterações no metabolismo de aminoácidos. A fenilcetonúria (PKU) é uma delas, que se caracteriza por uma incapacidade do corpo de utilizar o aminoácido essencial, fenilalanina. A PKU ocorre quando a criança herda dois genes mutantes para a enzima fenilalanina hidroxilase (PAH). Essa enzima, normalmente, converte moléculas de fenilalanina em tirosina. Tal reação usa O_2 como substrato e requer o co-fator tetra-hidrobiopterina (THB) como agente redutor. Fenilalanina é hidroxilada produzindo tirosina, enquanto o THB transfere átomos de hidrogênio para reduzir um segundo átomo de hidrogênio em água. No processo, o THB é oxidado a diidrobiopterina (DHB).



Sem esta enzima, a fenilalanina e os produtos de sua quebra por outra rota enzimática se acumulam no sangue e nos tecidos do corpo. Um aumento na concentração de fenilalanina no sangue leva à sua transaminação em fenilpiruvato ou descarboxilação a feniltilamina.

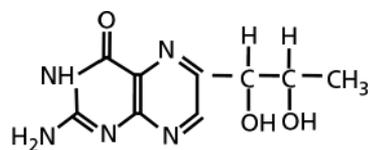


Figura 19.6: Estrutura da biopterina, co-fator da PAH.

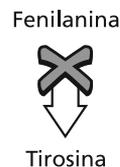


Figura 19.4: Fenilcetonúria é a incapacidade de converter fenilalanina em tirosina.

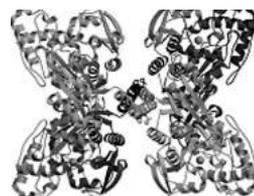
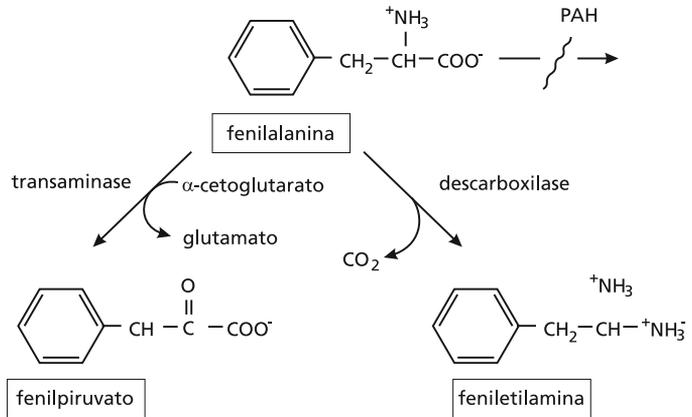


Figura 19.5: A estrutura da fenilalanina hidroxilase (PAH).

! Uma das causas do autismo é a PKU não tratada! Para saber mais sobre autismo, ver <http://www.autism-society.org>

Uma deficiência da fenilalanina hidroxilase causa acúmulo de fenilalanina, de ácido fenilpirúvico, de fenilacetato e outros derivados. Um excesso de fenilalanina bloqueia o seqüestro de outros aminoácidos no cérebro. O ácido fenilpirúvico inibe a piruvato descarboxilase no cérebro e interfere na formação de mielina.



A inabilidade de remover o excesso de fenilalanina do sangue, e o conseqüente acúmulo daqueles produtos durante a infância, produz uma variedade de problemas, incluindo o retardo mental. Felizmente, um teste simples (o teste do pezinho) feito logo após o nascimento pode identificar esse defeito genético e, com muita atenção à quantidade de fenilalanina em sua dieta, a criança pode desenvolver-se normalmente.

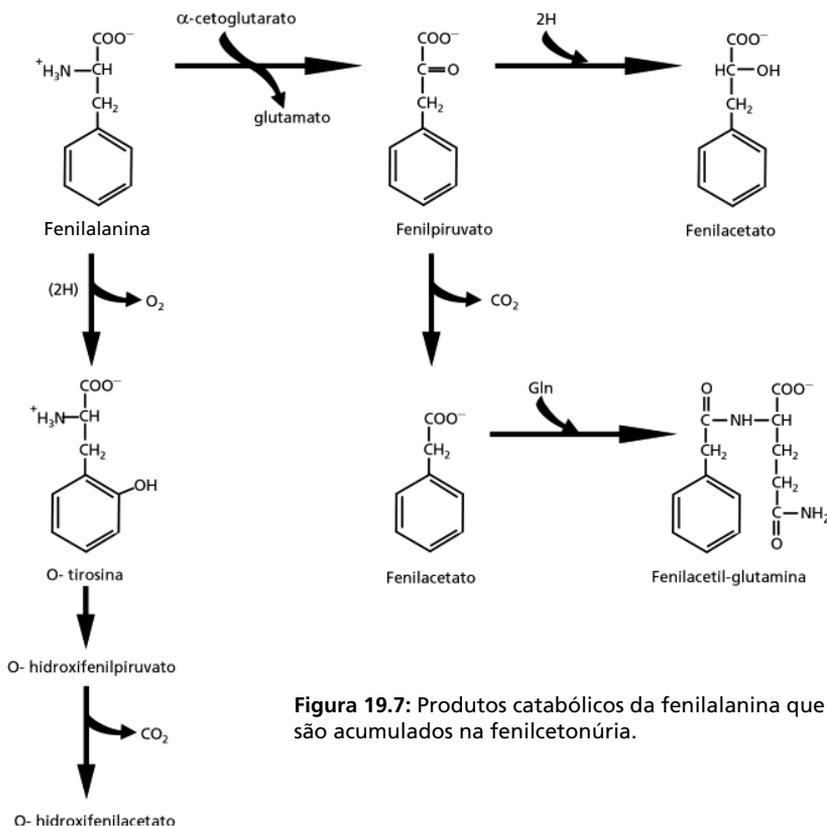


Figura 19.7: Produtos catabólicos da fenilalanina que são acumulados na fenilcetonúria.

Temas para reflexão e discussão e um pouco da história

A seguir apresentaremos alguns temas para você pensar em casa e discutir com seus colegas ou com seu tutor no pólo. Vários dos experimentos que serão apresentados são parte da história que nos levou ao conhecimento mostrado, nas aulas anteriores, sobre o metabolismo de aminoácidos. A idéia dessas discussões, como você já sabe, é desenvolver a lógica e o pensamento científico. Encare como um quebra-cabeça e então, divirta-se...

Tema 1. Suponha uma população de animais que requerem fenilalanina na dieta, mas não requerem tirosina para o seu crescimento normal. Antes do início da experiência, eles foram mantidos com uma dieta carente em tirosina e fenilalanina.

1.1. Desenhe as curvas que você esperaria encontrar, mostrando a evolução do peso médio da população de animais, nos seguintes casos:

- Administração de uma dieta de tirosina e uma semana após uma dieta de fenilalanina.
- Administração de uma dieta de fenilalanina e uma semana após, supressão dessa dieta e administração de uma dieta de tirosina.
- Administração dos dois aminoácidos juntos e supressão de ambos após uma semana.
- Administração dos dois aminoácidos juntos e supressão de fenilalanina após uma semana.
- Administração dos dois aminoácidos juntos e supressão de tirosina após uma semana.

1.2. Discuta os conceitos de aminoácidos essenciais e não-essenciais, lembrando as aulas de Bioquímica I e com base nas informações dadas no início da questão.

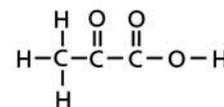
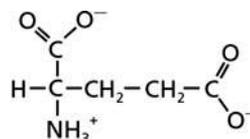
Pense sobre isso!



Figura 19.8: Cães foram e são até hoje utilizados para experimentos como este apresentado na questão.

Para lembrar Bioquímica I...

Sabendo-se que o ácido glutâmico é um aminoácido e o ácido pirúvico não, identifique quem é quem nas duas figuras abaixo.



Tema 2. Incubando-se homogeneizados de diferentes tecidos com os ácidos glutâmico e pirúvico, observa-se que:

- a) O ácido glutâmico desaparece em parte, e aparece o aminoácido alanina.
- b) O ácido pirúvico também desaparece em parte, e aparece o ácido α -cetoglutarato. A velocidade desta reação é aumentada após a adição de fosfato de piridoxal (vitamina B₆), que não é consumido durante a reação.

- 2.1. Monte o esquema de reação que os dados sugerem e analise o provável papel da vitamina B₆.
- 2.2. A constante de equilíbrio desta reação é próxima de 1. Qual seria a conseqüência deste fato?

Tema 3. A enzima L-glutamato desidrogenase apresenta um comportamento alostérico, existindo em duas formas (monomérica – menos ativa, e polimérica – mais ativa) e sendo regulada por ATP, GTP, ADP e GDP. Dois desses moduladores são ativadores e induzem a polimerização da enzima.

- 3.1. Diga quais e por quê.
- 3.2. Faça um gráfico de velocidade enzimática, em função da concentração de ácido glutâmico na presença e na ausência de ativador. Discutir o papel dessa enzima na economia metabólica.



Figura 19.9: Estrutura tridimensional da aspartato aminotransferase. http://cwx.prenhall.com/horton/medialib/media_portfolio/17.html

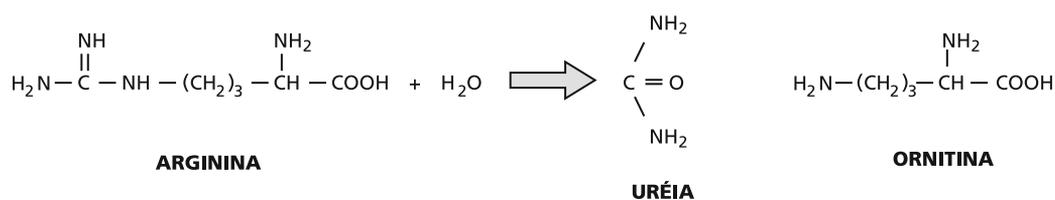
Tema 4. Qual o significado da elevação do nível de transaminases no soro? Faça um gráfico mostrando a evolução do nível de GTP no soro de um paciente com hepatite, que primeiro vai melhorando e após um mês sofre uma recaída. Discuta o papel das transaminases no metabolismo geral dos aminoácidos.

Tema 5. Quando o fígado de um cachorro é extirpado, ele pode viver alguns dias, desde que alimentado com uma dieta sem proteínas. No entanto, morre rapidamente se a carne é incorporada à dieta. Na hora da morte, ele apresenta elevadas concentrações de NH₄⁺ no sangue e na urina e, praticamente, nada de uréia nos mesmos líquidos biológicos. O que sugerem estes dados? Que experiências você proporia para testar sua hipótese?

Tema 6. Observe a seqüência de resultados abaixo:

a) Entre 1894-1897, **CHARLES RICHEL** verificou que o fígado que foi macerado e deixado para apodrecer formava uréia, cuja quantidade aumentava à medida que o tempo transcorria, com simultânea e notável liberação de arginina.

b) Em 1904, Kossel e Darkin mostraram a existência de um fermento obtido a partir de conteúdo intestinal, capaz de catalisar a reação a seguir:



c) Na mesma época, Antônio Clementi mostrou que esse fermento (enzima) estava presente no fígado de mamíferos (nos quais a uréia é a principal forma de excreção de nitrogênio) e ausente em pássaros e répteis (que eliminam nitrogênio sob forma de ácido úrico).

d) Em 1917, Wilhelm Löffler mostrou que a produção de uréia estava associada ao consumo de oxigênio no fígado.

e) Em 1931, Kase não teve êxito quando tentou produzir uréia numa preparação acelular de fígado.

6.1. Que conclusões você tiraria dessas experiências?

Na época, embora o papel e a relevância da arginase na formação de uréia fossem evidentes, não era quantitativamente possível acreditar que a grande formação de uréia no fígado se processasse somente através da hidrólise da arginina presente nas proteínas. Por outro lado, existiam dados que indicavam que outros aminoácidos eram a fonte de uréia e que esta podia ser sintetizada a partir de amônia.

6.2. Discuta esses dados e sugira uma hipótese.

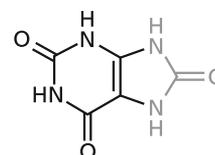
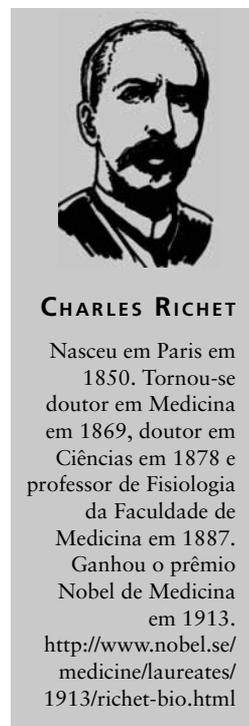


Figura 19.10: A estrutura do ácido úrico, principal forma de excreção de nitrogênio em pássaros e répteis.

ESTEQUIOMETRIA

A palavra estequiometria deriva do grego *stoicheon*, que significa “a medida dos elementos químicos”, ou seja, as quantidades envolvidas de cada substância em uma reação química. Veja a discussão da página <http://www.cdcc.sc.usp.br/quimica/experimentos/estequi.html>

Tema 7. Em 1932, Hans Krebs e Kurt Henseleit fizeram um conjunto de experiências memoráveis para testar essa hipótese. Eles incubaram fatias de fígado num aparelho de Warburg, na presença de lactato e de tampão bicarbonato a pH 7,4 e adicionaram quantidades conhecidas de diferentes aminoácidos. Observaram que a produção de uréia ocorria, como esperado, de acordo com o conteúdo de N da molécula dos diferentes aminoácidos. No caso da arginina, no entanto, a produção de uréia era superior àquela observada pela **ESTEQUIOMETRIA** da reação.

O que sugerem esses dados? Que experiência você faria? Pense bem antes de passar ao ponto seguinte.

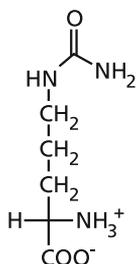
Tema 8. Numa outra experiência, o resultado foi mais surpreendente ainda. Incubando fatias de fígado na presença de lactato, e adicionando 12mg/ml de amônia, eles encontraram uma produção de uréia de 1,94mm³ de uréia-CO₂ por mg de tecido seco por hora (determinada manometricamente após hidrólise com urease que libera CO₂ e NH₃). Quando adicionaram ornitina (2mg/ml) a produção de uréia subiu para 9,32mm³.

8.1. Por que este resultado era inesperado? O que você postularia então?

8.2. Olhe agora para as moléculas de arginina e ornitina, cujas estruturas estão na atividade 6b. Como encaixar esses resultados com os já discutidos até agora?

8.3. Torne a olhar as moléculas de arginina e ornitina. O que você procuraria agora? Por quê?

Tema 9. Em 1930, Mitsuri Tada chegou à fórmula de um composto chamado citrulina, que já havia sido isolado do suco da melancia em 1924.



- 9.1. O que, nesta estrutura, chama a atenção?
- 9.2. O que você faria com esta informação, ou seja, com aquilo que lhe chamou a atenção?
- 9.3. Proponha uma experiência predizendo seu resultado.
- 9.4. Compare agora as fórmulas da citrulina e da arginina e tire uma nova conclusão.
- 9.5. Descreva o processo de formação de uréia no fígado, empregando apenas os conhecimentos obtidos até aqui.

Tema 10. Continuando a história... Em 1954, Sarah Rathner mostrou que, na conversão de citrulina em arginina, o nitrogênio adicionado não era proveniente diretamente do NH_4 , mas de uma transferência catalisada enzimaticamente. O grupo amino do ácido aspártico era exclusivamente responsável por um dos nitrogênios da molécula, numa reação que requeria ATP. Nesta reação, forma-se um composto intermediário não fosforilado, AMP e pirofosfato (PPi), que é rapidamente hidrolisado por uma pirofosfatase.

Em 1955, Mary Ellen Jones, Leonard Spector e **FRITZ LIPMANN** mostraram que a ornitina não reagia diretamente com NH_3 e CO_2 para dar citrulina, mas com o carbamil-fosfato, um intermediário fosforilado formado a partir de NH_3 , CO_2 e ATP.

Utilize o conhecimento adquirido até agora, para descrever todo o processo.



**FRITZ ALBERT
LIPMANN**

Nasceu na Alemanha em 1899. Cientista e médico ganhador do prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina de 1953.

<http://www.nobel.se/medicine/laureates/1953/lipmann-bio.html>

RESUMO

Você viu nesta aula alguns dos erros inatos do metabolismo de aminoácidos que levam a doenças que, em muitos casos, acarretam a morte de recém-nascidos, crianças e adultos. A maior parte dos danos provocados por estas desordens do ciclo da uréia é consequência da toxicidade dos altos níveis de amônia (hiperamonemias), principalmente no cérebro. Nesta aula, pudemos também discutir aspectos experimentais do ciclo da uréia, mostrando os principais pontos da história da elucidação desta via metabólica.

Nesta aula não apresentaremos exercícios: você já usou neurônios suficientes por ora.

Degradação de lipídeos

AULAS

17

objetivo

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Conhecer os mecanismos e as reações envolvidas na degradação dos ácidos graxos, em especial do palmitato.

INTRODUÇÃO

Vimos em Bioquímica I como é extenso o grupo dos lipídeos. Existem vitaminas de natureza lipídica, como as vitaminas A, D; existem o colesterol e outros fosfolipídeos que formam as membranas das células; existe a testosterona, as ceras, os sais biliares, enfim, uma enorme variedade de lipídeos.

Nesta aula, vamos conhecer como os lipídeos são degradados quando nosso organismo precisa de **energia**. Entretanto, ao contrário do que era de se esperar, não são todos os lipídeos que são metabolizados com o intuito de fornecer energia para o nosso organismo, mas sim um grupo particular de lipídeos denominado **ácidos graxos**. Os ácidos graxos (AG) ficam acumulados no tecido adiposo. Lá estão aquelas gordurinhas ou “pneuzinhos” que tanto incomodam a gente! Quando fazemos regime e, portanto, comemos menos calorias do que precisamos, nosso organismo vai buscar energia nas suas reservas, isto é, nas gorduras do tecido adiposo. Estas gorduras são “quebradas” e utilizadas como fonte de energia. Nesse caso, a gente até emagrece!

Funciona igualzinho a uma caderneta de poupança. Quando nosso salário é menor do que nossas contas a pagar, precisamos usar nossas reservas de dinheiro para saldar nossas dívidas. O organismo faz o mesmo: se comemos menos do que o necessário para nos mantermos funcionando, não tenha dúvida! Utilizamos nossas reservas de energia e é aí que entram os lipídeos, mais especificamente os ácidos graxos!

Agora vamos mergulhar nas nossas células e ver como a coisa acontece!

OS ÁCIDOS GRAXOS SÃO ESTOCADOS NOS ADIPÓCITOS

O tecido adiposo é formado por células que se chamam adipócitos. Estas células são curiosas, ao microscópio eletrônico, pois possuem uma enorme vesícula cheia de gordura dentro do seu citoplasma. Veja a figura abaixo:

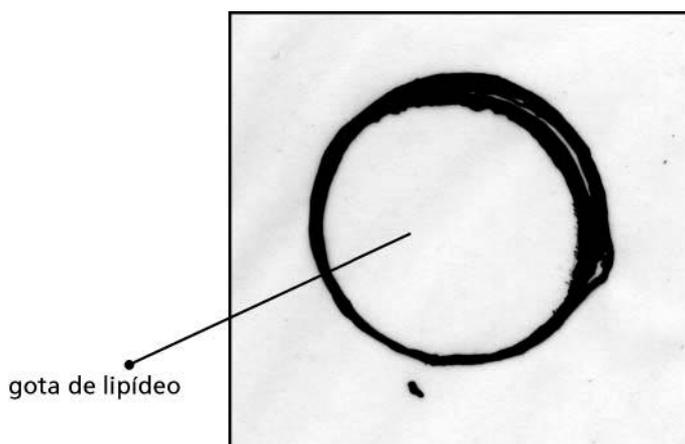


Figura 20.1: Adipócito.

Nestas gotas fica armazenado o **triacil glicerol (TAG)**. Você já estudou esta molécula em Bioquímica I, na Aula 27. Se estiver esquecido, dê uma olhada rápida nessa aula.

O TAG nada mais é do que três moléculas de ácido graxo unidas a uma molécula de glicerol. O próprio nome já diz isso para a gente: triacil glicerol! Veja na figura abaixo o TAG.

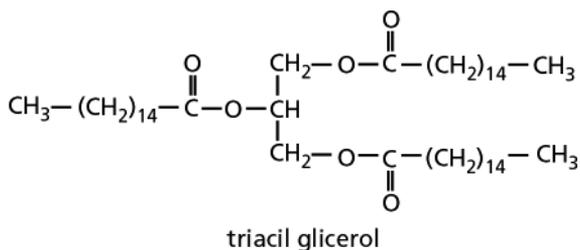


Figura 20.2: Triacil glicerol.

Quando precisamos de energia, nosso organismo libera um hormônio chamado **glucagon**. Este hormônio age como uma espécie de maestro sinalizando para o organismo que é a hora de utilizar suas reservas. Nesta situação, o glicogênio e os lipídeos devem passar a ser utilizados como combustível. Poderíamos dizer, então, que o glucagon é o hormônio da fome, isto é, ele é liberado quando nosso organismo está com fome. Mas não se preocupe com isto agora, pois, mais à frente, você estudará melhor este hormônio e o que ele faz no nosso organismo quando é liberado pelo pâncreas e cai na corrente sanguínea. No momento, precisamos saber que esse hormônio é liberado tão logo a glicemia (taxa de açúcar no sangue) cai.

O glucagon circulante no sangue, então, se liga a um receptor (proteína) presente na membrana do adipócito e dispara uma série de reações que levam à **ativação** de uma enzima chamada **lipase**, que está dentro do adipócito. Também veremos em aulas mais à frente que reações são essas disparadas pelo glucagon. Aguarde!

Mas o que então acontece quando esta lipase é ativada pelo glucagon? A lipase é uma enzima que degrada os TAG. Em outras palavras, poderíamos dizer que a lipase é uma espécie de tesoura que corta o TAG em pedaços. Veja:



Conforme vimos na aula de lipídeos em Bioquímica I (Aula 26), os AG também são um grupo muito grande de moléculas, podendo ter 4, 5, 6, 7, 8,... 22, 23, 24... átomos de carbono. Além disto, eles podem possuir apenas ligações simples (AG saturados) ou podem possuir dupla ligação (AG insaturados). No caso da espécie humana, o AG majoritário estocado como reserva é o **palmitato**. **O palmitato é um AG que possui 16 átomos de carbono e nenhuma dupla ligação**. Passaremos a utilizar o palmitato como exemplo a partir daqui, pois é ele que é degradado na espécie humana quando precisamos de energia.

Veja a Figura 20.3, que resume o até então descrito:

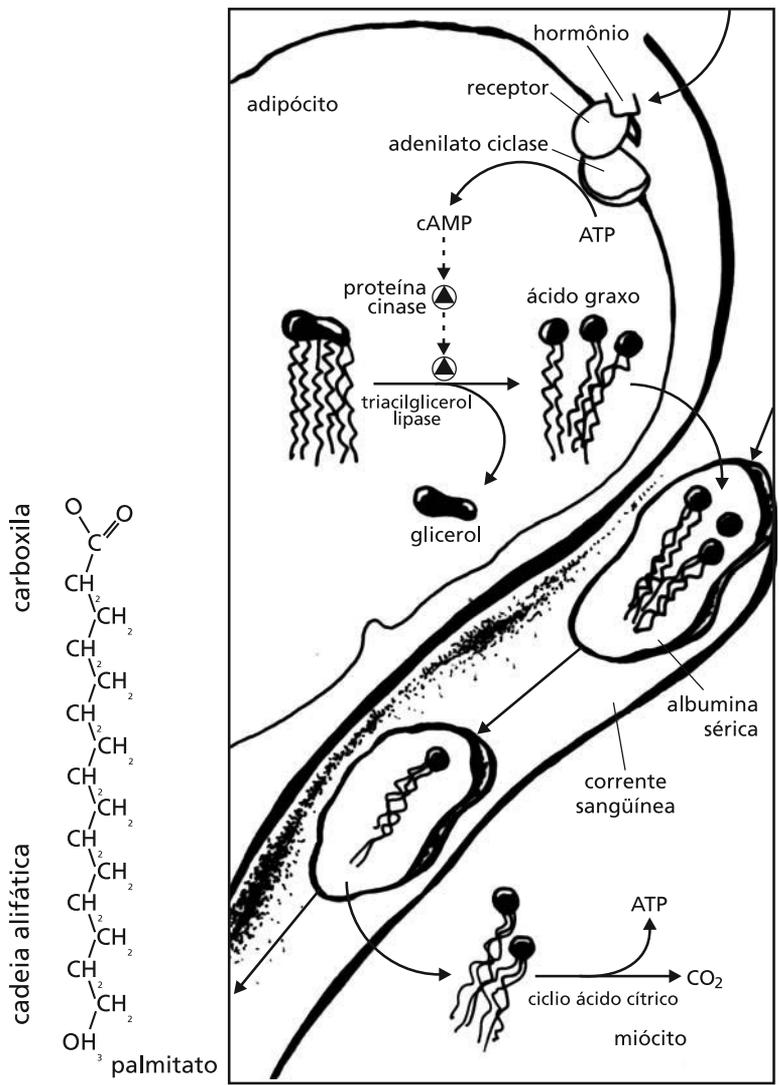


Figura 20.3: O glucagon se liga a um receptor de membrana e ativa a lipase. Veja a molécula do palmitato.

Agora, o palmitato livre sai dos adipócitos e cai na corrente sanguínea. Como os AG de um modo geral são insolúveis em solução aquosa (e o sangue é uma solução aquosa), eles não podem “viajar” livremente pela corrente sanguínea. Existe uma proteína chamada albumina que possui uma espécie de bolso que aloja o palmitato, de modo que eles se escondem da água e viajam tranqüilamente pelo sangue. Poderíamos dizer que a albumina funciona como uma espécie de ônibus para o palmitato.

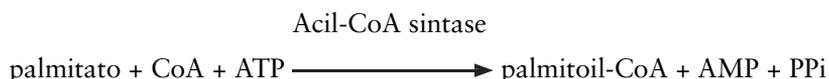
O palmitato é, então, distribuído por todos os tecidos do corpo.

Vamos agora tomar como exemplos o fígado e o músculo para estudar o destino do palmitato que lá chega.

Os AG chegam aos hepatócitos e aos miócitos

Depois de passar pela membrana dos hepatócitos (célula hepática) e dos miócitos (célula muscular), o palmitato é levado para a mitocôndria, que é o local da célula onde ele será degradado. Nas mitocôndrias, estão as enzimas responsáveis pelo processo de quebra ou degradação dos AG.

Entretanto, a entrada do palmitato para dentro das mitocôndrias ocorre de maneira curiosa. Vejamos: ainda fora da mitocôndria, o palmitato sofre ativação recebendo uma molécula de coenzima A. Quem “pendura” esta molécula de coenzima A (CoA) no palmitato é uma proteína chamada **acil-CoA sintase**. Entretanto, esta reação ocorre com o consumo simultâneo de uma molécula de ATP, ou seja, pendurar a coenzima A no palmitato não é de graça, não! A célula precisa pagar um preço para isso e, nesse caso, utiliza um ATP. O palmitato com a coenzima A pendurada passa a se chamar **palmitoil-CoA**. Veja como é a reação:



Observe que o ATP é quebrado em AMP e PPi (pirofosfato), o que indica que duas ligações de alta energia são consumidas para pendurar a CoA no palmitato. (O ATP tem três ligações de alta energia. Se uma for utilizada, forma-se ADP + Pi. Se duas forem utilizadas, forma-se AMP + PPi).

Embora o palmitato já esteja ativado, ou seja, na forma de palmitoil-CoA, ele ainda necessita passar por outras reações antes de entrar, de fato, na matriz mitocondrial.

Existe uma outra enzima que fica próxima à membrana interna da mitocôndria que se chama **carnitina-acil transferase I (CAT I)**. Essa enzima reconhece o palmitoil-CoA e troca a CoA, que está pendurada no palmitoil, por **carnitina**. Forma-se, então, **palmitato-carnitina** e a CoA é liberada no citoplasma da célula, podendo ser usada outra vez pela acil-CoA sintase. Veja.



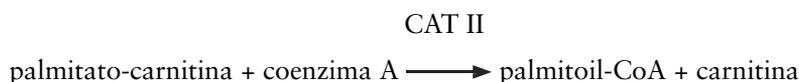
Agora, temos o palmitato ligado à carnitina. A carnitina é uma pequena molécula conforme mostrado ao lado. Este complexo (palmitatocarnitina) é reconhecido por um **translocador**, que está presente na membrana interna da mitocôndria.

Esse translocador, como o próprio nome diz, transloca o palmitato-carnitina para dentro da mitocôndria, colocando, ao mesmo tempo, carnitina livre para fora da mitocôndria.

Ufa!!! Após esta seqüência de reações, o palmitato-carnitina finalmente chega dentro da mitocôndria. Vale a pena lembrar que isto ocorre porque a mitocôndria possui duas membranas e, portanto, o palmitato precisa cruzar essas duas membranas antes de chegar à matriz mitocondrial e se encontrar com as enzimas responsáveis pela sua degradação.

Dentro da mitocôndria, o palmitato-carnitina que chega precisa ser reconvertido em palmitoil-CoA de novo e, para isso, precisa perder a carnitina e ganhar novamente uma coenzima A (CoA).

Dentro da mitocôndria existe uma enzima chamada **carnitina acil transferase II (CAT II)** que faz essa reação. Veja:



Veja a figura abaixo que traduz o até então descrito.

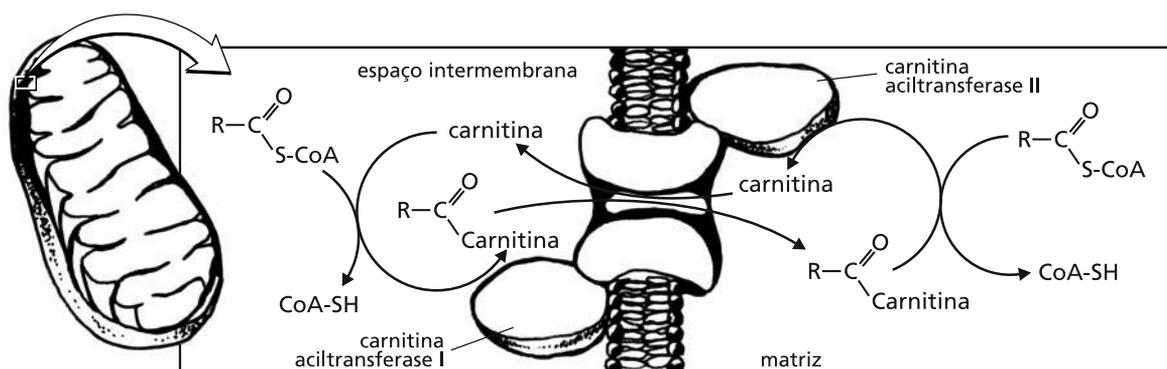


Figura 20.4: Entrada do palmitato para dentro da mitocôndria.

Para tentar compreender melhor a entrada do palmitato na mitocôndria, poderíamos imaginar que, para fazer isso, a molécula precise “comprar um passaporte”, da mesma forma que nós precisamos desse documento para viajar para o exterior. Assim, primeiro o palmitato é ativado, e para isso a célula gasta energia na forma de ATP. Em seguida, o palmitato recebe o “passaporte”, ou seja, a carnitina, que permite sua entrada na mitocôndria, já que a Polícia Federal (no caso o translocador) só permite que moléculas entrem na mitocôndria se possuírem passaporte.

Obviamente, a pergunta que não quer calar é: por que o palmitato não entra na mitocôndria ligado à CoA, já que lá dentro ele vai se ligar novamente a essa coenzima? Se olharmos a molécula de coenzima A, veremos como ela é enorme! Seu tamanho faz com que ela não atravesse as membranas biológicas. Logo, o palmitoil-CoA que se forma fora da mitocôndria não poderia jamais entrar nessa organela devido ao tamanho da coenzima A. Além disso, veremos, com o passar das aulas, a importância da coenzima A nas reações metabólicas da célula. Existe uma população de coenzima A no citoplasma e outra dentro da mitocôndria. A célula não mistura essas duas populações para não prejudicar as reações que lá ocorrem. Se o palmitoil-CoA entrasse na mitocôndria na forma de palmitoil-CoA, levaria consigo a CoA do citoplasma para dentro da mitocôndria, misturando as populações de CoA. Sendo assim, a CoA é pendurada na molécula do palmitato apenas para que a CAT I possa trocá-la por carnitina, despejando de volta a CoA do citoplasma no citoplasma.

Agora temos palmitoil-CoA dentro da mitocôndria pronto para seguir seu destino. Vejamos.

O destino do palmitoil-CoA dentro da mitocôndria: a β-oxidação

Uma vez na matriz mitocondrial, o palmitoil-CoA passará por uma seqüência de quatro reações, conhecida como β-oxidação, conforme Figura 20.5:

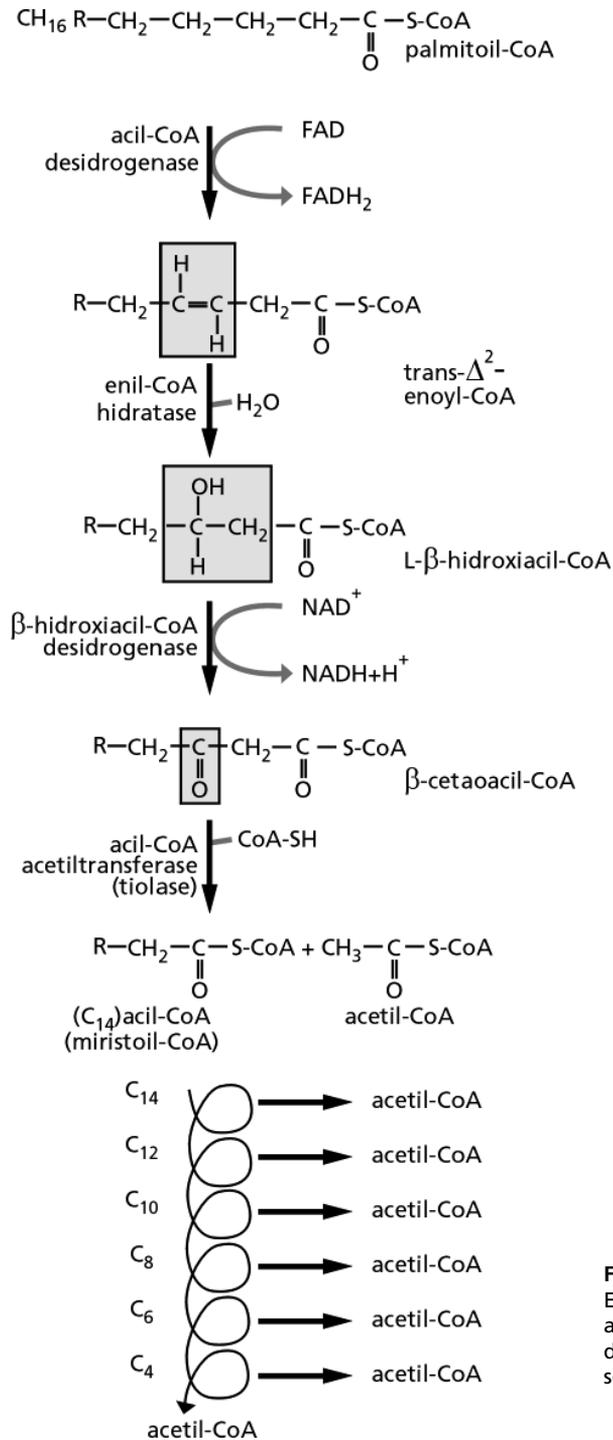


Figura 20.5: A β-oxidação. Em cada reação, preste atenção na caixa em torno do pedaço da molécula que sofre transformação.

Na primeira reação, uma enzima chamada **acil-CoA desidrogenase** retira dois H da molécula do palmitoil-CoA e os entrega para o **FAD** (flavina adenina dinucleotídeo), formando **FADH₂**. Dizemos que a molécula que perde os H sofre oxidação, ao passo que a molécula que recebe esses H sofre **redução**. Assim, o palmitoil-CoA se oxida enquanto o FAD se reduz. Como produto desta primeira reação, forma-se o **trans- Δ^2 -enoil-CoA**. Este Δ indica que se forma uma dupla ligação entre os carbonos 2 e 3 da molécula do palmitoil-CoA.

Na segunda reação, a enzima **enoil-CoA hidratase**, conforme seu próprio nome sugere, hidrata o enoil-CoA formando o **L-3-hidroxiacil-CoA**. Observe que nesta hidratação, a molécula de água é inserida de modo que a hidroxila (OH) fica pendurada no carbono 3 e o H no carbono 2. Assim, a dupla ligação se desfaz. Veja com atenção a **Figura 21.5**.

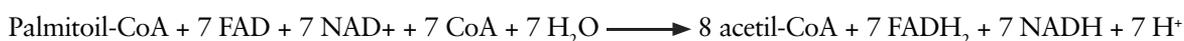
Na terceira reação da β -oxidação, a enzima **L-3-hidroxiacil-CoA desidrogenase** oxida mais uma vez a molécula, mas, neste caso, utiliza **NAD⁺**, que, ao receber os H da molécula do hidroxiacil-CoA, passa a **NADH + H⁺**. Observe que se forma uma nova dupla ligação na molécula, agora entre o carbono 3 e o oxigênio. Este composto se chama **3-cetoacil-CoA**.

Até agora, após estas três reações, o palmitoil-CoA continua com seus 16 carbonos, não tendo sofrido nenhuma quebra em sua molécula. É justamente na quarta e última reação da β -oxidação que se dá a quebra da molécula propriamente dita. Esta reação é catalisada pela **β -ceto tiolase** ou **tiolase**. Como produtos desta reação temos o **miristoil-CoA** (ácido graxo com 14 átomos de carbono) e o **acetil-CoA**, que tem dois átomos de carbono. Observe que a tiolase, ao introduzir uma nova **coenzima A** na molécula, é capaz de quebrar a molécula do 3-cetoacil CoA, que tem 16 átomos de carbono. Esta enzima recebe esse nome porque ela é capaz de fazer uma lise (quebra) através da inserção de um grupamento tiol (no caso, a CoA). Lembre-se que uma hidrolase é, por analogia, uma enzima capaz de fazer uma lise pela entrada de uma molécula de água, assim como uma fosforilase é uma enzima capaz de fazer uma lise pela entrada de um grupamento fosforil.

Poderíamos resumir as quatro reações da β -oxidação da seguinte maneira:

- 1^o – oxidação mediada pelo FAD
- 2^o – hidratação
- 3^o – oxidação mediada pelo NAD⁺
- 4^o – tiólise

E agora? O que fazemos com o novo ácido graxo formado, que tem 14 átomos de carbono (miristoil-CoA)? Ele passa por uma nova seqüência de quatro reações, idênticas às que acabamos de descrever, e, no final, forma-se uma nova molécula de acetil-CoA (que possui dois carbonos) e um ácido graxo com 12 átomos de carbono. E agora? A mesma coisa! Esse ácido graxo com 12 carbonos passa por uma nova rodada de β -oxidação, gerando uma nova acetil-CoA e um outro ácido graxo com 10 carbonos e assim sucessivamente até que todo o palmitoil-CoA vire uma “sopa” de acetil-CoA. Uma vez que o palmitoil-CoA apresenta 16 carbonos, podemos dizer que a sua completa oxidação através da β -oxidação gera 8 moléculas de acetil-CoA ($8 \times 2 = 16$); 7 moléculas de FADH₂ e 7 moléculas de NADH + H⁺. Em suma temos:



DESTINOS DOS PRODUTOS DA β -OXIDAÇÃO

Podemos dizer que os produtos da β -oxidação são todos os compostos que estão escritos no lado direito da equação acima. Vejamos agora o destino de cada uma dessas moléculas:

- Acetil-CoA: conforme você já viu na aula sobre metabolismo de açúcares, o acetil-CoA é uma molécula central no metabolismo celular. O acetil-CoA é a porta de entrada do ciclo de Krebs, juntando-se ao oxalacetato (que tem 4 carbonos) para formar o citrato (que tem 6 carbonos). Esta é a primeira reação deste ciclo. Desta forma, o acetil-CoA formado a partir da β -oxidação pode entrar no ciclo de Krebs, mas para que isto ocorra é necessário que haja oxalacetato disponível. Esta informação é muito importante, conforme veremos a seguir.

Vamos agora investigar o que acontece com o acetil-CoA que se forma no músculo e no fígado a partir da β -oxidação. Lembre-se que estes tecidos são capazes de degradar ácidos graxos no jejum ou em intenso exercício, quando a demanda de energia é muito grande, como no caso do músculo.

Nesse caso, todo o acetil-CoA formado a partir do palmitoil-CoA é jogado no ciclo de Krebs, uma vez que a concentração de oxalacetato lá presente permite que isto ocorra. A entrada do acetil-CoA no ciclo de Krebs vai gerar $\text{NADH}^+ + \text{H}^+$ e FADH_2 , que vão para a cadeia de transporte de elétrons transferir seus elétrons gerando ATP, conforme já vimos em aulas anteriores.

No fígado, acontece uma situação muito particular, já que este órgão, no momento de jejum, utiliza o oxalacetato para produzir glicose, conforme veremos na aula sobre gliconeogênese mais à frente. Desta forma, o acetil-CoA que vem da oxidação do palmitato no fígado não pode ser jogado no ciclo de Krebs, já que, conforme vimos, para que isso ocorra é necessário que haja oxalacetato disponível. O que fazer, então, com este acetil-CoA formado? O acetil-CoA é transformado em **corpos cetônicos**, conforme veremos logo a seguir.

- FADH_2 e NADH : antes de vermos como se formam os corpos cetônicos no fígado, vamos analisar o destino dos 7 FADH_2 e 7 NADH formados durante a β -oxidação. Você teria alguma sugestão para esta questão? Ou seja, qual será o destino destas duas coenzimas, o FADH_2 e o NADH ? A resposta é simples. Essas coenzimas, na forma reduzida, são direcionadas para a cadeia de transporte de elétrons, onde entregarão seus elétrons para formar ATP, ou seja energia para a célula.

FORMAÇÃO DOS CORPOS CETÔNICOS

Uma vez que no fígado a concentração de oxalacetato é muito baixa, já que esta molécula é utilizada na produção de glicose, o acetil-CoA vindo da β -oxidação tem outro destino: a **formação de corpos cetônicos**.

Corpos cetônicos (CC) são compostos solúveis em água e consistem basicamente de acetoacetato e β -hidroxibutirato. Veja essas duas moléculas na figura abaixo.

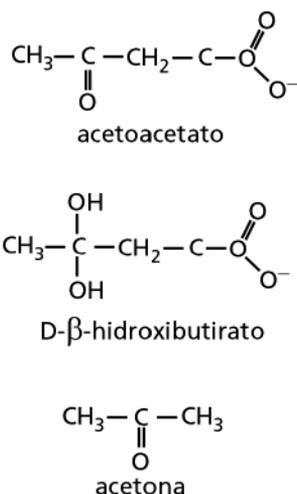


Figura 20.6: Acetoacetato e β -hidroxibutirato.

A formação dos CC também ocorre dentro da mitocôndria e se dá da seguinte forma.

Primeiro, duas moléculas de **acetil-CoA** se condensam (juntam) e formam **acetoacil-CoA** (contém 4 carbonos). A enzima que catalisa esta reação é a **β -cetotiolase**. O acetoacil-CoA se condensa com uma nova molécula de acetil-CoA, formando **β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA** (HMG-CoA) através da enzima **HMG-CoA sintase**. Este composto sofre clivagem pela enzima **HMG-CoA liase** formando acetil-CoA e **acetoacetato**. O acetoacetato sofre redução gerando **β -hidroxibutirato** através da enzima **β -hidroxibutirato desidrogenase**. Parte do acetoacetato sofre descarboxilação espontânea, gerando **acetona**. A Figura 20.7 resume o que foi descrito.

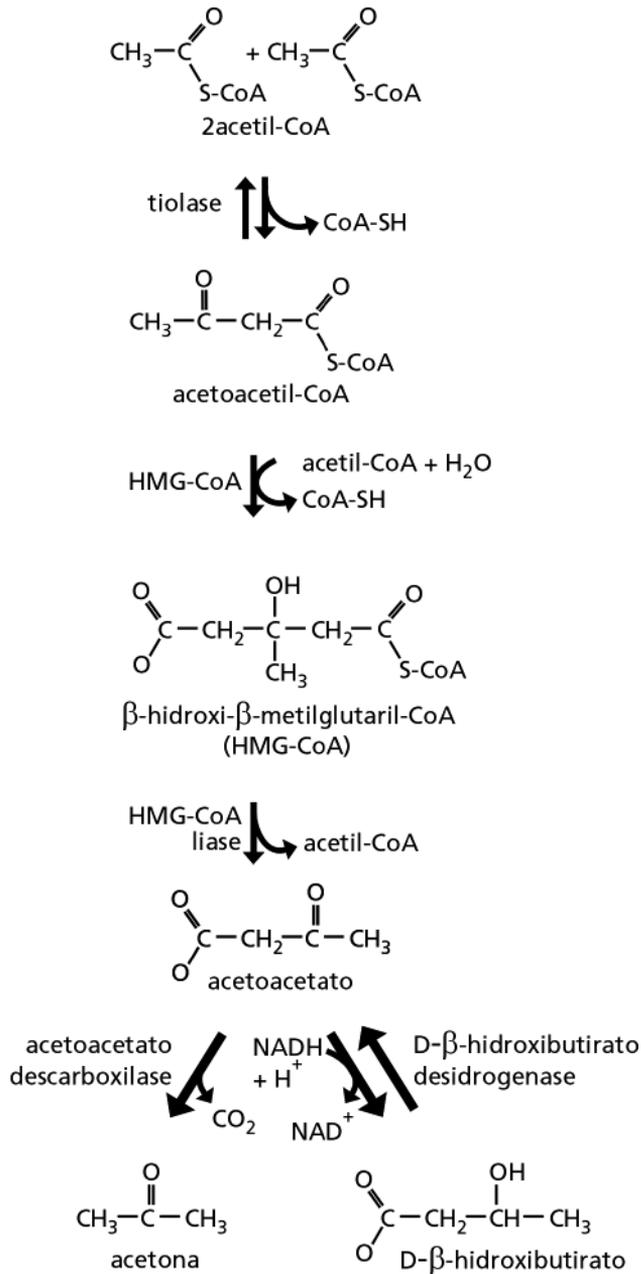


Figura 20.7: Formação de corpos cetônicos.

Tanto o acetoacetato quanto o β -hidroxibutirato são lançados na corrente sanguínea, viajando livremente pelo sangue, já que são altamente solúveis. Os “tecidos famintos”, incluindo músculo cardíaco e esquelético, pulmão e tecido nervoso, captam esses compostos e os transformam de volta em **acetil-CoA**, que é, então, lançado no ciclo de Krebs, gerando energia para esses “tecidos famintos”.

DEGRADAÇÃO DOS DEMAIS ÁCIDOS GRAXOS

Até agora estudamos como o palmitato, que é um ácido graxo com 16 átomos de carbono, é degradado. Entretanto, existem outros ácidos graxos maiores e menores que o palmitato, ou que possuem dupla ligação e que também precisam ser degradados. O que acontece nesses casos?

A maioria dos ácidos graxos insaturados de origem biológica contém apenas ligações duplas nas posições entre os carbonos 9 e 10. Um exemplo de ácidos graxos insaturados é o ácido oléico. Veja este ácido na **Figura 20.9**.

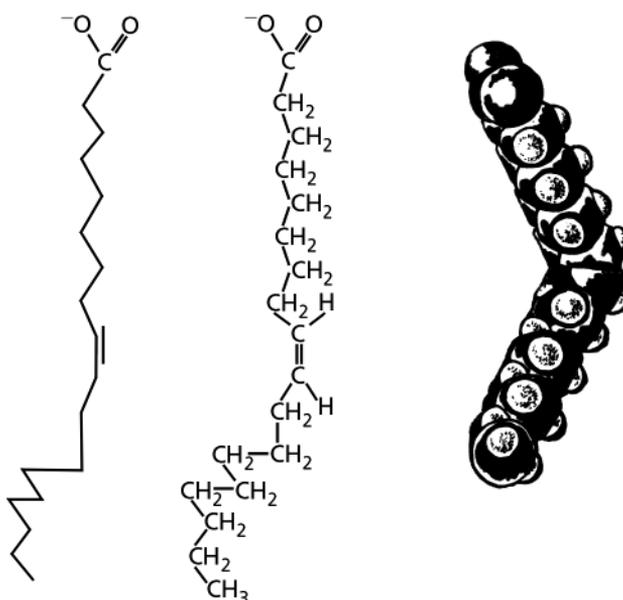


Figura 20.9: Ácido oléico.

Esses ácidos também são oxidados através da β -oxidação. Entretanto, para que isto ocorra, a dupla ligação precisa ser removida. Para tal, existem enzimas, como a enoil-CoA-isomerase, que modificam estas duplas ligações transformando as moléculas em substratos naturais para as enzimas da β -oxidação que vimos anteriormente.

Além dos ácidos graxos com dupla ligação (ácidos insaturados), ainda temos os ácidos graxos com número ímpar de átomos de carbono. Esses ácidos são freqüentes em plantas e organismos marinhos, por exemplo. E neste caso? Será que esses ácidos também podem ser quebrados através da β -oxidação? A resposta é positiva. Todos os ácidos graxos são oxidados nas células pela β -oxidação.

Entretanto, o que vai diferir neste caso é o produto da última volta da β -oxidação. Vejamos. Tomemos como exemplo um ácido graxo com 15 átomos de carbonos. Depois da primeira rodada de β -oxidação (que envolve as quatro reações mencionadas anteriormente), o ácido graxo passa a ter 13 átomos de carbono (pois haverá perdido uma molécula de acetil-CoA). Esse ácido com 13 átomos de carbono vai passar por uma nova rodada de β -oxidação, gerando um ácido graxo com 11 átomos de carbono e assim por diante, até que se formará um ácido com 5 átomos de carbono. Agora é que temos a diferença. Esse composto com 5 átomos de carbono é quebrado em acetil-CoA (2 carbonos) e propionil-CoA (3 átomos de carbono). O propionil-CoA, no entanto, não pode mais passar por uma nova rodada de β -oxidação. O propionil-CoA é convertido a succinil-CoA (4 carbonos), conforme reações mostradas na **Figura 20.10**.

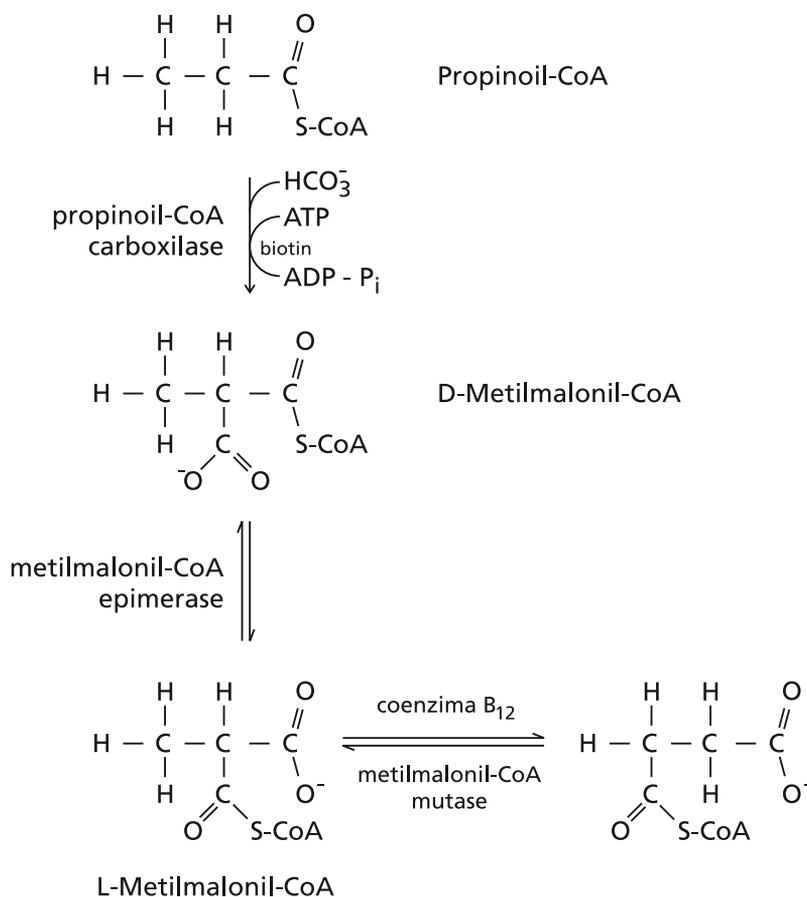


Figura 20.10: Conversão de propionil-CoA em succinil-CoA. Observe que há gasto de ATP na primeira reação catalisada pela propionil-CoA-carboxilase.

Se nos recordarmos da aula sobre ciclo de Krebs, veremos que o succinil-CoA é um intermediário deste ciclo. Logo, quando se forma o succinil-CoA a partir do propionil-CoA, temos um aumento da concentração dos intermediários do ciclo de Krebs e, por conseguinte, de oxalacetato. Agora temos a seguinte situação: um ácido graxo de número ímpar sendo quebrado pela β -oxidação que gera acetil-CoA. Além disso, a quebra desse ácido graxo gera propionil-CoA, que se transforma em succinil-CoA, que se transforma em oxalacetato. Em suma, temos a formação de acetil-CoA e a formação em última instância de oxalacetato. O que ocorre, então, com a produção de corpos cetônicos? Vimos que os corpos cetônicos são produzidos quando falta oxalacetato. Se há um excesso de oxalacetato, há um grande decréscimo na produção de corpos cetônicos quando um ácido graxo de número ímpar é metabolizado. Veja a **Figura 20.11** que resume o que acabamos de descrever.

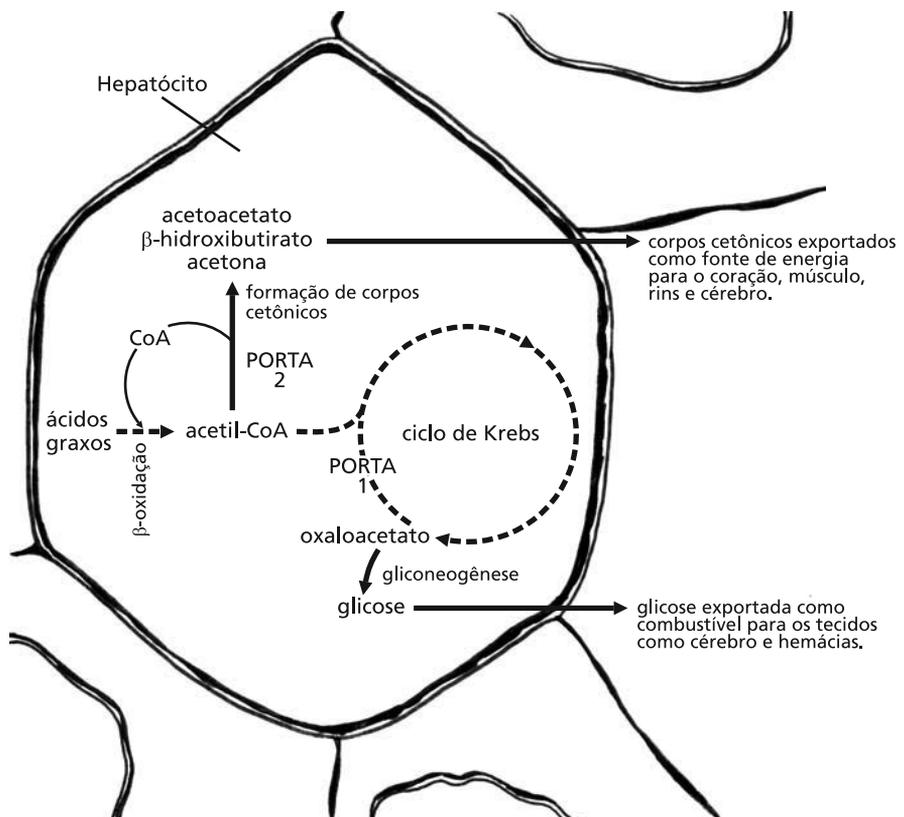


Figura 20.11: O acetil-CoA tem duas "portas de entrada": o ciclo de Krebs (porta 1) e a formação de corpos cetônicos (porta 2). A porta 1 ficará fechada se falta oxalacetato. Neste caso, o acetil-CoA entrará pela porta 2 formando corpos cetônicos. Se houver grande disponibilidade de oxalacetato, a porta preferencial será a 1 e, com isso, a produção de corpos cetônicos diminui. Isso ocorre, por exemplo, quando o fígado oxida ácidos graxos com número ímpar de átomos de carbono.

RESUMO

Na aula de hoje vimos as reações envolvidas na oxidação do palmitato. Lembre-se que oxidar um composto significa “quebrá-lo” em compostos menores. No caso do palmitato, vimos que este composto é quebrado em 8 moléculas de acetil-CoA gerando, durante esta quebra, 7 moléculas de FADH_2 e 7 moléculas de NADH. Essas coenzimas reduzidas vão para a cadeia de transporte de elétrons entregar seus elétrons para formar ATP. O acetil-CoA (2 carbonos), ao se juntar ao oxalacetato (4 carbonos) forma o citrato (6 carbonos), que roda no ciclo de Krebs, gerando mais FADH_2 e NADH, que também vão formar mais ATP na cadeia de transporte de elétrons. Entretanto, no fígado, devido à ausência de oxalacetato (irá formar glicose na gliconeogênese), o acetil-CoA formado na β -oxidação é transformado em corpos cetônicos (acetoacetato e β -hidroxibutirato). Esses compostos, por serem altamente solúveis, “viajam” pelo sangue, sendo captados pelos demais tecidos. Lá, eles são reconvertidos em acetil-CoA, que roda, então, no ciclo de Krebs, gerando energia. Quando ácidos graxos de número ímpar de átomos de carbono são quebrados no fígado, há uma menor produção de corpos cetônicos, já que temos a formação de oxalacetato que acaba por consumir o acetil-CoA que seria utilizado na formação dos corpos cetônicos.

EXERCÍCIOS

Refleta e responda:

1. Vimos que, no fígado, o acetil-CoA formado pela β -oxidação do palmitato forma corpos cetônicos e não entra no ciclo de Krebs, conforme o esperado para o acetil-CoA. Se o ciclo de Krebs não está funcionando no fígado, neste momento, como o fígado consegue energia para “se manter vivo” no momento do jejum?
2. Por que o fígado não manda para os “tecidos famintos” o acetil-CoA formado na β -oxidação, mas sim acetoacetato e β -hidroxibutirato?
3. Explique com suas palavras por que os ácidos graxos com número ímpar geram menos corpos cetônicos que os ácidos graxos de número par?
4. Na sua opinião, qual é a importância, do ponto de vista energético, da última volta da β -oxidação, ou seja, da tiólise? Compare a reação catalisada pela tiolase com a reação catalisada pela acil-CoA sintase, que é a enzima que pendura CoA no palmitato quando este precisa entrar na mitocôndria.

Síntese de ácidos graxos

AULA

18

objetivo

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Conhecer as principais reações envolvidas na síntese de ácidos graxos, em especial, do palmitato.

ASPECTOS HISTÓRICOS

A síntese de ácidos graxos foi desvendada depois que as principais reações da β -oxidação haviam sido descritas. Só para lembrar, é através da β -oxidação que o palmitato é quebrado em acetil-CoA. A β -oxidação é composta por quatro reações: desidrogenação dependente de FAD; hidratação; desidrogenação dependente de NAD^+ e tiólise. Você se lembra?

Os pesquisadores interessados em conhecer a síntese de ácidos graxos acreditavam que esta via era o reverso da β -oxidação, ou seja, eles acreditavam que havia um único conjunto de enzimas que era capaz de quebrar o palmitato em determinadas situações, ou fazer o palmitato em outras. Essa crença baseava-se no fato de que as quatro enzimas envolvidas na degradação do palmitato mostraram-se reversíveis quando purificadas. Logo, parecia simples: se as enzimas da β -oxidação podem catalisar reações reversíveis (substrato $\leftarrow \rightarrow$ produto), então, elas também deveriam ser capazes de sintetizar o palmitato. Entretanto, embora se tenha tentado sintetizar palmitato incubando-se o acetato (composto com 2 carbonos) com as mitocôndrias (lembre-se que é na mitocôndria que ocorre a β -oxidação), nunca se observou o aparecimento deste ácido graxo. Logo, havia algo de errado com aquela crença inicial.

O impasse foi resolvido quando Stadman & Barker e Brady & Gurin, na década de 1950, observaram a síntese de palmitato em uma fração solúvel da célula, ou seja, no *citoplasma das células*. Pôde-se, então, concluir que a síntese de palmitato ocorria no citoplasma, ao passo que a degradação do palmitato (β -oxidação) ocorria nas mitocôndrias. O que demonstrava que a síntese e a degradação eram vias totalmente distintas!

Agora que já vimos um pouco o aspecto histórico da descoberta da síntese, vamos responder à seguinte pergunta: **em que situação o nosso organismo vai sintetizar ácido graxo (palmitato)?** Se pararmos para pensar, os ácidos graxos são as reservas do nosso organismo, junto com o glicogênio. Se fizermos uma analogia com a caderneta de poupança, concluiremos que nosso organismo vai sintetizar suas reservas quando houver excesso de nutriente. Nós também só guardamos dinheiro na caderneta de poupança depois que pagamos todas as nossas contas do mês. Ninguém deposita dinheiro na poupança se estiver devendo alguma coisa. O organismo é assim também. Vai produzir suas reservas depois que a demanda de energia das células já estiver suprida. E é por isso que a gente engorda!

Quando comemos mais do que o necessário, o excesso é convertido em ácidos graxos (palmitato) que se acumulam no tecido adiposo, formando aqueles “pneuzinhos” na barriga que a gente tanto detesta...

Vamos estudar agora como ocorre a síntese do palmitato (e a formação dos tais pneuzinhos...). Então, mãos à obra!

SÍNTESE DO PALMITATO

O citrato

A síntese do palmitato ocorre a partir do acetil-CoA (2 átomos de carbono). Entretanto, o acetil-CoA é uma molécula mitocondrial e, conforme acabamos de ver, a síntese do palmitato ocorre no citoplasma das células. Logo, o acetil-CoA precisa chegar ao citoplasma para que haja a síntese do palmitato.

Conforme discutimos na aula passada, a coenzima A é muito grande para atravessar as membranas biológicas e, por isso, o acetil-CoA não pode cruzar as membranas da mitocôndria para chegar ao citoplasma. Como, então, o acetil-CoA chega ao citoplasma para dar início à síntese do palmitato? Vejamos.

Quando comemos muito açúcar, a taxa de glicose do nosso sangue fica elevada. A glicose (6 átomos de carbono) entra nas células e é degradada pela *glicólise*, dando origem a duas moléculas de piruvato (3 átomos de carbono). Se você não se recorda bem de como ocorre a glicólise, reveja a aula sobre esse assunto.

O piruvato formado no citoplasma entra na mitocôndria através de um *translocador* localizado na membrana interna mitocondrial. Na mitocôndria, o piruvato é convertido em acetil-CoA através da *piruvato desidrogenase*. O acetil-CoA (2 átomos de carbono) se junta ao oxalacetato (4 átomos de carbono) para formar o citrato (6 átomos de carbono) que segue pelo ciclo de Krebs.

Quando há excesso de glicose, todas essas reações aqui descritas ocorrem em grande abundância, já que há excesso e fartura de glicose. Nesta situação, há uma grande formação de citrato, que se acumula dentro da mitocôndria. A concentração de citrato aumenta tanto que o citrato acaba vazando da mitocôndria, caindo no citoplasma.

A saída do citrato da mitocôndria se dá através de um *translocador de citrato* localizado na membrana mitocondrial interna.

No citoplasma, o citrato é quebrado em acetil-CoA e oxalacetato pela ação da *citrato liase*. Veja:



Agora sim! Temos acetil-CoA no citoplasma para ser utilizado na síntese do palmitato. Podemos, então, concluir que o acetil-CoA sai da mitocôndria “disfarçado” de citrato. O citrato, quando chega no citoplasma, é quebrado formando o acetil-CoA e o oxalacetato (lembre que o citrato é formado pelo união do acetil-CoA com o oxalacetato. Logo, a quebra do citrato gera acetil-CoA e oxalacetato).

O destino do acetil-CoA

Agora, temos o acetil-CoA no citoplasma! Entretanto, a síntese do palmitato utiliza o malonil-CoA (composto com 3 átomos de carbono).

Desta forma, o acetil-CoA será convertido em malonil-CoA pela ação da enzima *acetil-CoA carboxilase*. Essa é a primeira enzima envolvida na síntese do palmitato. Como o próprio nome diz, a acetil-CoA carboxilase “pendura” um CO₂ no acetil-CoA, isto é, ela “carboxila” o acetil-CoA, que passa a formar malonil-CoA, um composto com 3 átomos de carbono. Veja:



A acetil-CoA carboxilase é uma enzima dependente de *biotina*. A biotina (veja ao lado) está presente em todas as carboxilases, pois é o grupo que se especializou na carboxilação de determinadas moléculas.

A **Figura 22.1** mostra a saída do citrato da mitocôndria e a formação de acetil-CoA e oxalacetato. Alguns detalhes desta figura serão descritos mais à frente.

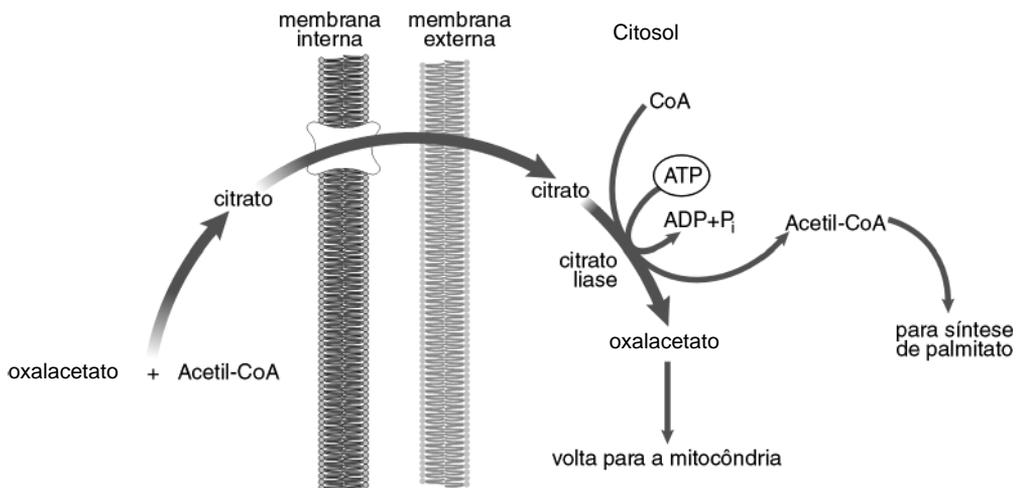


Figura 22.1: Saída do citrato na mitocôndria e formação de acetil-CoA no citoplasma.

O complexo do ácido graxo sintase

A segunda enzima que participa da síntese de lipídeos é o *complexo do ácido graxo sintase (AGS)*. Esta enzima é bastante grande, sendo capaz de desempenhar diversas funções, conforme veremos a seguir.

A AGS possui dois grupamentos funcionais: uma fosfopantoteína e uma cisteína. A fosfopantoteína fica ligada à proteína carreadora de acilas (PCA). Veja a Figura 22.2.

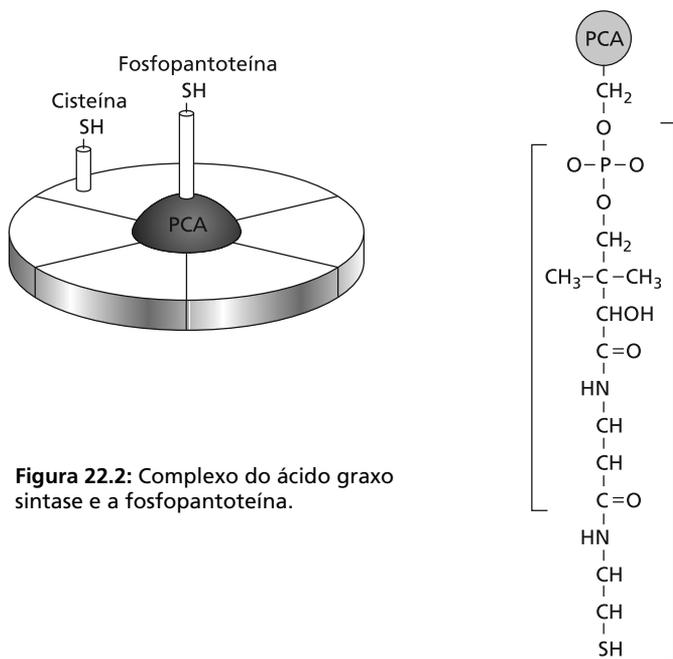


Figura 22.2: Complexo do ácido graxo sintase e a fosfopantoteína.

A fosfopantoteína e a cisteína possuem grupamentos SH que servem para ligar os diversos substratos dessa enzima. O funcionamento dessa enzima é sensacional! Vejamos.

Primeiro, um acetil-CoA se liga à cisteína. Em seguida, o malonil-CoA se liga à fosfopantoteína. Vale ressaltar que, no momento da ligação, tanto o acetil-CoA quanto o malonil-CoA perdem a CoA antes de se ligar à AGS e se ligam como acetato e malonato. Nesse momento, a enzima está carregada com seus dois substratos principais: o acetato (ligado à cisteína) e o malonato (ligado à fosfopantoteína). Em seguida, o acetato “pula” para cima do malonato com a ajuda de um componente do complexo chamado enzima de condensação. O produto desta condensação seria um composto com 5 átomos de carbono, já que o acetato possui 2 átomos de carbono e o malonato possui 3 átomos de carbono. Entretanto, ao mesmo tempo que ocorre essa condensação, ocorre uma *descarboxilação* e, com isso, o produto formado possui 4 átomos de carbono ($2 + 3 = 5 - 1 = 4$). Vale ressaltar que este produto se forma sobre a fosfopantoteína e, por isso, se chama acetoacetil-PCA.

Em seguida, o acetoacetil-PCA sofre uma redução dependente de NADPH (veja o NADPH ao lado). Quem catalisa essa reação é uma *redutase* presente no complexo da AGS. O NADPH cede seus H para o acetoacetil formando NADP⁺. E o produto formado se chama hidroxibutiril-PCA (já que ainda está ligado à fosfopantoteína da PCA).

Agora, o hidroxibutiril sofre uma desidratação também catalisada por uma *desidratase* presente no complexo da AGS. O produto desta reação é o butenenoil-PCA.

A quarta reação é uma nova redução catalisada por uma outra redutase presente no complexo. Esta redutase também utiliza NADPH, formando NADP⁺ e butiril-PCA.

Todas essas quatro reações ocorrem com o composto de quatro carbonos ligado à fosfopantoteína. Entretanto, até agora, o composto tem apenas 4 átomos de carbono e, conforme sabemos, o palmitato tem 16 átomos de carbono. Falta, portanto, que o butiril cresça até formar o palmitato.

Desta forma, o butiril-PCA é transferido para a cisteína, deixando a fosfopantoteína livre para a entrada de uma nova molécula de malonato.

Na segunda rodada do complexo, a situação é a seguinte: o butiril (composto com 4 átomos de carbono) se encontra ligado à cisteína e o malonil-CoA perde seu CoA e se liga como malonato à fosfopantoteína.

Em seguida, o butiril “pula” para cima do malonato com a ajuda da enzima de condensação. Ocorre uma nova descarboxilação do malonato dando origem a um composto com 6 átomos de carbono ($4 + 3 = 7 - 1 = 6$).

Da mesma forma que descrito anteriormente, esse composto vai sofrer uma redução dependente de NADPH, uma desidratação e uma nova redução dependente de NADPH.

Tudo isso ocorre sobre a fosfopantoteína. Agora, esse composto com 6 átomos de carbono é transferido de volta para cisteína deixando a fosfopantoteína livre para a entrada de um novo malonil-CoA.

Esse processo se repete 7 vezes, até que o palmitato se forma dentro do complexo da AGS. Como o palmitato é uma molécula muito grande (16 átomos de carbono), a afinidade do complexo AGS por ele é muito pequena e, com isso, o complexo libera o palmitato. Esse palmitato pode ser transportado para o tecido adiposo onde permanecerá até que seja necessária a sua utilização como reserva energética.

Veja a Figura 22.3 que resume o que foi descrito.

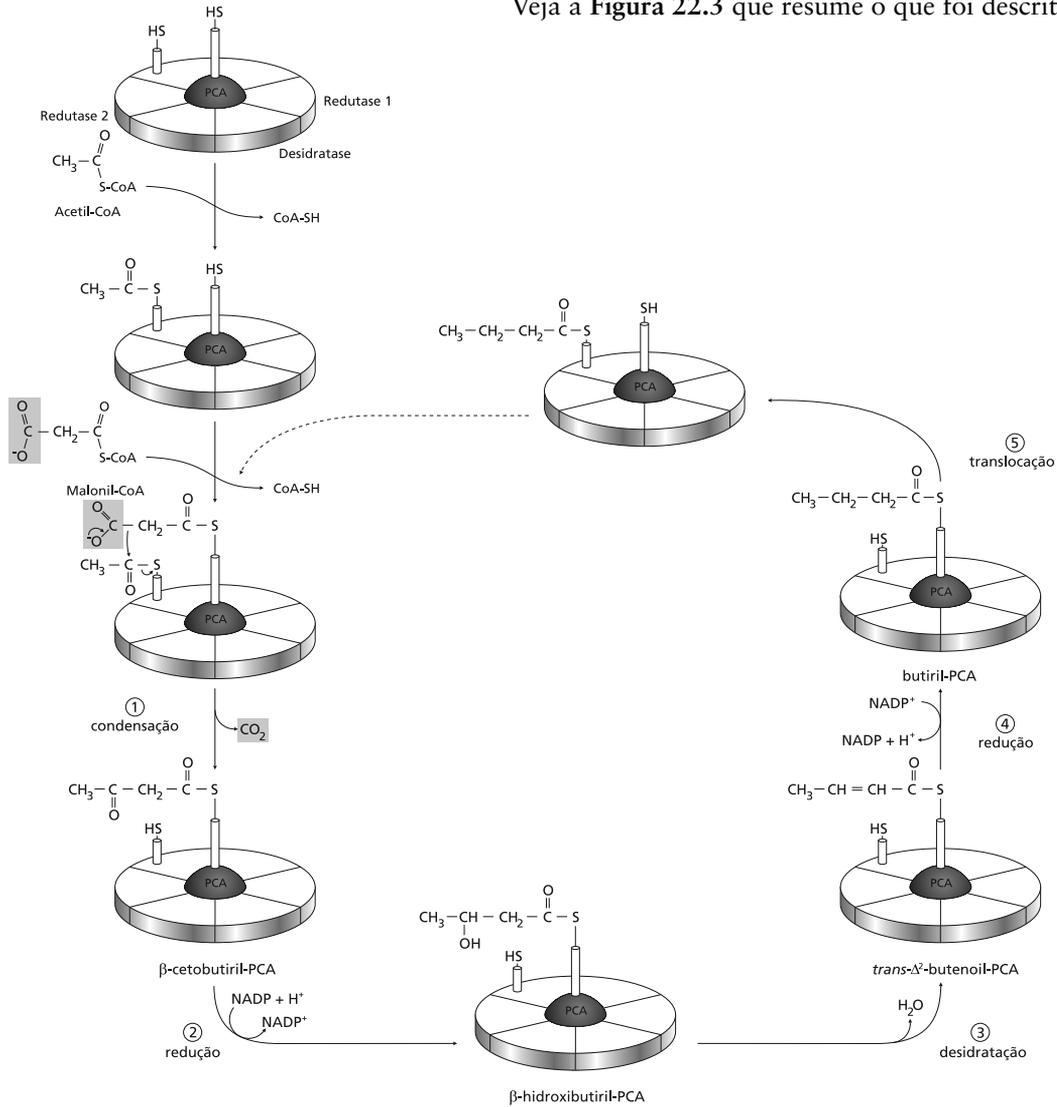
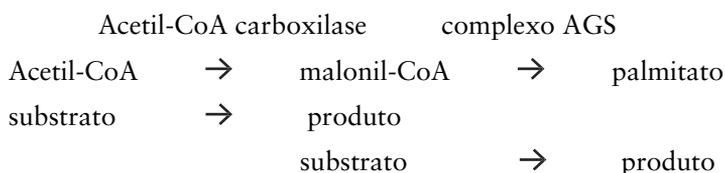


Figura 22.3: A síntese do palmitato no complexo do ácido graxo sintase.

Conforme vimos, a primeira reação catalisada pelo complexo da AGS é a união de um acetil-CoA com um malonil-CoA. A partir daí, em cada rodada do complexo, uma nova molécula de malonil-CoA é consumida, fazendo o composto crescer até ficar com 16 átomos de carbono.

Podemos concluir, então, que para haver síntese de palmitato é necessário que haja muito malonil-CoA disponível. É aí que entra a acetil-CoA carboxilase. Conforme vimos anteriormente, a acetil-CoA carboxilase é “uma fábrica” de malonil-CoA. Esse malonil-CoA é utilizado pelo complexo da AGS. Se faltar malonil-CoA, não há síntese de palmitato!

Desta forma, o produto da acetil-CoA carboxilase (malonil-CoA) é substrato da AGS. Veja.



Não podemos deixar de mencionar, mais uma vez, que o complexo da AGS utiliza acetil-CoA apenas na primeira reação. Logo, o acetil-CoA que vem da quebra do citrato serve tanto como substrato da acetil-CoA carboxilase quanto como substrato do complexo da AGS.

Em resumo, a síntese do palmitato, a partir do acetil-CoA e do malonil-CoA, envolve as seguintes reações:

- 1- condensação
- 2- redução dependente de NADPH
- 3- desidratação
- 4- redução dependente de NADPH

Regulação da síntese de palmitato

Conforme mencionado anteriormente, a síntese de palmitato ocorre quando há fartura de nutrientes. Vimos acima que a glicose excedente é convertida em piruvato, que se transforma em citrato, que, por sua vez, é convertido em acetil-CoA, que serve de matéria-prima para a síntese de palmitato. Fica claro, então, por que quando comemos muito açúcar engordamos. O açúcar excedente se transforma em gordura (palmitato) que se acumula no tecido adiposo.

Conforme podemos prever, a síntese de palmitato precisa ocorrer na hora correta. Obviamente, só podemos sintetizar palmitato quando existem nutrientes em excesso, e por isso, a célula precisa controlar precisamente as enzimas envolvidas com a síntese.

A acetil-CoA carboxilase é altamente controlada, já que é ela que vai gerar o malonil-CoA, que é o principal substrato para a síntese de palmitato.

A acetil-CoA carboxilase **sofre dois controles**. O primeiro é exercido pelo próprio *citrato*, que atua como um modulador da atividade desta enzima. A acetil-CoA carboxilase possui um sítio de ligação ao citrato (sítio alostérico). Quando o citrato ocupa este sítio, a acetil-CoA carboxilase sofre uma mudança conformacional que resulta na sua polimerização. Na verdade, a acetil-CoA carboxilase existe na forma de monômeros isolados, quando não há citrato no citoplasma da célula. Mediante ligação ao citrato, esses monômeros “dão as mãos”, formando um filamento longo, conforme visto na **Figura 22.4**. A polimerização funciona exatamente como se fosse um colar de pérolas: as pérolas isoladas seriam os monômeros de acetil-CoA carboxilase e o colar de pérola inteiro seria o filamento.

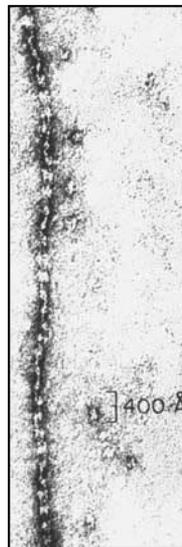
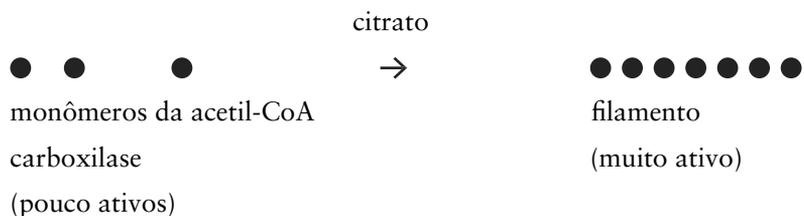


Figura 22.4: Microscopia eletrônica dos filamentos da acetil-CoA carboxilase obtidos na presença de citrato.

Entretanto, curiosamente, a acetil-CoA carboxilase, na forma filamentosa, apresenta uma atividade bem maior do que a acetil-CoA carboxilase na forma de monômeros.

Dessa forma, podemos concluir, que o citrato é capaz de ativar a acetil-CoA carboxilase ao induzir sua polimerização. Quando, então, o citrato chega ao citoplasma, uma pequena parte dele se liga à acetil-CoA carboxilase, ocasionando a polimerização da enzima com a sua concomitante ativação.



O **segundo** controle da acetil-CoA carboxilase é a fosforilação induzida pelo hormônio glucagon. Conforme você verá nas aulas de regulação hormonal, o glucagon, um hormônio que é liberado no momento do jejum, ativa uma proteína cinase que fosforila (pendura um grupamento fosfato) diversas enzimas, dentre as quais a acetil-CoA carboxilase.

Quando fosforilada, a acetil-CoA carboxilase passa a ficar inibida. Desta forma, quando estamos em jejum sob a ação do glucagon, a acetil-CoA carboxilase está completamente inibida, já que se encontra fosforilada.

- enzima defosforilada → ativa
- ^{-P} enzima fosforilada → inibida

Em resumo, podemos dizer que a acetil-CoA carboxilase possui dois controles: o citrato, que ativa a enzima, e a fosforilação induzida por glucagon, que leva à sua inativação.

NADPH

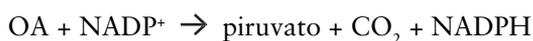
Antes de terminarmos, falta compreender de onde vem tanto NADPH que é necessário para manter a síntese do palmitato. Lembre-se de que em cada rodada do complexo da AGS há consumo de duas moléculas de NADPH.

Vimos anteriormente que, quando a concentração de citrato está muito aumentada na mitocôndria, o citrato vaza, alcançando o citoplasma.

Esse citrato é convertido em acetil-CoA e oxalacetato pela ação da *citrato liase*. O acetil-CoA ou será convertido em malonil-CoA pela acetil-CoA carboxilase ou será utilizado na primeira rodada do complexo da AGS para formar palmitato.

E o oxalacetato (OA)? Qual o destino desta molécula?

O OA pode ser convertido em malato pela **malato desidrogenase**, que utiliza NADH. O malato formado pode ser convertido em piruvato por uma enzima chamada *enzima málica*. Na conversão de OA em piruvato, há formação de NADPH. Veja:



Este NADPH formado a partir da enzima málica pode ser utilizado na síntese do palmitato. Entretanto, esse NADPH não é suficiente para manter a síntese, havendo necessidade de mais NADPH. Conforme veremos em aulas mais à frente, existe uma via chamada *via das pentoses fosfato*, que ocorre junto com a síntese de palmitato, e que forma NADPH para manter a síntese do palmitato. Desta forma, parte do NADPH necessário para a síntese do palmitato vem da enzima málica, e outra parte, da via das pentoses fosfato.

Tanto o piruvato quanto o malato podem voltar para a mitocôndria através de transportadores específicos, sendo reconvertidos em OA. Veja a **Figura 22.5**.

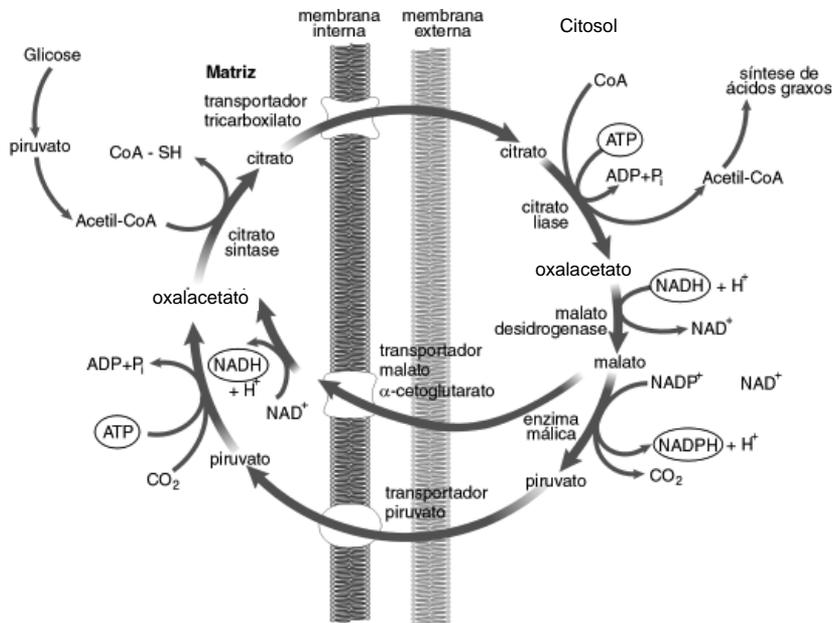


Figura 22.5: O transporte de citrato para fora da mitocôndria gera OA, que, ao retornar para a mitocôndria na forma de piruvato, gera poder redutor (NADPH) para a síntese do palmitato.

Síntese de palmitato x degradação do palmitato

Antes de terminarmos, vale a pena comparar a síntese de palmitato com a sua degradação (β -oxidação).

Tabela 22.1: Comparação da síntese do palmitato e sua degradação.

β -oxidação	Síntese do palmitato
1. oxidação dependente de FAD	1. condensação
2. hidratação	2. redução dependente de NADPH
3. oxidação dependente de NAD^+	3. desidratação
4. tiólise (quebra)	4. redução dependente de NADPH

Se pararmos para pensar, podemos concluir que a síntese do palmitato envolve reações químicas que são o contrário das reações da β -oxidação. Não estamos dizendo que *a síntese é o reverso da β -oxidação*, mas apenas que essas duas vias são *quimicamente o reverso uma da outra*.

Não poderia ser diferente, pois, quando sintetizamos o palmitato, que é uma molécula com vários grupos CH_2 , utilizamos o malonato, que é uma molécula que possui carbono ligado ao oxigênio. Esse oxigênio precisa sair da molécula para a entrada de H e formação do CH_2 . É por isso que ocorrem reduções com o uso de NADPH, que cede seus H gerando NADP^+ .

Na β -oxidação a situação é o contrário. Temos o palmitato, rico em grupos CH_2 , e queremos formar o acetil-CoA, uma molécula que possui oxigênio ligado ao carbono. Logo, neste caso, precisamos inserir oxigênio na molécula, ou seja, precisamos oxidar a molécula. É por isso que precisamos de FAD e NAD^+ , que recebem os H vindos do palmitato formando FADH_2 e NADH . Além disto, na síntese do palmitato há uma reação de desidratação que remove o oxigênio da molécula, ao passo que na β -oxidação há uma etapa de hidratação que insere oxigênio na molécula. Por fim, enquanto na β -oxidação temos a tiólise, ou seja, a quebra do palmitato em unidades de dois carbonos (acetil-CoA), na síntese do palmitato temos a condensação de moléculas pequenas, como o malonil-CoA, visando formar uma molécula grande como o palmitato.

RESUMO

Nesta aula, vimos como o palmitato é sintetizado a partir de precursores pequenos como o acetil-CoA e o malonil-CoA. Existem duas enzimas-chave que participam do processo de síntese do palmitato: a acetil-CoA carboxilase e o complexo da ácido graxo sintase (AGS). A acetil-CoA carboxilase sintetiza malonil-CoA com gasto de ATP. O complexo da AGS possui dois grupamentos muito importantes, que são a fosfopantoteína e uma cisteína. O acetil-CoA se liga como acetato à cisteína, ao passo que o malonil-CoA se liga como malonato à fosfopantoteína. Há uma reação de condensação que é acompanhada de uma descarboxilação, o que resulta na formação de um composto com quatro átomos de carbono. Esse composto sofre redução dependente de NADPH, desidratação, e uma nova redução dependente de NADPH.

Em seguida o composto, já reduzido na forma de butiril, passa para a cisteína, deixando livre a fosfopantoteína para a entrada de um novo malonil-CoA. Esse ciclo se repete até que o palmitato se forme dentro do complexo da AGS, sendo, em seguida, liberado para o meio.

EXERCÍCIOS

1. Descreva com suas próprias palavras o processo de síntese de palmitato a partir do acetil-CoA.
2. Como o acetil-CoA chega ao citoplasma, local onde ocorre a síntese de lipídeos?
3. Quais são os controles da síntese de lipídeos?

Via das pentoses-fosfato

Nesta aula, você vai conhecer a **via das pentoses-fosfato**, um desvio da via glicolítica necessário às células que realizam reações de biossíntese redutoras. Você vai ser apresentado a todas as reações que fazem parte desta via, mas o mais importante é que você aprenda como o poder redutor é garantido nos momentos de biossíntese, como é sintetizado o NADPH e como pentoses são fornecidas para a formação de nucleotídeos.

Pré-requisitos

Seria interessante que você relese as aulas sobre glicólise, ciclo de Krebs e síntese de ácidos graxos antes de começar. Vamos retomar alguns pontos dessas vias metabólicas nesta aula.

INTRODUÇÃO

O ATP é considerado a “moeda energética” da célula. A incorporação do fosfato à molécula de ADP, formando o ATP, se dá às custas da energia liberada na oxidação dos nutrientes, enquanto a síntese das biomoléculas muitas vezes depende da hidrólise do ATP. Entretanto, como vimos quando estudamos a síntese de ácidos graxos, nem sempre apenas o ATP é suficiente para as reações de biossíntese. Uma outra “moeda” também é necessária: o poder redutor. Muitas reações celulares, como a síntese de ácidos graxos e de colesterol, requerem **NADPH** além do ATP.

Atenção! Você não deve confundir NADH com NADPH. Estas duas coenzimas diferem apenas pela presença de um grupamento fosfato a mais na molécula de NADPH. Entretanto, elas desempenham papéis bastante diferentes na célula. O NADH participa indiretamente da síntese do ATP, transferindo os elétrons liberados nas reações de oxidação dos nutrientes para a cadeia transportadora de elétrons. O NADPH está envolvido na utilização da energia livre das reações de oxidação para as reações de biossíntese redutivas. Esta diferenciação é possível graças à especificidade das enzimas por suas coenzimas.

Bem, voltando às reações de biossíntese, estávamos dizendo que elas requerem, além da energia armazenada na molécula de ATP, o poder redutor do NADPH.

Na aula de hoje, você vai aprender como o NADPH é formado nas células.

Você já aprendeu que o NAD^+ é reduzido a NADH em uma série de reações de oxidação catalisadas por enzimas chamadas desidrogenases. O NADPH também é reduzido em reações de oxidação catalisadas por desidrogenases; neste caso, outras **desidrogenases** que usam como coenzima o NADP^+ e não o NAD^+ . Vamos, agora, conhecer estas reações, que fazem parte da via metabólica que chamamos **via das pentoses-fosfato**.

A via das pentoses-fosfato pode ser dividida em duas etapas, o **ramo oxidativo** e o **ramo não-oxidativo**. O ramo oxidativo começa com a glicose-6-fosfato (glicose-6P), que é desviada da via glicolítica, sendo convertida a uma pentose-fosfato. Como o nome diz, pentoses são açúcares contendo 5 carbonos. Você já sabe que a glicose-6P possui 6 carbonos. Então, tente responder: que tipo de reação deve ocorrer no ramo oxidativo da via das pentoses de forma a gerar um açúcar de 5 carbonos?

A glicose-6P deve perder 1 carbono, o que ocorre através de uma reação de **descarboxilação**.

Para lembrar como são as reações catalisadas pelas desidrogenases, você pode retornar às aulas que trataram das reações da glicólise e do ciclo de Krebs, e observar as reações catalisadas pelas enzimas gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, isocitrato desidrogenase, α -cetoglutarato desidrogenase, ou malato desidrogenase.

Para simplificar, vamos substituir a palavra fosfato pela letra P nas nomenclaturas usadas a partir de agora. Assim, glicose-6-fosfato passa a ser denominada glicose-6P, frutose-6-fosfato passa a ser frutose-6P, ribose-5-fosfato passa a ser ribose-5P e assim por diante.

O RAMO OXIDATIVO DA VIA DAS PENTOSSES-FOSFATO

Observe, em seguida, as reações que compõem o ramo oxidativo da via das pentoses-fosfato na **Figura 24.1**:

Como você pode observar, no ramo oxidativo ocorrem duas reações de oxidação, cujas enzimas usam o NADP^+ como coenzima, sendo a última uma reação de descarboxilação também.

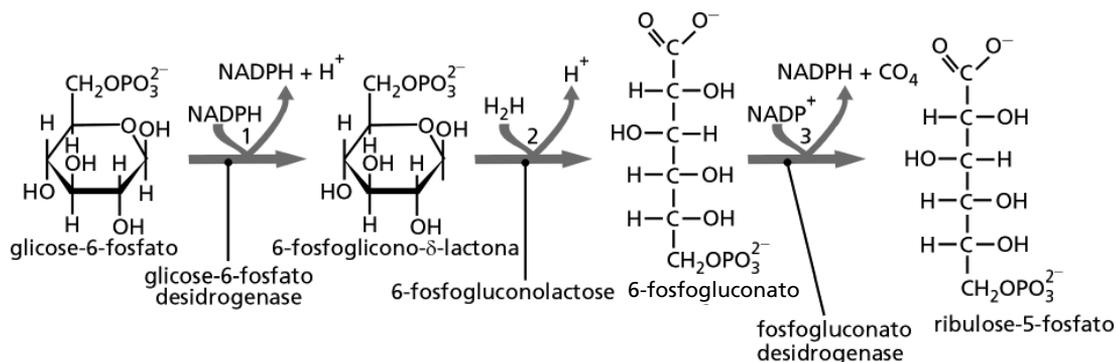


Figura 24.1: Reações do ramo oxidativo da via das pentoses-fosfato.

A primeira reação é catalisada pela enzima **glicose-6P desidrogenase**, que converte a glicose-6P em 6-fosfoglicono- δ -lactona. Esta enzima é específica para NADP^+ e esta reação é a etapa mais regulada da via, como veremos mais à frente. Em seguida, na segunda reação do ramo oxidativo, a 6-fosfoglicono- δ -lactona é hidrolisada, formando 6-fosfogliconato. Esta reação é catalisada pela enzima **6-fosfogliconolactanase**. A última reação do ramo oxidativo é uma **descarboxilação oxidativa** catalisada pela enzima **fosfogliconato desidrogenase**, levando à redução de NADP^+ , à liberação de CO_2 e à formação da pentose ribulose-5P. Esta reação é irreversível em condições fisiológicas (no ambiente intracelular, a conversão de ribulose-5P de volta a 6-fosfogliconato não ocorre).

Assim, o ramo oxidativo da via das pentoses gera duas moléculas de NADPH para cada molécula de glicose-6P.

A descarboxilação oxidativa catalisada pela enzima fosfogliconato desidrogenase é semelhante à reação catalisada pela isocitrato desidrogenase, enzima do ciclo de Krebs.

O RAMO NÃO-OXIDATIVO DA VIA DAS PENTOSSES-FOSFATO

O ramo não-oxidativo é composto por uma série de reações, todas elas reversíveis. Ele começa com a conversão de moléculas de ribulose-5P em duas outras pentoses: a ribose-5P ou a xilulose-5P, como mostrado na Figura 24.2:

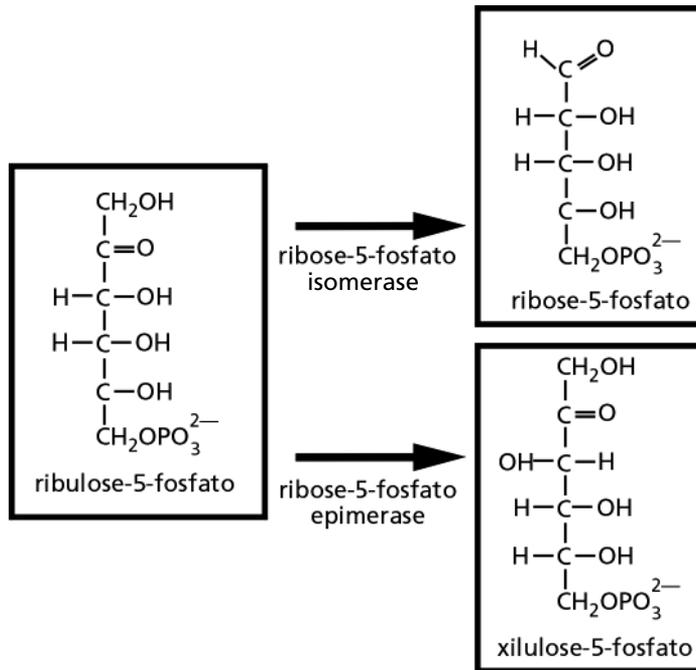


Figura 24.2: Conversão de ribulose-5P em ribose-5P e xilulose-5P.

A ribose-5P é um componente dos nucleotídeos, podendo ser usada na formação destes compostos. Entretanto, nem sempre o requerimento de poder redutor para as reações de biossíntese coincide com a necessidade de ribose-5P. Assim, as reações do ramo não-oxidativo são responsáveis pela conversão das pentoses formadas em intermediários comuns do metabolismo, que podem ser usados em outras vias metabólicas.

Mas como isso ocorre?

As pentoses-fosfato são convertidas em intermediários da via glicolítica através de uma série de reações de rearranjo. Essas reações consistem na clivagem e na formação de ligações C – C, como veremos a seguir. Em última análise, duas moléculas de xilulose-5P e uma molécula de ribose-5P são convertidas em duas moléculas de frutose-6P e uma molécula de gliceraldeído-3P, ambos intermediários da glicólise.

Assim, os 15 carbonos presentes nas três pentoses são rearranjados como duas moléculas de 6 carbonos (2 frutose-6P) e uma molécula de 3 carbonos (o gliceraldeído-3P), somando 15 carbonos. Estas reações são catalisadas por dois tipos de enzimas, as **transaldolases** e as **transcetolases**. As transaldolases transferem fragmentos de 3 carbonos e as transcetolases transferem fragmentos de 2 carbonos. Acompanhe a série de reações mostradas na **Figura 24.3**:

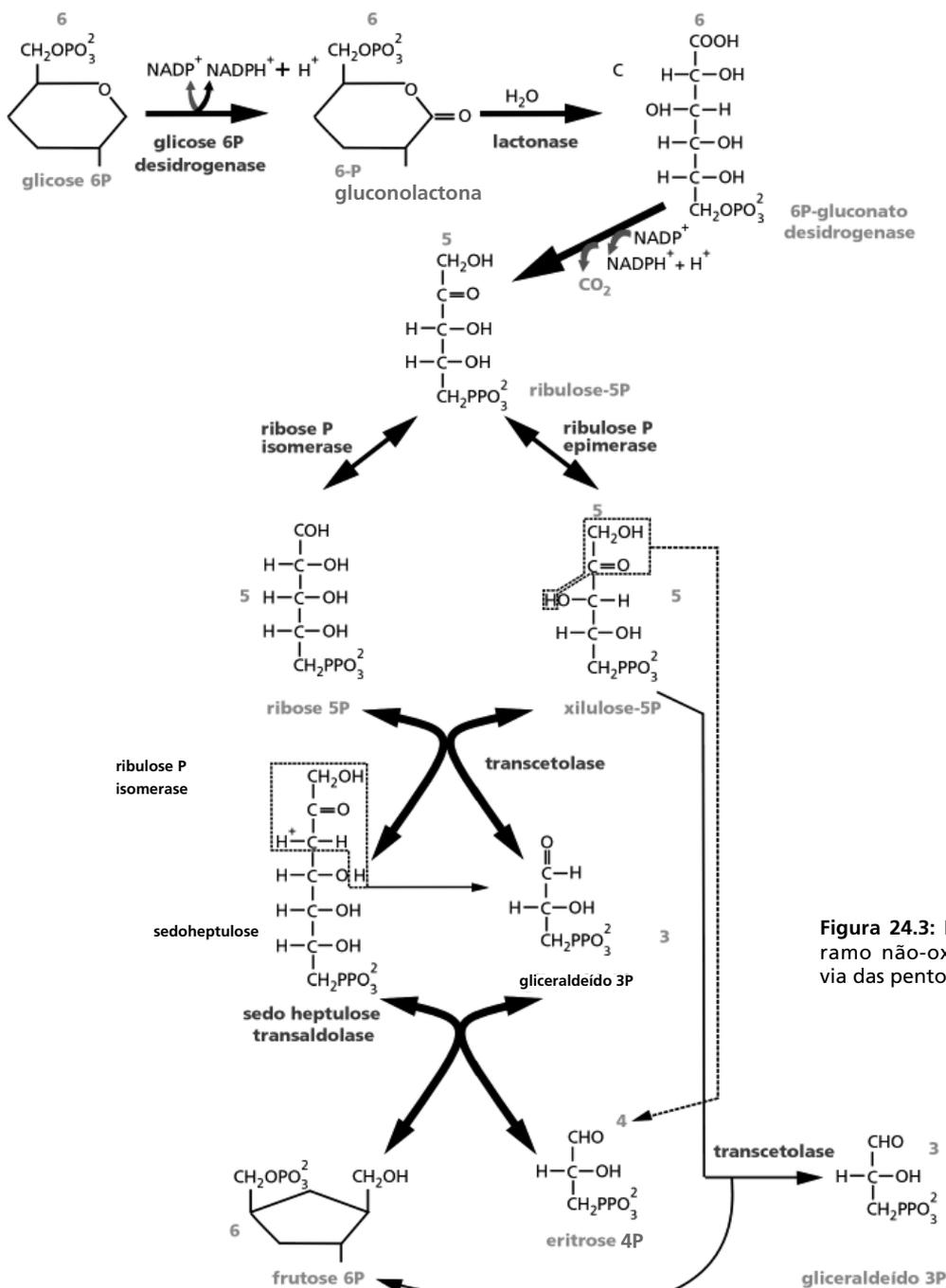


Figura 24.3: Reações do ramo não-oxidativo da via das pentoses-fosfato.

À primeira vista, este conjunto de reações assusta, pois parece muito complicado. Mas se você prestar atenção, o que ocorre nada mais é do que a troca de pedaços entre uma molécula e outra. Primeiro, um fragmento de 2 carbonos é transferido da **xilulose-5P** para a **ribose-5P**. Esta transferência resulta em uma molécula de 7 carbonos, a **sedoheptulose-7P**, e uma molécula de 3 carbonos, o **gliceraldeído-3P**. Então, um fragmento de 3 carbonos é transferido da **sedoheptulose-7P** para o **gliceraldeído-3P**, formando uma molécula de 4 carbonos, a **eritrose-4P**, e uma molécula de 6 carbonos, a **frutose-6P**. Finalmente, o fragmento de 2 carbonos é transferido de outra molécula de **xilulose-5P** para a **eritrose-4P**, formada na reação anterior, gerando mais uma molécula de **gliceraldeído-3P** e mais uma molécula de **frutose-6P**. O resultado final, como já mencionamos, é a conversão de 3 pentoses-fosfato em duas moléculas de **frutose-6P** e uma molécula de **gliceraldeído-3P**, que podem seguir pela via glicolítica.

Veja, agora, o esquema geral de como isso ocorre dentro da célula na **Figura 24.4**.

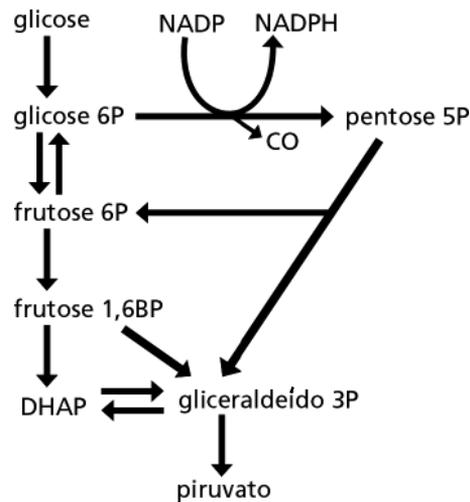


Figura 24.4: Visão esquemática da via das pentoses-fosfato na célula.

REGULAÇÃO DA VIA DAS PENTOSE-FOSFATO

O fluxo através da via das pentoses-fosfato e, conseqüentemente, a taxa de redução de NADP^+ a NADPH são regulados essencialmente pela atividade da glicose-6P desidrogenase. Esta enzima é regulada pelos níveis de NADP^+ , um de seus substratos. Quando a célula consome NADPH , quando começa a sintetizar lipídeos, por exemplo, a concentração de NADP^+ aumenta, favorecendo a atividade da **glicose-6P desidrogenase**, regenerando o NADPH .

Um outro aspecto importante da regulação desta via requer uma visão mais integrada do metabolismo. Vamos lembrar o que ocorre durante a síntese de ácidos graxos. O **citrato**, em excesso na mitocôndria, é transportado para o citoplasma, onde irá fornecer acetil-CoA para o início da síntese de ácidos graxos. Ao mesmo tempo, o citrato funciona também como um regulador da atividade de duas enzimas citoplasmáticas: a **acetil-CoA carboxilase**, que se polimeriza na presença de citrato, se tornando ativa; e a **fosfofrutocinase (PFK)**, enzima da glicólise, que é inibida por citrato. A inibição da PFK permite o acúmulo de glicose-6P, que pode, então, seguir pela via das pentoses-fosfato. Para compreender e integrar melhor todas estas informações, observe com cuidado o esquema mostrado na **Figura 24.5**.

Se você tiver dificuldade de acompanhar esta parte, volte à aula que trata da síntese de ácidos graxos e relembre os principais pontos abordados.

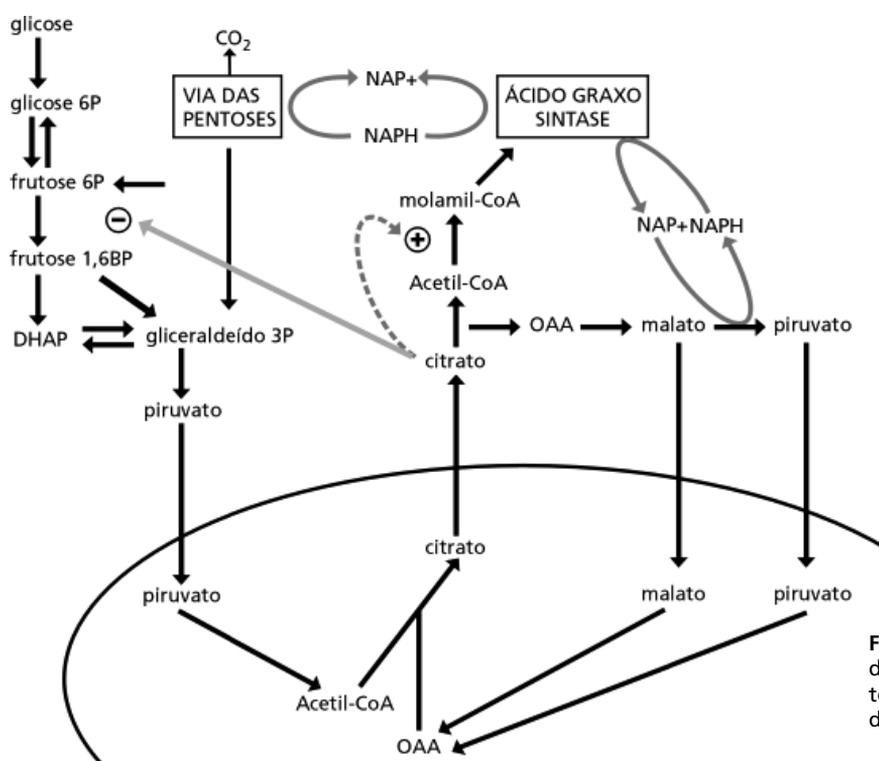


Figura 24.5: Integração da via das pentoses-fosfato à glicólise e à síntese de ácidos graxos.

A VIA DAS PENTOSSES EM DIFERENTES TECIDOS E DIFERENTES SITUAÇÕES FISIOLÓGICAS

Os principais produtos da via das pentoses-fosfato são NADPH e ribose-5P. As reações das enzimas transaldolases e transcetolases servem para converter o excesso de ribose-5P em intermediários da glicólise, quando há mais requerimento de NADPH do que de ribose-5P. A frutose-6P e o gliceraldeído-3P podem seguir a via glicolítica, sendo completamente oxidados. Isto ocorre quando há predominância da síntese de ácidos graxos na célula em relação ao requerimento de nucleotídeos, nos principais tecidos que realizam a síntese de ácidos graxos, como o fígado, as glândulas mamárias em lactação e tecido adiposo, ou em tecidos que sintetizam hormônios esteróides (que são lipídeos), como os testículos ou o córtex da glândula adrenal. Por outro lado, o músculo, por exemplo, não realiza síntese de lipídeos, e não necessita, portanto de NADPH. Neste tecido, a ribose-5P necessária para a síntese de nucleotídeos é formada a partir de frutose-6P e gliceraldeído-3P, através das reações do ramo não-oxidativo da via das pentoses-fosfato, que ocorrem no sentido inverso.

Um outro tipo celular precisa muito da via das pentoses-fosfato: as hemácias. Estas células apresentam altos níveis de **glutathione**, um antioxidante fundamental para a proteção dos fosfolipídios de sua membrana frente a danos oxidativos. A síntese de glutathione depende de NADPH, fornecido pela via das pentoses. Por isso, a via das pentoses é muito ativa nas hemácias, garantindo a integridade destas células.

DEFICIÊNCIA NA GLICOSE-6P DESIDROGENASE

Quando algumas drogas aparentemente não perigosas, como drogas antimalária, antipiréticos ou antibióticos de sulfa, são administradas em alguns pacientes, uma anemia hemolítica aguda pode ocorrer após 48 a 96 horas. Isso pode acontecer devido a uma deficiência genética na enzima glicose-6P desidrogenase. Estas drogas atacam a membrana das hemácias, cuja integridade depende da manutenção da glutathione reduzida, que, por sua vez, depende do NADPH produzido na via das pentoses, como comentamos anteriormente. Assim, as hemácias de indivíduos com deficiência na glicose-6P desidrogenase não são capazes de se proteger da hemólise causada pelas drogas em questão.

RESUMO

As células usam NAD^+ nas reações oxidativas e NADPH nas biossínteses redutivas. O NADPH é sintetizado através de um caminho alternativo de oxidação da glicose, a via das pentoses-fosfato. Esta via pode ser dividida em duas fases: o ramo oxidativo e o ramo não-oxidativo. O ramo oxidativo tem como função a redução de NADP^+ para as reações de biossíntese, assim como a formação de pentoses-fosfato para a síntese de nucleotídeos, através da oxidação da glicose-6P. A velocidade desta via é determinada pela atividade da enzima glicose-6P desidrogenase, controlada basicamente pelos níveis de NADP^+ . A capacidade das enzimas de distinguirem NADH (que é essencialmente utilizado no metabolismo energético) de NADPH (utilizado essencialmente como poder redutor das reações biossintéticas) permite que as reações de síntese e de degradação sejam reguladas independentemente. O ramo não-oxidativo permite a conversão das pentoses formadas em intermediários da via glicolítica, possibilitando sua utilização em outras vias do metabolismo da célula.

EXERCÍCIOS

1. Em que tecidos a via das pentoses-fosfato pode ocorrer?
2. Imagine um hepatócito sintetizando ácidos graxos ativamente. De que maneira a via das pentoses-fosfato contribui para este processo e quais os produtos por ela gerados nesta situação?
3. As células musculares não realizam a síntese de ácidos graxos, mas podem precisar de nucleotídeos. A ribose-5P, um dos produtos da via das pentoses, é um dos componentes dos nucleotídeos. Explique como a ribose-5P é formada no músculo sem que haja produção concomitante de NADPH .
4. Qual é a importância da via das pentoses-fosfato nas hemácias?

objetivo

Degradação do glicogênio

AULA

20

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Compreender as vias de degradação do glicogênio.

Pré-requisitos

Ter compreendido a estrutura da célula vegetal (Aula 5) e ter pleno conhecimento da organização dos meristemas primários e secundários (Aula 6), bem como dos sistemas fundamental (Aula 8) e vascular – xilema (Aula 9).

INTRODUÇÃO

A **degradação do glicogênio** em glicose ou glicose-1P denomina-se **glicogenólise** e a **glicogênese** refere-se à **síntese do glicogênio**. Esses processos são de extrema importância em quase todos os tecidos, mas especialmente no fígado e nos músculos.

O fígado é o principal órgão para estocar o glicogênio. Em humanos bem alimentados, o conteúdo de glicogênio do fígado pode contribuir para cerca de 6% a 10% do peso seco deste órgão. Os músculos estocam uma quantidade menor, em torno de 1 a 2% do seu peso seco. Entretanto, como a massa muscular é maior do que a massa hepática, na maioria das pessoas o teor de glicogênio muscular pode corresponder a cerca de duas a quatro vezes o teor de glicogênio hepático. Veja a **Tabela 25.1**.

Tabela 25.1: Armazenamento de carboidratos em homens adultos normais (70 kg) (MURRAY, Robert K. et al. *Haper : Bioquímica*. 8. ed. São Paulo: Atheneu, 1998.)

Glicogênio hepático	4,0 %	72g ¹
Glicogênio muscular	0,7 %	245g ²
Glicogênio extracelular	0,1%	10g ³

¹ Peso do fígado = 1800g

² Massa muscular = 35 kg

³ Volume total = 10l

Os estoques de glicogênio hepático e muscular apresentam papéis diferentes. No músculo, o glicogênio serve como combustível para a síntese de ATP, enquanto o glicogênio do fígado funciona como uma reserva de glicose para a manutenção dos níveis sanguíneos desta substância. Os níveis de glicogênio hepático variam com a ingestão de alimento, acumulando altos níveis logo após a alimentação. Após 12 a 18 horas de jejum, o fígado torna-se quase totalmente desprovido de glicogênio (veja a **Figura 25.1**), já o glicogênio do músculo só diminui após exercício vigoroso prolongado. As reservas de glicogênio hepático são, portanto, úteis para o intervalo entre as refeições.

Elas mantêm-se um pouco mais elevadas para atender o jejum noturno.

O glicogênio do músculo é uma fonte de ATP para aumentar a atividade muscular. A maioria da glicose do glicogênio muscular é consumida dentro das células musculares sem a formação de glicose livre como intermediário.

O glicogênio do fígado é convertido em glicose para que esta alcance a corrente sangüínea no momento de jejum. A conversão de glicose em glicogênio no músculo é mais importante do que a glicogênese hepática para diminuir os níveis de glicose sangüínea após as refeições.

Os grânulos de glicogênio são abundantes no fígado de animais bem alimentados, mas são bem reduzidos no fígado de animais após 24 horas de jejum. Veja a **Figura 25.1**. Exercícios intensos causam a mesma perda de glicogênio muscular. Os grânulos de glicogênio correspondem a agregados de moléculas de glicogênio e possuem massa molecular em torno de 2×10^7 Da.

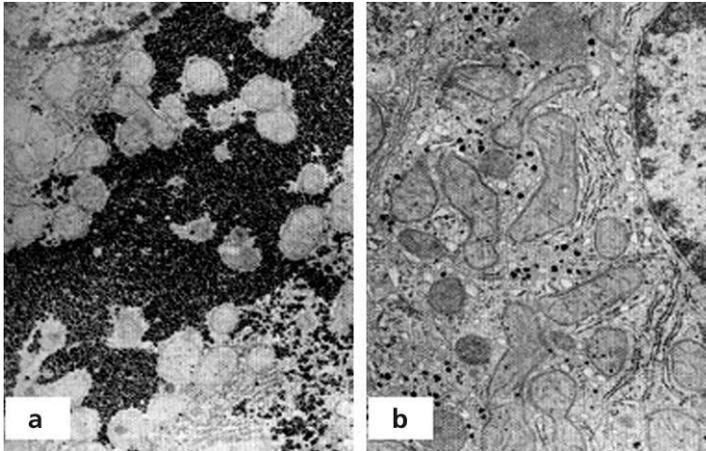


Figura 25.1: Micrografia eletrônica mostrando grânulos de glicogênio (pontos pretos) no fígado de um rato bem alimentado (a) e a ausência relativa de tais grânulos no fígado de um rato em jejum por 24 horas (b). (DEVLIN, Thomas M. *Textbook of Biochemistry : with clinical correlations*. 4.ed. New York: Wiley-Liss, 1997.)

A figura foi originalmente fornecida pelo Dr. Robert R. Cardell do Department of Anatomy at the University of Cincinnati.

GLICOGENÓLISE

A glicogênio fosforilase catalisa a primeira etapa da degradação do glicogênio

A glicogênio fosforilase catalisa a fosforólise (clivagem pela entrada de um fosfato) do glicogênio, uma reação na qual um Pi é usado na clivagem de uma ligação α -1,4-glicosídica para render glicose 1-fosfato (Figura 25.2). Essa clivagem sempre ocorre no terminal não-redutor da molécula de glicogênio.

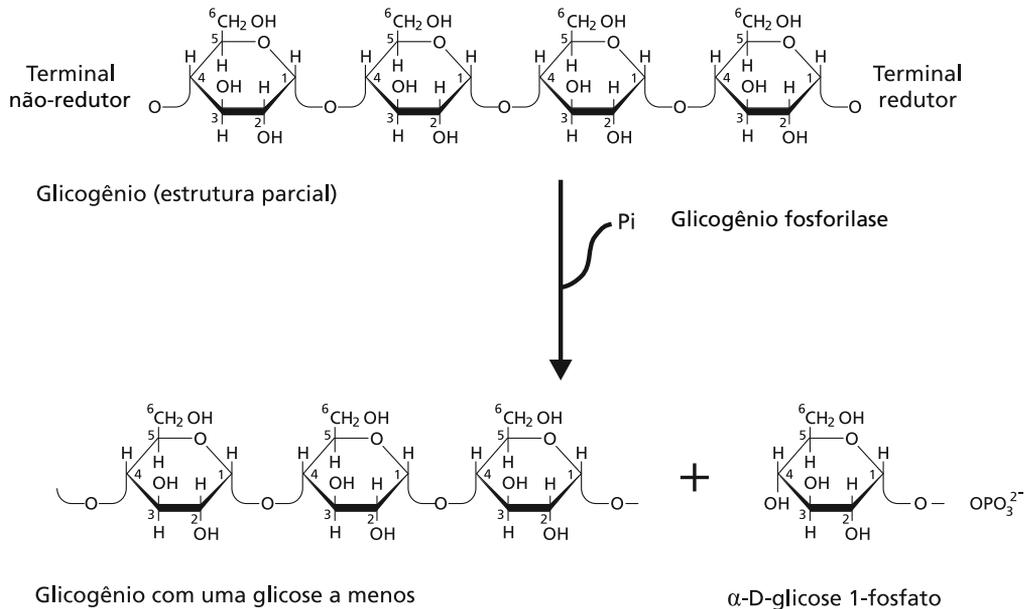


Figura 25.2: Reação catalisada pela glicogênio fosforilase.

A próxima etapa da degradação do glicogênio é catalisada pela enzima fosfoglicomutase, uma enzima que transfere o fosfato da posição 1 da molécula de glicose 1-P para a posição 6, formando uma molécula de glicose 6-P. Essa reação permanece próxima ao equilíbrio em condições celulares, permitindo que ela ocorra tanto no sentido de formação de glicose 1-P (quando a síntese de glicogênio é necessária) ou no sentido de formação de glicose 6-P quando há necessidade glicose na corrente sanguínea ou quando a glicólise para a produção de energia é necessária (Figura 25.3).



Figura 25.3: Reação catalisada pela enzima fosfo-glicomutase.

A próxima enzima envolvida na glicogenólise depende do tecido em consideração, veja a **Figura 25.4**. No fígado, a glicose-6-fosfato é hidrolisada em glicose e Pi. Desse modo a glicose liberada pode ser transportada da célula hepática para a corrente sanguínea e ser conduzida para diversos tecidos extra-hepáticos. O músculo não possui a enzima glicose-6-fosfatase; por isso a glicose-6-P formada é utilizada pela própria célula muscular. A **Figura 25.4** mostra um esquema da glicogenólise, destacando o destino dos produtos de degradação do glicogênio no fígado e nos tecidos periféricos. Note que o piruvato formado pode ser degradado em $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ (o que ocorre nos músculos que operam em aerobiose como o coração, por exemplo) ou em lactato, o que ocorre nos músculos que recebem menos oxigênio.

Como você deve se lembrar, pois foi visto em Bioquímica I, o glicogênio é uma molécula ramificada. A primeira enzima envolvida na degradação do glicogênio, a glicogênio fosforilase, é específica para ligações glicosídicas α -1,4. Entretanto ela deixa de atuar quando se aproxima (4 resíduos antes) dos pontos de ramificação (ligações glicosídicas α -1,6). A molécula residual da hidrólise do glicogênio pela enzima glicogênio fosforilase é denominada dextrina limite.

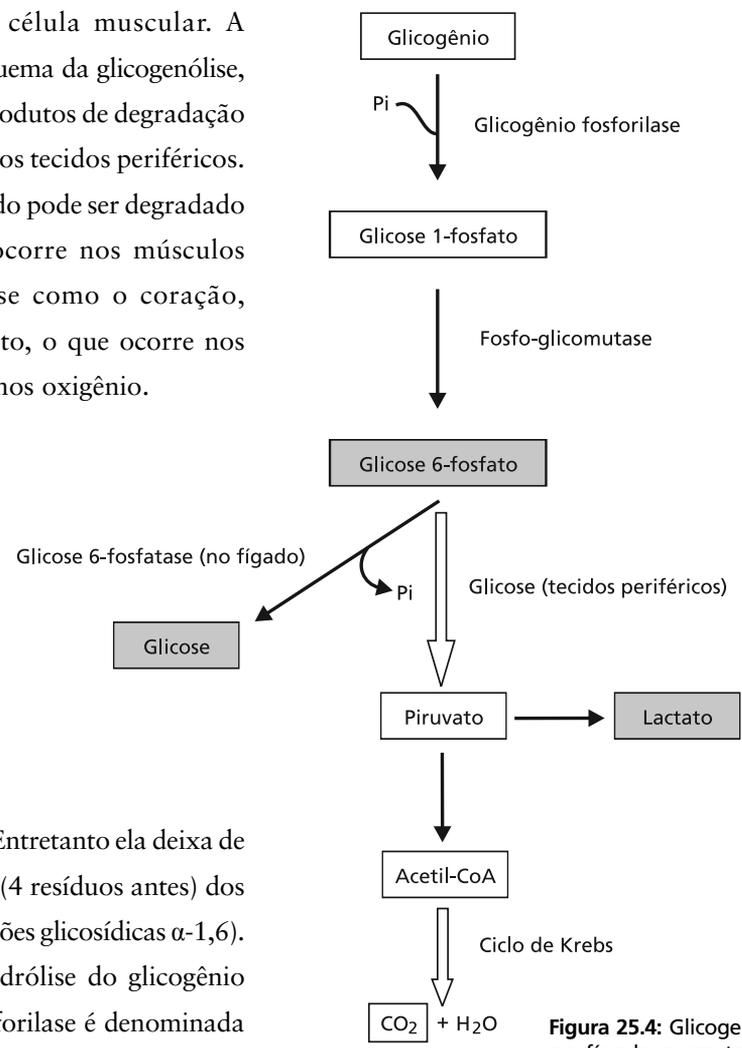


Figura 25.4: Glicogenólise no fígado e em tecidos periféricos.

Para que a clivagem dessa dextrina limite ocorra, faz-se necessária a ação de uma enzima desramificadora. A enzima desramificadora é uma enzima bifuncional, que catalisa duas reações necessárias para desramificar o glicogênio. A primeira ação é uma atividade 4- α -D-glicanotransferase na qual uma fita com três resíduos glicosil é removida do quarto resíduo a partir da ramificação da molécula de glicogênio (Figura 25.5). A fita permanece covalentemente ligada à enzima até que ela seja transferida para o grupo 4-hidroxil de um resíduo glicosil do terminal da mesma molécula de glicogênio ou de uma molécula adjacente. O resultado é a formação de uma cadeia maior de amilose com somente um resíduo

glicosil permanecendo em uma ligação α -1,4. Essa ligação é clivada pela segunda ação da enzima desramificadora, que é uma atividade amilo- α -1,6 glicosidase. A ação cooperativa entre a glicogênio fosforilase e a enzima desramificadora resulta em

completa fosforólise e hidrólise do glicogênio. As doenças de estoque de glicogênio ocorrem quando uma dessas enzimas é deficiente.

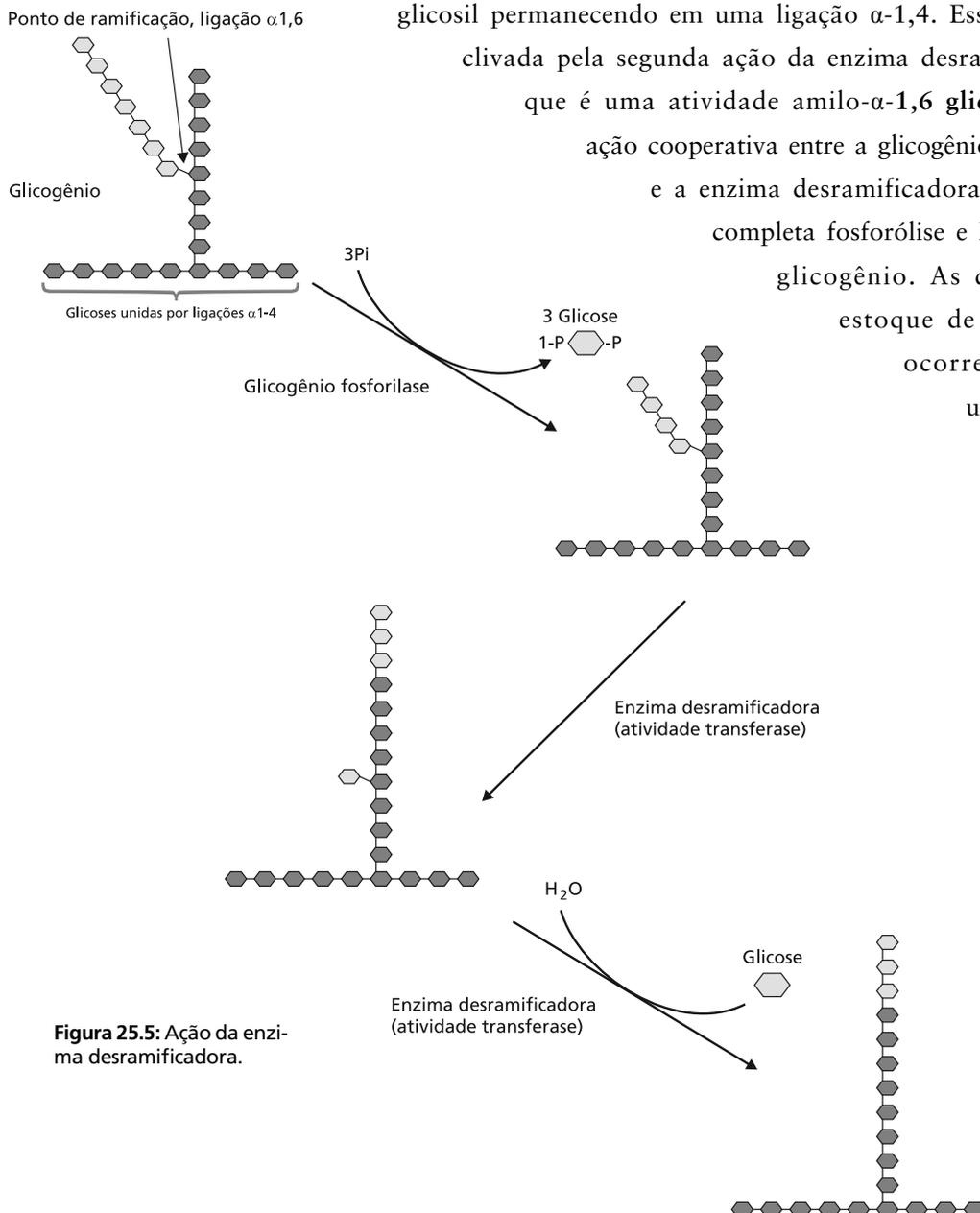


Figura 25.5: Ação da enzima desramificadora.

RESUMO

A degradação dos estoques de glicogênio (glicogenólise) ocorre através da ação da glicogênio fosforilase. A ação desta enzima é remover fosforoliticamente um resíduo de glicose a partir da quebra de uma ligação $\alpha 1,4$ da molécula de glicogênio. O produto desta reação é a glicose-1-fosfato.

A glicose-1-fosfato produzida pela ação da fosforilase é convertida em glicose-6-fosfato pela fosfoglicomutase.

A conversão de glicose-6-fosfato em glicose, que ocorre no fígado, rim e intestinos, pela ação da glicose 6-fosfatase, não acontece no músculo esquelético devido à falta desta enzima. No fígado, a ação desta enzima conduz a glicogenólise para geração de glicose livre e a manutenção da concentração desta no sangue.

A fosforilase não remove resíduos de glicose a partir das ligações $\alpha 1,6$ do glicogênio. A atividade da fosforilase cessa a quatro resíduos de glicose do ponto de ramificação. Para a remoção de glicose destes pontos é necessária a ação da enzima desramificadora (também conhecida por glucan transferase), que contém duas atividades: glicotransferase e glicosidase. A atividade de transferase remove um bloco de três grupamentos glicosil de uma ramificação para outra. A glicose em uma ligação $\alpha 1,6$ da ramificação é removida pela ação da glicosidase. Teoricamente, a glicogenólise ocorre no músculo esquelético e pode gerar alguma glicose livre para entrar na corrente sanguínea. No entanto, a glicose livre é imediatamente fosforilada e entra na via glicolítica para produzir ATP quando a demanda energética é baixa.

Os exercícios referentes às Aulas 25, 26 e 27 serão propostos após a Aula 27.

AULA 21

Biossíntese do glicogênio

objetivo

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Compreender as vias de biossíntese do glicogênio.

Pré-requisito

É fundamental rever os assuntos ligados à estrutura e função dos carboidratos, abordados nas Aulas 32, 33 e 34 de Bioquímica I.

INTRODUÇÃO

Em diversos organismos, o excesso de glicose é convertido em formas poliméricas para fins de estoque e em dissacarídeos para fins de transporte. Como você aprendeu em Bioquímica I, **a principal forma de estoque de glicose em vertebrados e em microorganismos é o glicogênio**, enquanto em plantas é o amido. Em vertebrados, a própria glicose é transportada no sangue; em plantas, a forma de transporte é a sacarose; e em insetos é a trealose.

Muitas das reações nas quais as hexoses são transformadas ou polimerizadas envolvem nucleotídeos ligados a açúcares, compostos nos quais o carbono anomérico do açúcar é ativado pela ligação do nucleotídeo, através de uma ligação fosfo-diéster. Assim, os açúcares-nucleotídeo são os substratos para a polimerização dos monossacarídeos em dissacarídeos e polissacarídeos.

A BIOSÍNTESE DO GLICOGÊNIO ENVOLVE UM NUCLEOTÍDEO ESPECIAL DA GLICOSE

A glicose é fosforilada a glicose 6-fosfato (=glicose 6-P), uma reação que é comum à primeira reação da via glicolítica. Esta reação é catalisada pela **hexoquinase** no **músculo** e pela **glicoquinase** no **fígado**. Então a **glicose 6-P** é convertida em **glicose-1-P** na reação catalisada pela **fosfoglicomutase**. Esta enzima, a fosfoglimutase, é fosforilada e o grupo fosfato participa na reação reversível em que a glicose-1,6-bifosfato é um intermediário da reação. Veja a reação abaixo:



A seguir, a **glicose 1-P** reage com a **uridinatrifosfato (UTP)** para formar o nucleotídeo ativo, a **uridina-difosfato-glicose (UDPGlicose, ou UDPGlc)**. Essa reação é catalisada pela enzima **UDP-Glc-pirofosforilase**. Veja a estrutura da UDPGlicose na **Figura 26.1**. Observe a reação:

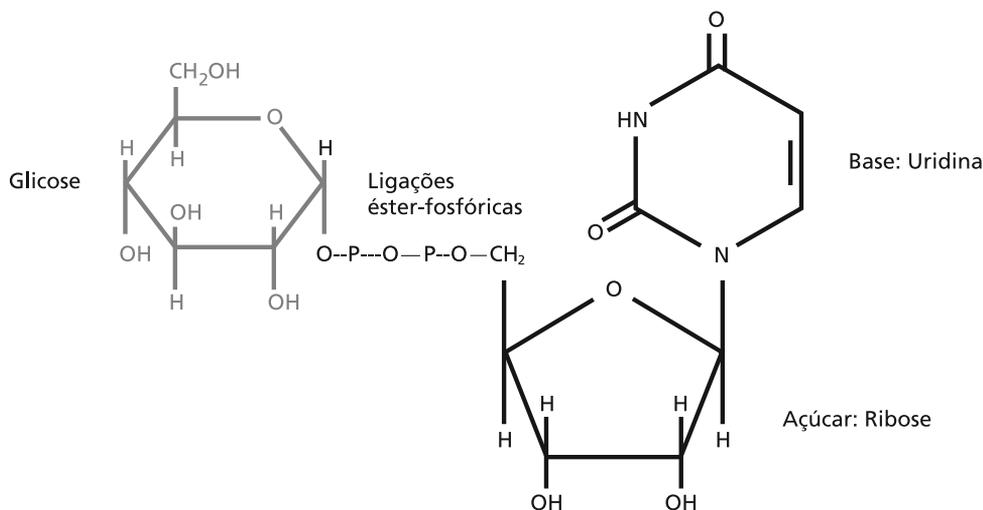


Figura 26.1: Estrutura da UDP glicose (Uridina difosfato – glicose).

A **hidrólise** subsequente do pirofosfato inorgânico (**PPi**) pela **pirofosfatase inorgânica** desloca o equilíbrio da reação para a direita da equação.

Pela enzima **glicogênio sintase**, o carbono 1 da glicose ativada, **UDPGlc**, forma uma **ligação glicosídica** com o carbono 4 da glicose **terminal do glicogênio** que está sendo formado, liberando uma uridina difosfato (**UDP**). Um resumo da via de síntese do glicogênio é apresentado na **Figura 26.2**. Uma molécula de **glicogênio preexistente**, ou *primer* de glicogênio, deve estar presente para iniciar a reação.

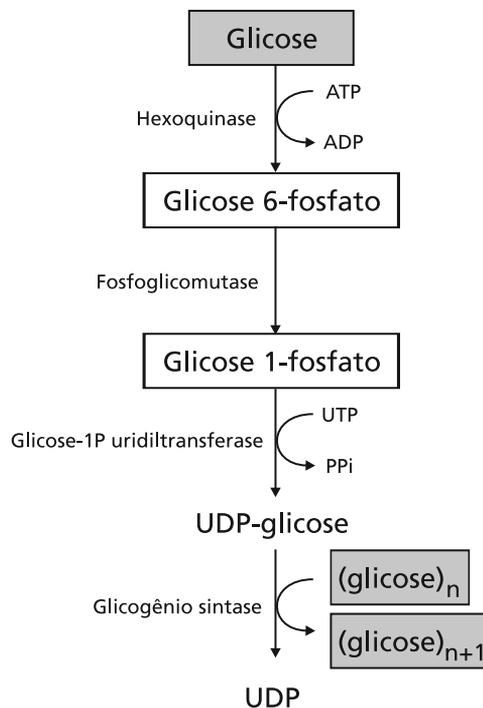


Figura 26.2: Via de síntese do glicogênio.

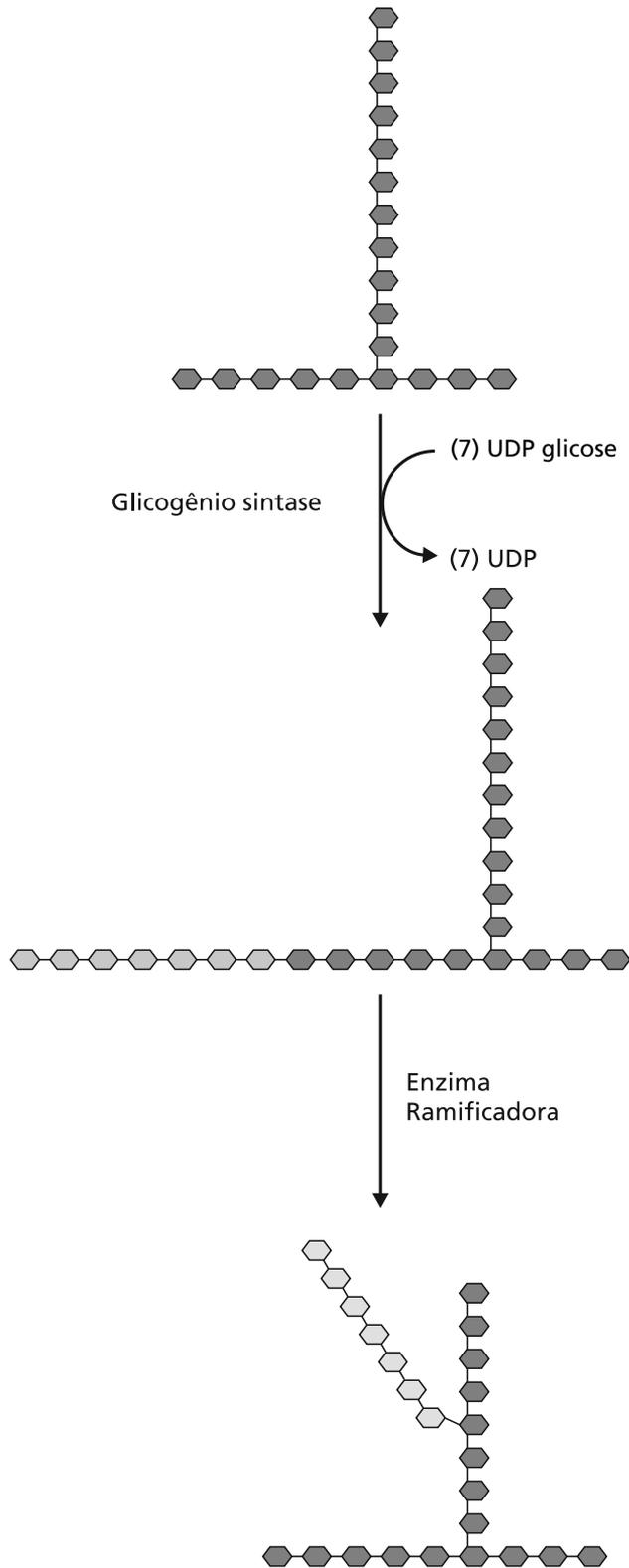


Figura 26.3: Ação da enzima ramificadora.

RESUMO

- A síntese do glicogênio a partir da glicose é executada pela **glicogênio sintase**. Esta enzima utiliza como substratos: a **UDP glicose** e o estado final não reduzido do glicogênio com outro substrato.
- A ativação de glicose, para ser usada pela síntese de glicogênio, é executada pela UDP glicose-pirofosforilase. Esta enzima troca o fosfato do carbono-1 da glicose-1-fosfato por UDP. A energia da ligação fosfoglicosil da UDP glicose é utilizada pela glicogênio-sintase para catalisar a incorporação de glicose em uma molécula preexistente do glicogênio. A molécula de UDP é subsequentemente liberada da enzima. As ramificações α -(1,6) na glicose são formadas pela ação da amilo-(1,4-1,6)-transglicosilase, também designada por enzima de ramificação. Esta transfere um fragmento terminal dos resíduos 6-7 da glicose (de um polímero de no mínimo 11 resíduos de glicose) para um resíduo interno na posição hidroxil C-6.
- A glicogenina, uma proteína de 37 kDa, atua como um *primer* para a síntese do glicogênio.

Detalhes sobre as Aulas 25 e 26 podem ser obtidos no *site*:

<http://www.icb.ufmg.br/~lbcd/prodabi3/grupos/grupo5/grupo5.html>

Regulação do metabolismo do glicogênio

AULA

22

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Aprender sobre as vias de regulação do metabolismo de glicogênio.
- Reforçar os conceitos adquiridos sobre regulação alostérica, regulação por modulação covalente e regulação hormonal.

Pré-requisito

Conhecimentos adquiridos nas Aulas 2, 3, 25 e 26 de Bioquímica II.

INTRODUÇÃO

Na Aula 25 você viu uma figura (25.1) que comparava os grânulos de glicogênio, presentes no citosol de um hepatócito de rato bem alimentado, com os grânulos existentes em um hepatócito de um rato em jejum. Você aprendeu, nas Aulas 25 e 26, que a degradação do glicogênio e a sua síntese ocorrem próximo a estes grânulos, e, portanto, no citosol. Assim, podemos deduzir que as duas enzimas chaves do metabolismo do glicogênio, a glicogênio fosforilase e a glicogênio sintase, estejam distribuídas no citosol.

Agora pensemos juntos...

Durante a degradação do glicogênio liberamos glicose-1-fosfato pela ação da glicogênio fosforilase; esta molécula é usada na síntese do glicogênio, pela ação da glicogênio sintase. Uma célula precisa, portanto, de sistemas de regulação muito aprimorados para impedir a realização de ciclos fúteis, ou seja, reações que aparentemente não conduziriam a lugar algum. Neste caso, a glicose 1-P gerada na degradação do glicogênio para atender a necessidade de aumento dos níveis de glicose sangüínea ou para alimentar a via glicolítica poderia ser imediatamente utilizada para repor as reservas de glicogênio. Para impedir tal ciclo fútil, nosso organismo desenvolveu mecanismos de controle simultâneos para cada uma destas duas enzimas. São estes mecanismos que serão abordados nesta aula.

REGULAÇÃO DA GLICOGÊNIO FOSFORILASE

Como você deve ter aprendido na Aula 25, a glicogênio fosforilase degrada glicogênio para gerar glicose quando os níveis desta, na corrente sanguínea, estão baixos. Assim, utilizamos glicogênio durante o jejum (como, por exemplo, no intervalo entre as refeições) ou ainda quando necessitamos de energia. Um indicativo para a célula de que a demanda energética está baixa pode ser visualizado por aumentos nos níveis de AMP ou por decréscimo na concentração de ATP. Em função destas observações, é fácil compreendermos que a **glicogênio fosforilase** esteja sujeita à **ativação alostérica por AMP cíclico** e à **inibição por glicose e ATP**. Além da regulação alostérica, a glicogênio fosforilase está sujeita também a uma regulação por modulação covalente.

A **glicogênio fosforilase** existe em uma forma “a”, **ativa**, e em uma forma “b” que é **inativa**. Estas formas são **interconvertidas** pela ação das enzimas **glicogênio fosforilase quinase** e **fosfo proteína fosfatase**. A primeira enzima catalisa a adição de um fosfato na enzima glicogênio fosforilase (lembre-se de que toda enzima classificada como quinase catalisa reações de fosforilação), enquanto a fosfo-proteína fosfatase retira este fosfato adicionado. Você pode então observar que a **glicogênio fosforilase quinase ativa a glicogênio fosforilase**, e a **fosfo-proteína fosfatase inibe a glicogênio fosforilase**. Essas reações de fosforilação ou de desfosforilação (um tipo particular de modulação covalente) promovem mudanças conformacionais na glicogênio fosforilase, que têm como conseqüências a transformação da enzima para um estágio catalítico mais ativo, quando fosforilada, ou um estágio catalítico menos ativo, quando desfosforilada. Observe um resumo destas informações na **Figura 27.1**.



Se você teve dúvida sobre o que é regulação alostérica e regulação por modulação covalente, leia novamente a Aula 3.

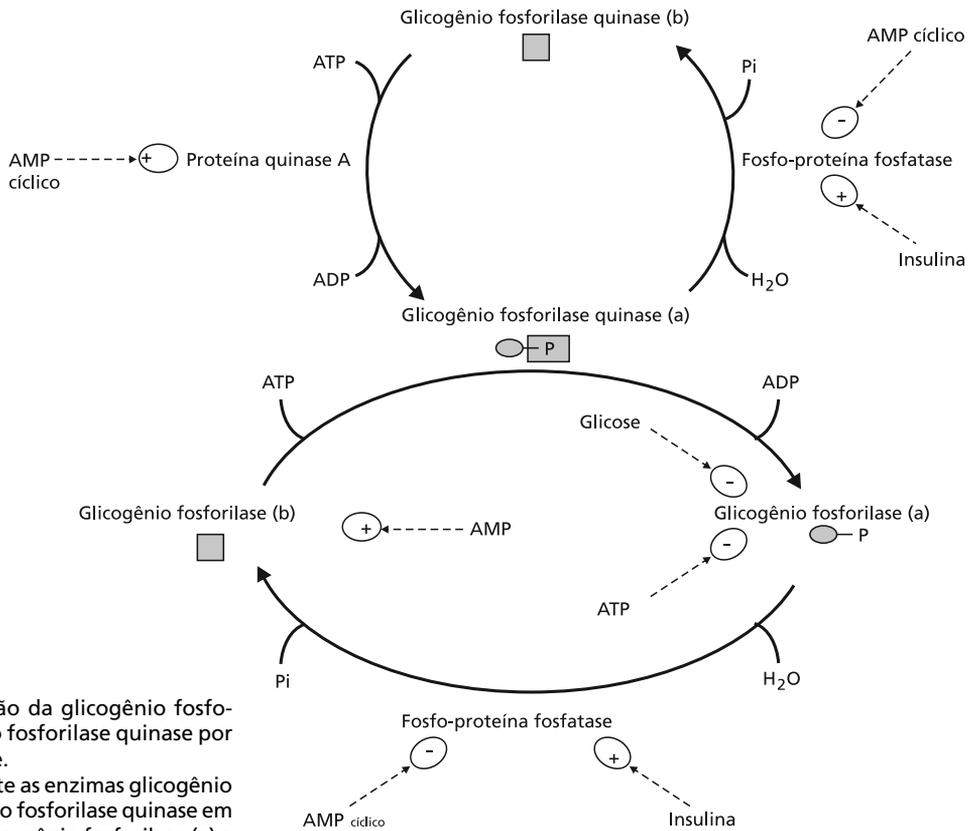


Figura 27.1: Regulação da glicogênio fosforilase e da glicogênio fosforilase quinase por modulação covalente. A fosforilação converte as enzimas glicogênio fosforilase e glicogênio fosforilase quinase em suas formas ativas: glicogênio fosforilase (a) e glicogênio fosforilase quinase (a).

A enzima **glicogênio fosforilase quinase** catalisa a reação de **adição de um fosfato**, doado pelo ATP, à enzima **glicogênio fosforilase**, sendo, portanto, responsável pela ativação desta última enzima. Entretanto, a **glicogênio fosforilase quinase** está também sujeita à regulação por uma **proteína quinase A**. Olhe novamente para a **Figura 27.1** e observe estas afirmações. Você pôde reparar que a **glicogênio fosforilase quinase** também existe nas formas (a) e (b). A mudança da forma (b) para a forma (a) ocorreu após a fosforilação catalisada pela **proteína quinase**. Novamente o fosfato inorgânico (Pi) adicionado veio de uma molécula de ATP.

Agora pense comigo: “Se a **proteína quinase A** estivesse sempre ativa na célula, provavelmente ela **ativaria a glicogênio fosforilase quinase**, que por sua vez **ativaria a glicogênio fosforilase**. Com a **glicogênio fosforilase** ativa seria praticamente impossível estocar glicogênio.” Logo, com certeza, **deve haver um mecanismo** para **regular a proteína quinase A**, a enzima responsável por disparar o processo de regulação das duas outras enzimas; é este o mecanismo que estudaremos agora.

REGULAÇÃO DA PROTEÍNA QUINASE A

A proteína quinase A é formada por quatro cadeias polipeptídicas, ou seja, é um tetrâmero com duas subunidades reguladoras e duas subunidades catalíticas que se encontram associadas, quando a enzima está na forma inativa. Quatro moléculas de AMP cíclico (adenosina mono-fosfato cíclica – cAMP) se ligam às subunidades reguladoras, sendo duas por subunidade. Após a associação das moléculas de AMP cíclico às subunidades reguladoras, as duas subunidades catalíticas são liberadas, expondo seus sítios ativos. Neste caso dizemos que a proteína quinase foi então ativada. Veja a **Figura 27.2**.

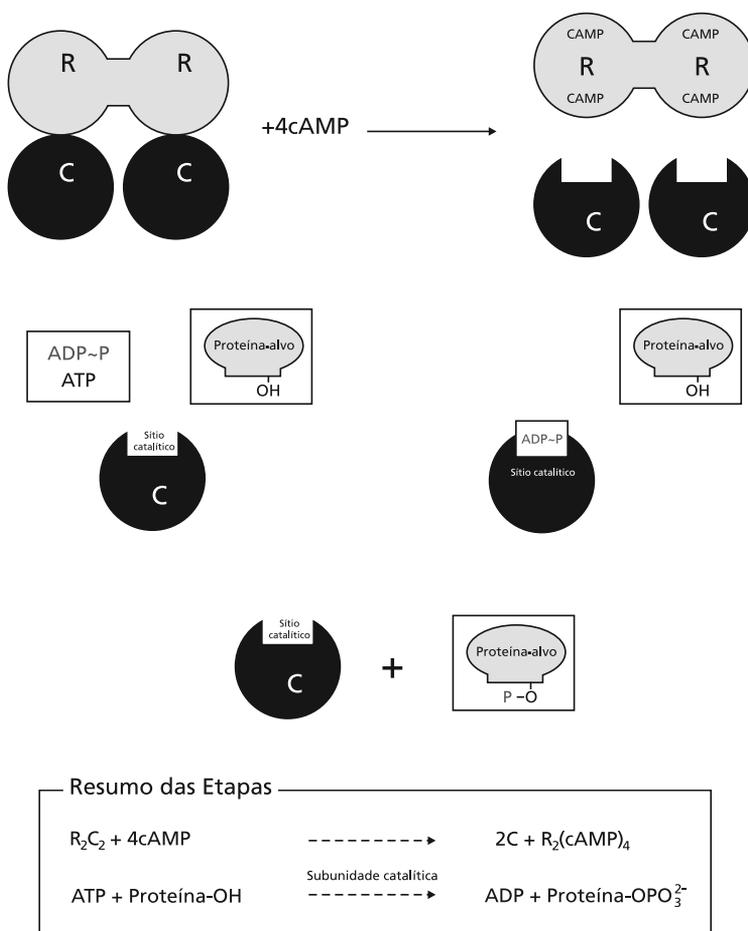


Figura 27. 2: Ativação da proteína quinase.

Todo o processo de ativação estaria resolvido se você soubesse quem é a molécula AMP cíclico e como ela é formada. Vamos então conhecer o processo de formação do **AMP cíclico**, uma molécula conhecida como um **segundo mensageiro celular**.

FORMAÇÃO DO AMP CÍCLICO

Antes de falarmos exatamente sobre a formação do AMP cíclico é importante que você relembre as situações metabólicas nas quais um organismo necessita utilizar suas reservas de glicogênio. Duas são as principais situações: a primeira é no intervalo entre as refeições, onde o glicogênio hepático é consumido para manter os níveis da glicose sangüínea em valores normais; a segunda ocorre nos momentos em que o organismo precisa de energia para movimentos, como por exemplo durante o exercício, ou em uma situação de alerta. No primeiro caso, normalmente o sinal endógeno é queda nos níveis de glicose sangüínea, situação à qual o organismo responde liberando o hormônio glucagon; no segundo caso o hormônio adrenalina é liberado. Os hormônios glucagon e adrenalina são, portanto, os primeiros mensageiros. Estes hormônios são liberados na circulação, se dirigem aos órgãos- alvos, mas não podem atravessar a membrana celular. Assim, glucagon e adrenalina se ligam aos receptores presentes no fígado, no caso do glucagon, e no músculo, no caso da adrenalina. Os receptores de membrana estão associados a uma proteína que pode se ligar ao nucleotídeo guanosina trifosfato (proteína G). Após esta ligação, a proteína G se desloca através da membrana e ativa uma enzima, a adenilato ciclase, que se encontra associada a esta membrana. A adenilato ciclase converte ATP em AMP cíclico no citosol das células hepáticas e musculares. Veja a estrutura do AMP cíclico na Figura 27.3 e o seu processo de formação na Figura 27.4.

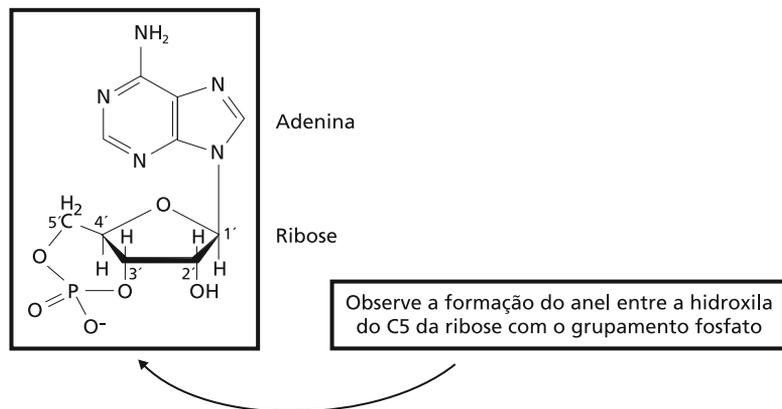


Figura 27.3: Estrutura da adenosina monofosfato (AMP Cíclico).

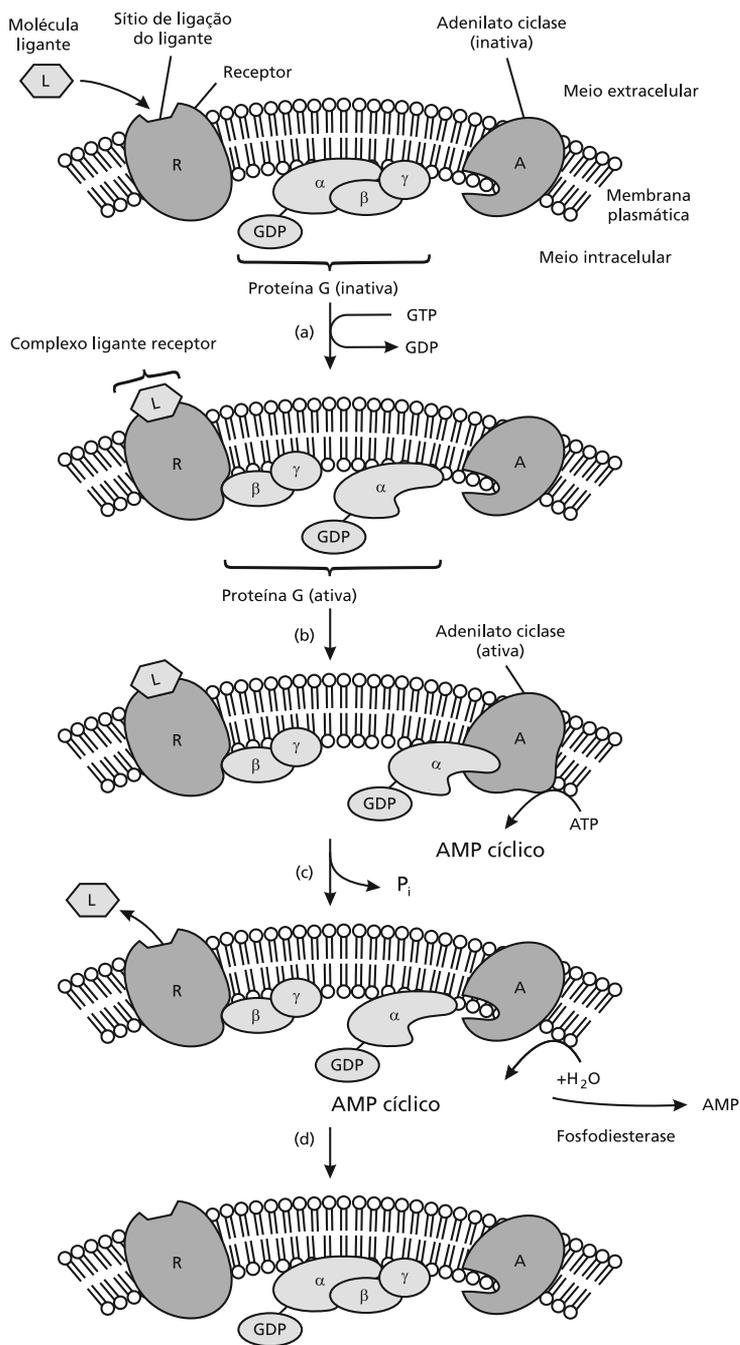


Figura 27.4: Processo de formação do AMP cíclico.

Para dar prosseguimento às reações catalisadas pela proteína quinase A, uma molécula de ATP se associa ao sítio catalítico que foi exposto em cada uma das duas subunidades, permitindo que a proteína a ser fosforilada receba um fosfato desta molécula de ATP. A **proteína quinase fosforilada se dissocia da subunidade catalítica** e está pronta para **ativar outras proteínas** no interior da célula. No caso em análise, a **proteína a ser fosforilada para ser ativada é a glicogênio fosforilase quinase**. Esta enzima catalisa a ativação da **glicogênio fosforilase** que atua diretamente sobre o **glicogênio**. Observe esta cascata de ativações na **Figura 27.5**.

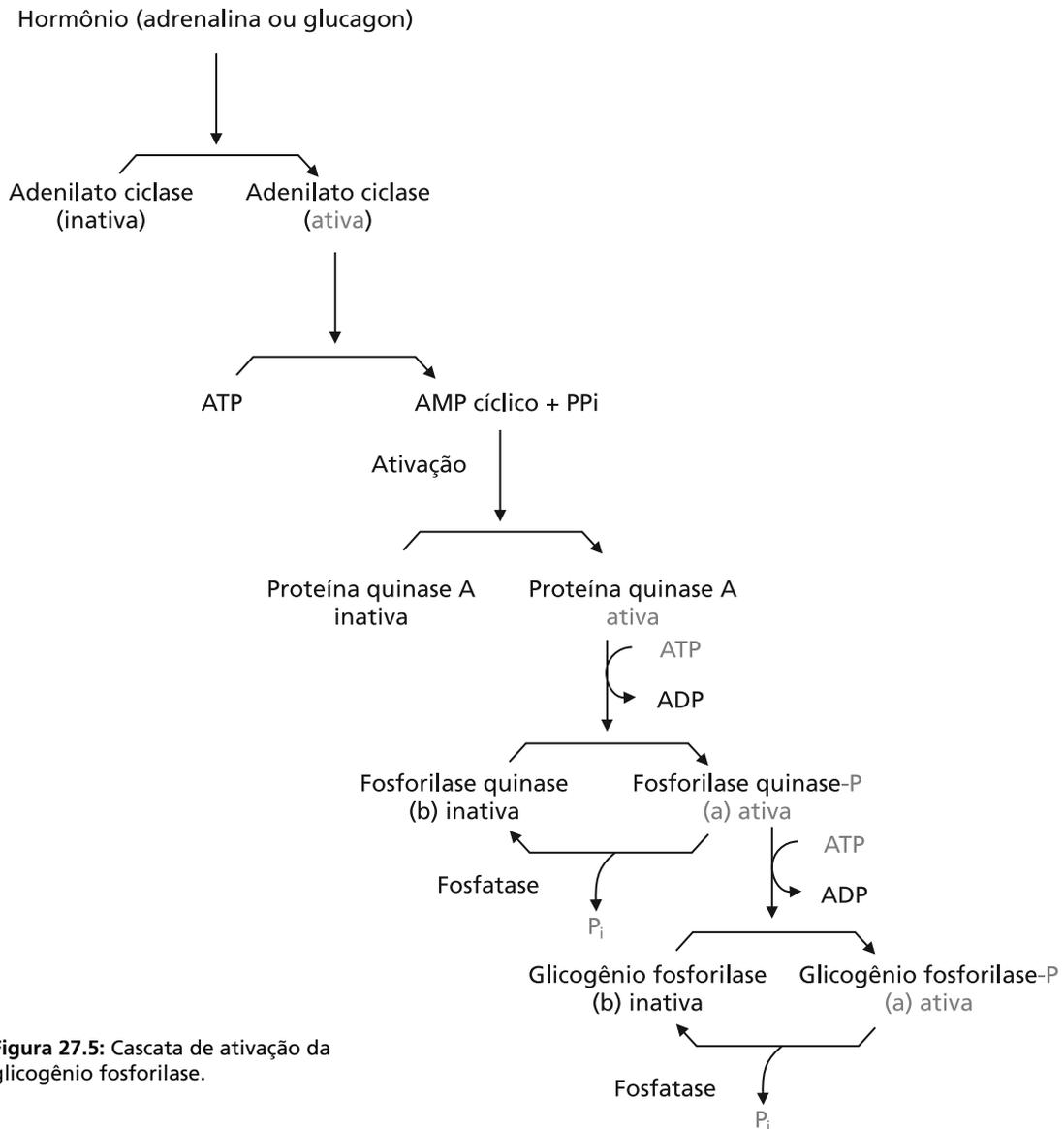


Figura 27.5: Cascata de ativação da glicogênio fosforilase.

REGULAÇÃO DA GLICOGÊNIO SINTASE

Bem, você já sabe que a glicogênio sintase catalisa a síntese da molécula de glicogênio e que usa os componentes que são gerados na degradação. Assim, a **glicogênio sintase deve ser ativada** no mesmo momento em que a **glicogênio fosforilase for inativada** para que ciclos de reação fúteis não ocorram na célula. Veja a forma eficiente que a célula adotou para solucionar esta situação: **a mesma proteína quinase que fosforila a glicogênio fosforilase quinase, ativando-a, fosforila a glicogênio sintase, tornando-a inativa.**

Podemos concluir então que os hormônios que dispararam o processo de ativação das enzimas envolvidas nas etapas de degradação do glicogênio, no caso o glucagon e a adrenalina, são capazes de inibir a enzima-chave do processo de biossíntese.

Se você observar cuidadosamente a parte inferior das Figuras 27.1 e 27.6, notará que o hormônio insulina ativa a fosfoproteína fosfatase, uma enzima que catalisa a hidrólise da ligação éster-fosfato de proteínas que foram fosforiladas, tanto glicogênio sintase quanto glicogênio fosforilase. Assim, a insulina é um hormônio que possui uma ação sobre o metabolismo do glicogênio, antagônica ao glucagon e à adrenalina. Ou seja, ela estimula os processos que levem à síntese do glicogênio.

Este hormônio é liberado pelo nosso organismo logo após as refeições para que os estoques de glicogênio sejam repostos. Este assunto será também abordado nas Aulas 30, 31 e 32.

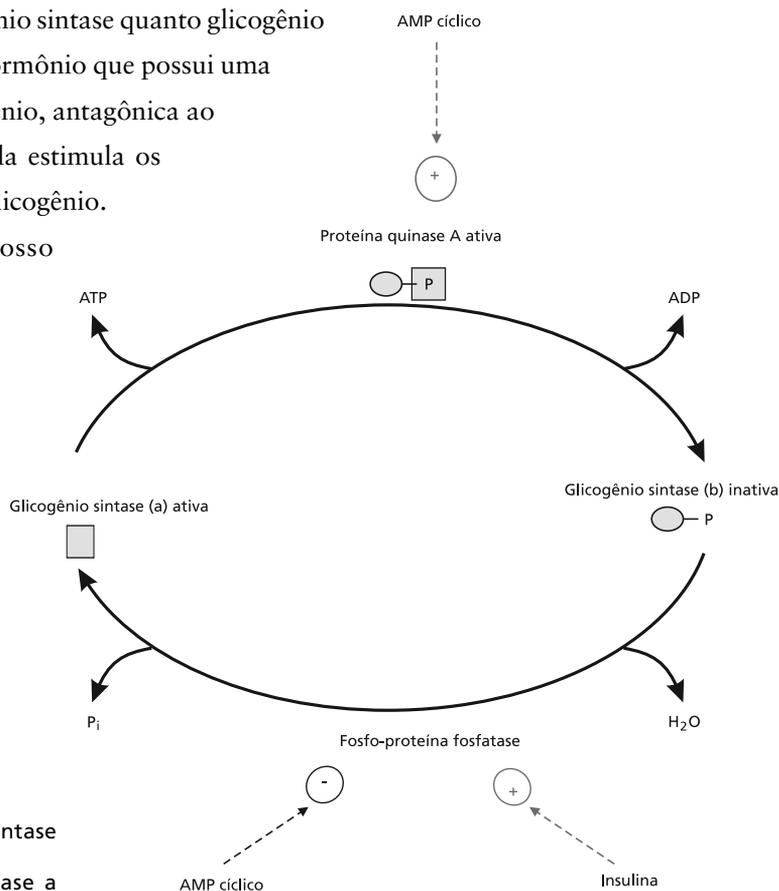


Figura 27.6: Regulação da glicogênio sintase por modulação covalente. A fosforilação converte glicogênio sintase a (ativa) em glicogênio sintase b (inativa).

RESUMO

- A degradação do glicogênio muscular ocorre quando a situação energética da célula é baixa, ou seja, quando os níveis de ATP estão baixos e os níveis de AMP estão elevados.
- O glicogênio hepático é utilizado no intervalo entre as refeições.
- A enzima chave do processo de glicogenólise é a glicogênio fosforilase. Esta enzima é regulada por efetores alostéricos, por modulação covalente do tipo fosforilação e por regulação hormonal.
- O AMP é um efetor positivo (ativador) da glicogênio fosforilase; já a glicose e o ATP são efetores negativos.
- A glicogênio fosforilase existe em duas conformações: uma inativa, desfosforilada, a forma b; uma forma ativa, fosforilada, a forma a. A enzima responsável por esta fosforilação é a glicogênio fosforilase quinase.
- A enzima glicogênio fosforilase quinase é ativada por uma cascata de reações disparada pelo aumento dos níveis de AMP cíclico dentro da célula.
- Os hormônios glucagon e adrenalina apresentam um mecanismo de ação mediado por AMP cíclico. São hormônios cuja ação final é acelerar o processo de glicogenólise.
- A insulina é um hormônio que ativa a fosfo-proteína fosfatase, a enzima que catalisa a reação de retirada de um fosfato da enzima glicogênio fosforilase, inativando-a. A insulina é, portanto, um hormônio que interrompe o processo de glicogenólise e ativa o processo de glicogênese.

A enzima chave do processo de glicogênese é a glicogênio sintase, a qual é regulada também por fosforilação. No entanto, de maneira oposta à glicogênio fosforilase, a glicogênio sintase é inibida por fosforilação. Ambas as enzimas estão presentes no citosol e necessitam da proteína quinase A para serem fosforiladas. Assim, o fato de a glicogênio fosforilase ser ativada por um mesmo processo que inativa a glicogênio sintase permitiu à célula coordenar processos de degradação e biossíntese do glicogênio, passando por intermediários comuns, dentro do mesmo compartimento celular.

EXERCÍCIOS REFERENTES ÀS AULAS 25, 26 E 27

1. Explique como as seguintes observações identificam o ponto de regulação da síntese de glicogênio no músculo esquelético.

a) A medida da atividade da glicogênio sintase no músculo em repouso, expressa em micromoles de UDP glicose usada por grama por minuto, é menor do que a atividade da fosfo glicomutase medida também como micromoles de substrato transformada por grama por minuto.

b) O estímulo da síntese de glicogênio leva a um decréscimo na concentração de glicose 6-fosfato, a um grande decréscimo na concentração de UDP glicose e a um substancial aumento de UDP.

Relacione as seguintes enzimas às situações apresentadas nas questões 2 a 5 (justifique cada resposta).

A- Glicogênio fosforilase

B- Enzima desramificadora

C- Proteína quinase

D- Adenilato ciclase

E- Glicose 6-fosfatase

2. Quando os níveis de glucagon sanguíneo aumentam, quais enzimas aumentam?

3. Qual enzima é bifuncional?

4. Qual enzima não está presente nos músculos mas está presente no fígado?

5. Qual enzima catalisa a retirada de uma molécula de glicose-1-P do glicogênio?

6. Quando os níveis de glicose são diminuídos há uma ativação da glicogênio fosforilase. Faça um esquema desse processo.

7. Discuta sobre o processo que permite a síntese do glicogênio.

8. A fosforilação ativa quais das seguintes enzimas?

(justifique cada resposta)

A- Glicogênio fosforilase.

B- Proteína quinase.

C- Fosforilase quinase.

D- Glicogênio sintase.

Introdução à gliconeogênese

AULA

23

objetivo

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Conhecer uma importante via metabólica que tem como função a manutenção dos níveis sanguíneos de glicose. Entretanto, o objetivo mais importante desta aula não será estudarmos em detalhe as reações que fazem parte desta via, mas sim começarmos a entender o metabolismo de nosso organismo de forma mais integrada.

Pré-requisito

Você deve ter acompanhado bem a matéria até agora, pois vai ser necessário retornar a vários pontos explorados anteriormente.

INTRODUÇÃO

Até agora, você conheceu diversos caminhos metabólicos responsáveis tanto pela degradação dos nutrientes com conseqüente síntese de ATP, como também pela síntese de macromoléculas fundamentais para o funcionamento das células e do organismo. Para terminarmos nosso curso, ainda precisamos estudar mais uma via metabólica, chamada **gliconeogênese**, que é o tema de nossas próximas aulas. Entretanto, faremos isso de uma forma um pouco diferente, pois usaremos o estudo desta via para começarmos a integrar todo o conhecimento adquirido até agora, de forma que você consiga construir uma visão de como funciona nosso corpo. Por isso, talvez, muitas vezes seja necessário voltar às aulas anteriores para consultas, o que você deve fazer sempre que sentir necessidade. Assim, esta parte da matéria também permitirá que você revise e sedimente vários pontos anteriormente estudados. Vamos começar com uma atividade que servirá para você relembra os principais aspectos relacionados à utilização de nutrientes pelo organismo e também para introduzir o tema da aula.

ESTUDOS SOBRE O JEJUM PROLONGADO

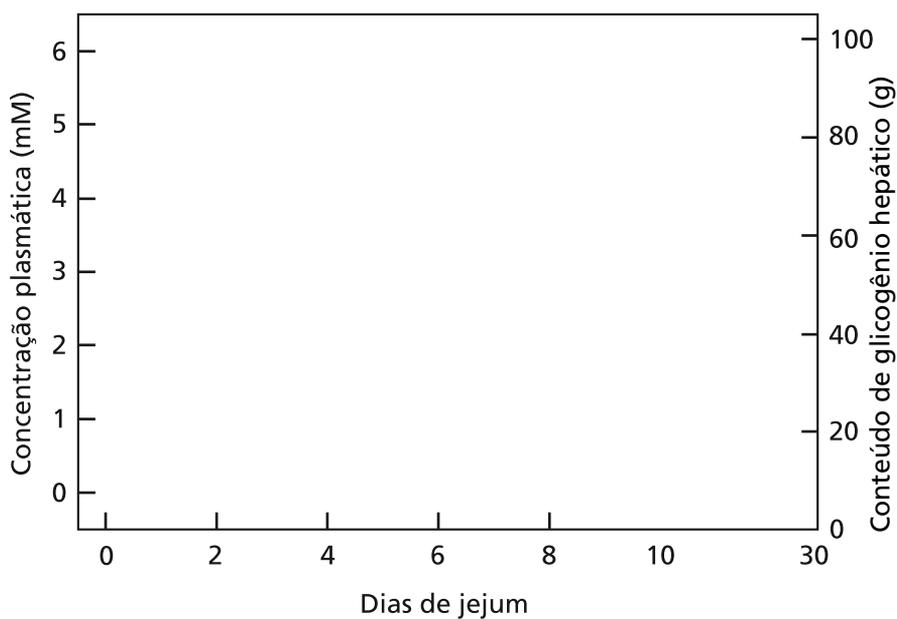
Na década de 1960, uma corrente da Medicina pregava que a melhor forma de tratar a obesidade era submeter os pacientes obesos a um jejum prolongado assistido. Com isso, muitos indivíduos se internaram por cerca de seis semanas, as quais passaram sem se alimentar. Além de promover de fato o emagrecimento dos pacientes, esse tipo de tratamento permitiu a obtenção de uma série de dados a respeito do comportamento do organismo em decorrência da falta de alimentação. Desta forma, o estudo do metabolismo durante o jejum possibilitou a compreensão de uma série de regulações e adaptações metabólicas essenciais para o entendimento do funcionamento do nosso corpo, mesmo em outras situações bem mais freqüentes.

Vamos, agora, observar a **Tabela 28.1**. Ela mostra algumas medidas obtidas a partir do acompanhamento dos pacientes obesos em tratamento.

Tabela 28.1: Variações das concentrações plasmáticas de glicose e ácidos graxos e do conteúdo de glicogênio hepático de um paciente em jejum prolongado.

	0	2 h	4 h	1 dia	3 dias	7 dias	8 dias	10 dias	28 dias
glicose] (mM)	5,5	5,4	5,0	4,4	3,8	3,6	3,5	3,8	3,6
[ácidos graxos] (mM)	0,3	0,35	0,4	0,5	1,18	1,15	1,58	1,36	1,44
Glicogênio hepático (g)	97	84	70	14	3	--	--	--	--

Tente construir, a partir dos dados apresentados na tabela, um gráfico que relacione o tempo em jejum com a concentração sanguínea de glicose e de ácidos graxos e com a quantidade de glicogênio no fígado.



Confira se o gráfico construído por você ficou igual ao gráfico mostrado na Figura 28.1.

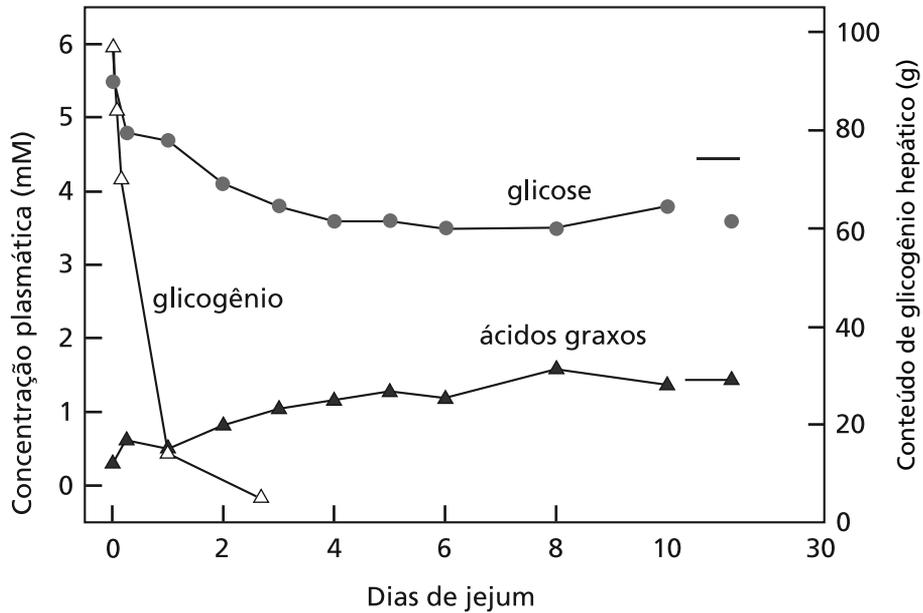


Figura 28.1: Variações das concentrações plasmáticas de glicose e ácidos graxos e do conteúdo de glicogênio hepático de um paciente em jejum prolongado.

VARIAÇÕES NA CONCENTRAÇÃO SANGÜÍNEA DE ÁCIDOS GRAXOS DURANTE O JEJUM

Vamos começar analisando o que ocorre com a concentração de ácidos graxos circulantes. Observando o gráfico, vemos que ocorre um aumento da concentração sangüínea dessas moléculas logo no início do jejum. Isso se dá, como já vimos na aula que trata da degradação dos ácidos graxos, devido à ativação da lipólise no tecido adiposo, resultando na hidrólise dos triacilgliceróis armazenados e na liberação, para a corrente sangüínea, de glicerol e ácidos graxos. Estes últimos passam a ser utilizados como fonte energética exclusiva pela maioria dos órgãos e tecidos, incluindo o fígado, os músculos e os rins. O aumento da lipólise ocorre pela ativação da enzima **lipase sensível a hormônio (LHS)** no tecido adiposo.

Até o momento ficou claro o motivo do aumento da concentração de ácidos graxos circulantes no início do jejum.

Mas, e após alguns dias? Vemos no gráfico que os níveis dessas moléculas se estabilizam, permanecendo constantes ao longo de todo o jejum. Como você explicaria essa observação? Será que o organismo de repente pára de usar os ácidos graxos?

Não. O motivo da estabilização é que, ao mesmo tempo em que está ocorrendo a hidrólise dos triacilgliceróis e a liberação de ácidos graxos do tecido adiposo, vários órgãos e tecidos estão consumindo esses nutrientes como fonte de energia. É o caso do fígado, dos músculos, do próprio tecido adiposo, dos rins etc. Por isso, ao longo de todo o jejum, os triacilgliceróis vão sendo consumidos, de forma que o tecido adiposo vai diminuindo e o indivíduo vai emagrecendo. Observe na **Tabela 28.2** a perda de peso de vários indivíduos submetidos ao jejum como forma de tratamento da obesidade na década de 1960.

Tabela 28.2: Caracterização dos indivíduos submetidos ao jejum prolongado.

Indivíduo	Idade (anos)	Sexo	Peso (kg)		
			Inicial	Final	Diferença
1	19	M	125,2	101,8	23,4
2	21	M	160,6	138,2	22,4
3	28	M	178,6	159,6	15,7
4	16	F	104,1	88,4	15,7
5	20	F	108,9	93,0	15,9

Agora que você entendeu bem a utilização dos ácidos graxos ao longo do jejum, podemos levantar uma outra questão.

Será que todas as nossas células estão usando os ácidos graxos como fonte de energia nessa situação?

Lembre-se de que as reações da β -oxidação dos ácidos graxos levam à produção de 1 NADH e 1 FADH₂ por cada dois carbonos retirados da cadeia do ácido graxo. Essas coenzimas reduzidas levam elétrons para a cadeia respiratória, contribuindo para a síntese de ATP. Além disso, as várias moléculas de acetil-CoA formadas também podem ser completamente oxidadas no ciclo de Krebs, gerando mais ATPs.

Para responder a essa pergunta, você precisa primeiro lembrar mais alguns aspectos relacionados à β -oxidação dos ácidos graxos. As enzimas que catalisam as reações dessa via se localizam na matriz mitocondrial, onde se encontra todo o aparato oxidativo da célula. Entretanto, nem todas as nossas células possuem mitocôndrias. O exemplo mais conhecido é o das hemácias, que perdem todas as suas organelas ao longo de seu amadurecimento. Podemos citar também algumas células do olho, que, por estarem envolvidas com a captação de luz, não podem conter muitas moléculas que absorvem luz na faixa do visível, como os citocromos, uma vez que estes poderiam interferir no processo da visão. Assim, estas células possuem pouquíssimas mitocôndrias.

Para tirar qualquer dúvida sobre fermentação consulte as Aulas 10 e 11.

Logo, essas células, por não possuírem mitocôndrias, não podem realizar a β -oxidação nem o metabolismo oxidativo, e sintetizam suas moléculas de ATP através do processo de fermentação láctica, cujo substrato é a glicose.

Mas não são apenas as células sem mitocôndrias que realizam o metabolismo anaeróbico, que são incapazes de utilizar os ácidos graxos como fonte de energia. As células do tecido nervoso se encontram isoladas por um tecido especializado, chamado **barreira hemato-encefálica**, que filtra o sangue antes que este atinja o cérebro. Os ácidos graxos, que circulam associados à albumina, não conseguem atravessar essa barreira, e, por isso, não chegam ao cérebro. Assim, o nutriente disponível para o metabolismo cerebral é a glicose.

Como você aprendeu em Bioquímica I, os lipídeos, por serem moléculas apolares, e, portanto, não solúveis em meio aquoso, circulam no sangue associados a proteínas, formando as lipoproteínas plasmáticas. Diferentes lipoproteínas são responsáveis pelo transporte dos lipídeos, dependendo da origem do lipídeo. Os lipídeos obtidos da alimentação circulam associados aos **quilomicrons**; os lipídeos sintetizados no fígado circulam associados às **LDL** ou **VLDL** (lipoproteína de densidade baixa ou muito baixa, respectivamente); os ácidos graxos liberados do tecido adiposo circulam associados à **albumina**.

VARIAÇÕES NA CONCENTRAÇÃO SANGÜÍNEA DE GLICOSE DURANTE O JEJUM

Vamos voltar ao nosso gráfico.

Agora que você já sabe que existem alguns tipos celulares que, por serem incapazes de usar os ácidos graxos, requerem a glicose como fonte de energia, tente explicar a curva de variação da concentração de glicose no sangue dos indivíduos em jejum.

Observe que, no início, a **GLICEMIA** cai um pouco. Entretanto, logo após esse período inicial de jejum, a concentração sangüínea de glicose se mantém estável.

De fato, a concentração sangüínea de glicose é sempre mantida dentro de limites bastante estreitos, independentemente de qual seja o consumo deste nutriente pelo organismo. Essa homeostase de glicose se dá devido a uma série de mecanismos reguladores, que vamos estudar em aulas mais à frente. Estes mecanismos são extremamente importantes, já que disfunções na capacidade de manter a glicemia levam a graves conseqüências: a diminuição acentuada dos níveis de glicose no sangue, mesmo que por períodos curtos, pode causar graves distúrbios no cérebro, e, se for prolongada, pode levar até à morte. E não é só durante o jejum que a glicemia é mantida constante. A hiperglicemia por longos períodos também provoca vários problemas metabólicos, como aqueles observados em quadros de diabetes. Estudaremos também este aspecto da homeostase de glicose em aulas mais à frente.

GLICEMIA

Concentração de glicose no sangue.

Mas como a glicemia é mantida?

Você já aprendeu que possuímos uma reserva de glicose armazenada no fígado: o **GLICOGÊNIO**, um polímero de glicose. A degradação do glicogênio hepático leva à liberação de glicose na corrente sangüínea. Poderíamos pensar, então, que a degradação do glicogênio hepático seria o mecanismo responsável pela manutenção da glicemia durante o jejum.

Será que isso é verdade?

Para tirar qualquer dúvida consulte a aula sobre a degradação de **GLICOGÊNIO**.

VARIAÇÕES NA QUANTIDADE DE GLICOGÊNIO HEPÁTICO AO LONGO DO JEJUM

Observe outra vez o gráfico que você construiu. O que ocorre com o glicogênio hepático do paciente em jejum?

Como você pode observar, a quantidade de glicogênio no fígado diminui rapidamente, se esgotando no primeiro dia do jejum. Assim, embora o glicogênio contribua para a manutenção da glicemia logo nos primeiros momentos, uma outra via é necessária após períodos maiores nos quais carboidratos não são ingeridos. Esta via é chamada **GLICONEOGÊNESE**, que significa “síntese da nova glicose”, e, nos mamíferos, ocorre no fígado e no córtex renal.

Não confunda as palavras **GLICONEOGÊNESE**, que quer dizer síntese (gênese) da nova (neo) glicose, com **glicogenólise**, que significa quebra ou degradação (lise) do glicogênio.

A VIA GLICONEOGÊNICA

Na década de 1930, um casal de pesquisadores chamados Carl e Gerti Cori, conhecidos como o casal Cori, começou a estudar a síntese de glicose por células hepáticas. Eles prepararam um homogeneizado de fígado, ou seja, bateram um fígado em uma espécie de liquidificador, de forma que todas as células eram rompidas, obtendo-se uma suspensão contendo todo o meio intracelular: organelas, enzimas, metabólitos etc. Colocaram esse homogeneizado em um tubo de ensaio e adicionaram lactato marcado radioativamente. Após um tempo, identificaram os compostos radioativos presentes no tubo de ensaio com o objetivo de determinar qual era o destino metabólico do lactato nas células hepáticas. Observaram que a radioatividade estava presente principalmente em moléculas de glicose. A conclusão desta experiência foi que **o lactato podia ser transformado em glicose no fígado**.

E como isso ocorria?

Já se sabia, na época, que o lactato podia ser convertido em piruvato através de reação reversível catalisada pela enzima **lactato desidrogenase**, presente em vários tipos celulares, inclusive no fígado.

Veja a reação na **Figura 28.2**:

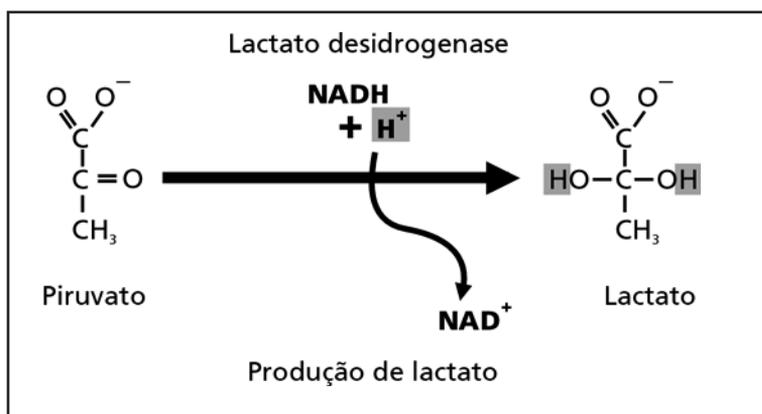


Figura 28.2: Reação catalisada pela enzima lactato desidrogenase.

Logo, o que estava de fato ocorrendo no homogeneizado preparado pelo casal Cori era a transformação de piruvato em glicose.

Esses achados levantavam a hipótese de que a via de formação de glicose, ou seja, a gliconeogênese, seria a inversão da via glicolítica, que, como você já sabe, converte a glicose em duas moléculas de piruvato. Entretanto, se observamos atentamente as reações da glicólise, podemos encontrar algumas que são irreversíveis nas condições fisiológicas. Veja a **Figura 28.3**, que contém as variações de energia livre de Gibbs (ΔG) envolvidas em cada reação da glicólise. Lembre-se de que quanto mais negativo forem os valores de ΔG , mais energia é liberada na reação, e, conseqüentemente, mais difícil será a sua inversão nas condições da medida.

A lactato desidrogenase apresenta isoformas expressas nos diferentes tecidos. Estas isoformas se diferenciam com relação ao seu K_M (levando a diferentes afinidades) para seus substratos. Por exemplo, a isoforma presente no músculo esquelético possui mais afinidade pelo piruvato do que pelo lactato. Por isso, quando o músculo entra em alta atividade, logo após um pequeno acúmulo de piruvato, que não pode ser completamente oxidado devido a um aporte insuficiente de oxigênio, o lactato é produzido. Por outro lado, a isoforma hepática tem maior afinidade pelo lactato, transformando este em piruvato quando sua disponibilidade aumenta.

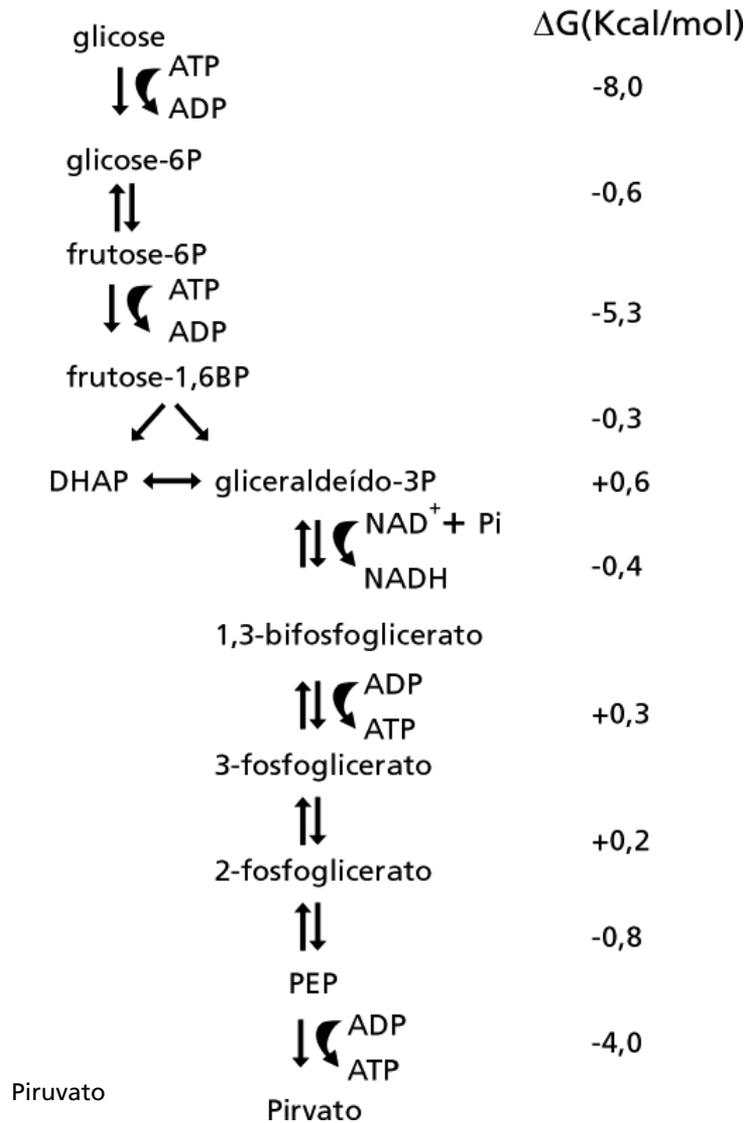


Figura 28.3: Resumo esquemático da via glicolítica mostrando os valores de ΔG (Kcal/mol) para cada uma das reações.

Analisando a **Figura 28.3**, podemos concluir que três reações da glicólise não podem ser revertidas nas condições fisiológicas: a conversão de glicose em glicose-6P, catalisada pela enzima **hexocinase**; a conversão de frutose em frutose-6P, catalisada pela enzima **fosfofrutocinase-1 (PFK-1)**; e a conversão de fosfoenolpiruvato (PEP) em piruvato, catalisada pela enzima **piruvato cinase**. Portanto, essas etapas devem ser contornadas por outras reações para que a gliconeogênese possa ocorrer. E é exatamente isso que ocorre! A glicose é sintetizada através das mesmas reações da glicólise, exceto pelas reações irreversíveis, que são contornadas por outras reações, como veremos na próxima aula.

RESUMO

Embora muitos órgãos e tecidos possam manter seus níveis de ATP essencialmente através da oxidação de ácidos graxos, alguns tipos celulares dependem exclusivamente ou preferencialmente da glicose como nutriente. Este é o caso do cérebro, das hemácias e de algumas outras células em menor número no organismo. Para a sobrevivência dessas células em situações nas quais a ingestão de carboidratos é baixa ou nula, é necessária a síntese de glicose a partir de precursores não-glicídicos, através de uma via metabólica chamada gliconeogênese.

A gliconeogênese pode ser considerada uma reversão parcial da via glicolítica, uma vez que várias reações da glicólise são usadas na síntese de glicose. As reações irreversíveis da glicólise, catalisadas pelas enzimas hexocinase, PFK-1 e piruvato cinase, são substituídas por reações diferentes, catalisadas por outras enzimas, na gliconeogênese.

EXERCÍCIOS

1. A homeostase de glicose é extremamente importante para nosso organismo. Um dos motivos é a existência de alguns tipos celulares que requerem exclusivamente ou preferencialmente a glicose como nutriente. Dê exemplos de células que se comportam assim e justifique a dependência que elas têm da glicose.
2. Justifique o emagrecimento de um indivíduo mantido em jejum.
3. Por que a gliconeogênese não pode ser uma simples reversão da glicose?

A via gliconeogênica

objetivo

- Na aula passada, você aprendeu que a manutenção da glicemia é extremamente importante para a nossa sobrevivência. Você aprendeu, também, que isso é possível graças à gliconeogênese, uma via metabólica responsável pela síntese de glicose a partir de precursores não glicídios. Essa via é uma reversão parcial da via glicolítica, já que as reações reversíveis da glicólise são usadas no sentido inverso para a síntese de glicose. Entretanto, reações adicionais são necessárias para que as reações irreversíveis da glicólise sejam contornadas. Hoje aprenderemos que reações são essas.

Pré-requisito

Para seguir bem esta aula, você deve estar com uma boa visão geral das seguintes vias metabólicas: glicólise, ciclo de Krebs, degradação de aminoácidos, síntese e degradação de ácidos graxos.

A CONVERSÃO DE PIRUVATO A FOSFOENOLPIRUVATO (PEP)

A primeira reação da glicólise que deve ser contornada é a conversão de fosfoenolpiruvato (PEP) a piruvato, catalisada pela enzima **piruvato cinase**. A formação de PEP a partir de piruvato envolve uma grande barreira energética, que para que seja superada necessita de duas etapas. Na primeira, o piruvato é convertido em oxalacetato, através da sua carboxilação, catalisada pela enzima **piruvato carboxilase**. Na segunda, o oxalacetato é convertido a PEP, através de reação catalisada pela enzima **PEP carboxicinase (PEPCK)**.

Veja um esquema dessas duas reações na **Figura 29.1**:

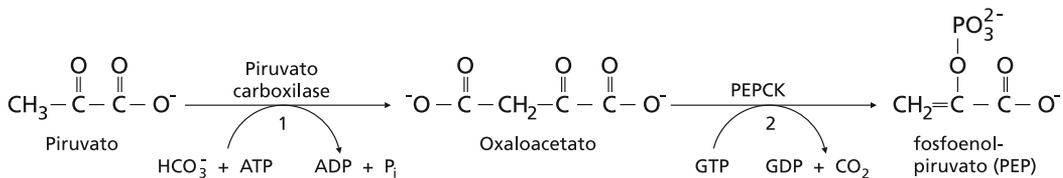


Figura 29.1: Conversão de piruvato em oxalacetato e, então, em PEP.

Assim como ocorre com a acetil-CoA carboxilase, a piruvato carboxilase contém **biotina** como grupo prostético. A biotina funciona como um carreador de CO_2 nessas reações.

A conversão de piruvato em PEP na gliconeogênese custa para a célula duas moléculas de ATP, enquanto a conversão de PEP em piruvato durante a glicólise gera apenas uma molécula de ATP.

Repare que o CO_2 usado na formação de oxalacetato é, em seguida, eliminado na formação de PEP. Isso parece um desperdício à primeira vista, mas, na verdade, é uma forma de “ativação” do piruvato para que seja possível sua conversão em um composto de mais alta energia, o PEP. Essa ativação se dá à custa da hidrólise de um ATP, como mostrado na **Figura 29.1**. A reação da piruvato carboxilase é bastante semelhante a uma outra reação de carboxilação já estudada por você: a reação da acetil-CoA carboxilase, na síntese de ácidos graxos.

A conversão de oxalacetato em PEP requer a hidrólise de um GTP, com incorporação do fosfato à molécula do PEP. A hidrólise de um GTP equivale à hidrólise de um ATP, uma vez que essas moléculas se interconvertem. Dessa forma, para que seja contornada a reação da piruvato cinase são gastas duas moléculas de ATP.

A LOCALIZAÇÃO INTRACELULAR DAS DUAS PRIMEIRAS ETAPAS DA GLICONEOGENESE

A piruvato carboxilase é uma enzima de localização essencialmente mitocondrial, de modo que a formação de oxalacetato a partir de piruvato ocorre dentro da mitocôndria.

A localização da PEPCK varia entre as diferentes espécies. No fígado de camundongos e ratos, ela se localiza exclusivamente no citosol, enquanto em fígado de coelhos e pombos essa enzima é mitocondrial. Já em humanos, a PEPCK é igualmente distribuída no citosol e na mitocôndria das células hepáticas.

Quando a PEPCK usada é a isoforma mitocondrial, o oxalacetato pode ser diretamente convertido a PEP dentro da mitocôndria, sendo este transportado para o citosol através de uma proteína transportadora presente na membrana mitocondrial. O PEP, então, segue pelas reações reversíveis da via glicolítica, cujas enzimas se localizam no citosol, até formar frutose-1,6-bisfosfato (frutose-1,6-BP).

Quando a PEPCK usada é a isoforma citoplasmática, o oxalacetato, primeiramente, deve ser transportado para o citosol. Entretanto, não existe transportador de oxalacetato na membrana mitocondrial. Assim, neste caso, o que acontece é um pouco mais complicado. O oxalacetato deve ser convertido em outra molécula, antes de ser transportado para o lado de fora da mitocôndria. Isso pode ocorrer de duas maneiras, como mostrado na **Figura 29.2**.

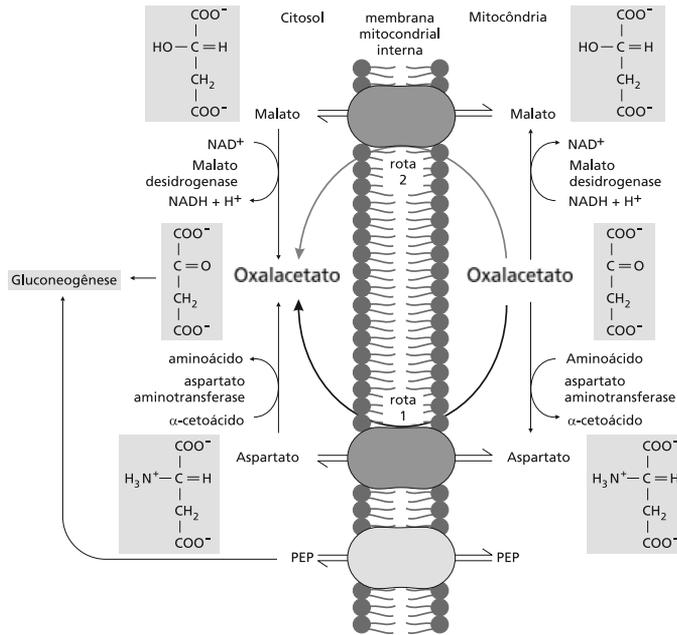


Figura 29.2: Transporte do oxalacetato da mitocôndria para o citosol. O oxalacetato pode ser transportado através de sua conversão em aspartato (1) ou em malato (2). O caso 2 envolve oxidação de NADH mitocondrial com concomitante redução de NAD⁺ citoplasmático, levando ao transporte simultâneo de equivalente de NADH da mitocôndria para o citosol.

Você já aprendeu esta reação na aula que tratou do metabolismo dos aminoácidos. As transaminases são enzimas amplamente distribuídas nos diversos tipos celulares, ocorrendo tanto no citoplasma como na mitocôndria. Assim, se torna possível o transporte indireto do oxalacetato da mitocôndria para o citosol.

Uma possibilidade é a conversão do oxalacetato em aminoácido aspartato pela ação da enzima **aspartato aminotransferase**. O aspartato é, então, transportado para o citosol, onde é reconvertido em oxalacetato pela mesma enzima, podendo finalmente ser convertido a PEP.

A outra forma de o oxalacetato ser transportado para o citosol requer sua conversão em malato, através da ação da enzima **malato desidrogenase**. Essa reação envolve a oxidação de um NADH mitocondrial, formando NAD⁺, além de malato. O malato pode ser transportado para o citosol, onde é reconvertido a oxalacetato. Nesse momento, ocorre redução de NAD⁺ citoplasmático. Analise atentamente a **Figura 29.2** para compreender bem todas essas etapas.

A reação da malato desidrogenase é uma das reações do ciclo de Krebs, já estudada por você. Nesse caso, entretanto, ela ocorre no sentido inverso. Isso é possível graças ao aumento da concentração de oxalacetato em decorrência da ativação da reação piruvato carboxilase.

O lactato é produzido no metabolismo anaeróbico da glicose. Na ausência de oxigênio, o piruvato não pode ser completamente oxidado. Além disso, o NADH produzido na reação catalisada pela gliceraldeído-3P desidrogenase, na glicólise, precisa ser reoxidado para que esta via não pare por falta de NAD^+ . Assim, a reação da lactato desidrogenase promove a reoxidação dos NADHs e produz lactato, que é secretado pela célula (**Figura 29.4**). Este tipo de metabolização da glicose ocorre nas células que não possuem mitocôndrias, como as hemácias, ou quando o aporte de oxigênio não é suficiente para sustentar o metabolismo aeróbico, como nos músculos em intensa atividade.

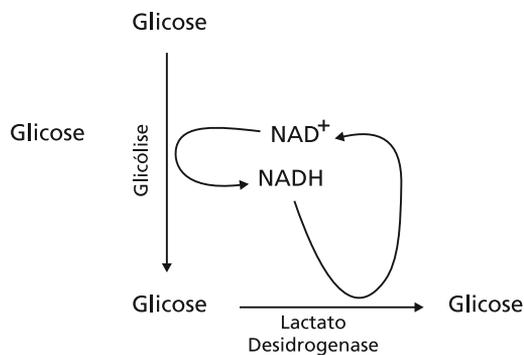


Figura 29.4: Esquema resumido da fermentação láctica.

Olhando para nosso esquema, podemos perceber que a formação de oxalacetato é uma etapa crucial da gliconeogênese. Então, moléculas que possam gerar oxalacetato no seu metabolismo seriam inevitavelmente precursoras para a síntese de glicose.

Quando o ácido graxo é oxidado, os carbonos são retirados de dois em dois, gerando várias moléculas de acetil-CoA. Se o ácido graxo possui número ímpar de carbonos, uma molécula de três carbonos, o propionil-CoA, sobra ao final.

Além dos aminoácidos, uma outra molécula também pode ser convertida em um intermediário do ciclo de Krebs, e conseqüentemente formar oxalacetato: o **propionil-CoA** proveniente da β -oxidação de ácidos graxos de cadeia ímpar. O **propionil-CoA** é convertido a succinil-CoA dentro da mitocôndria, entrando no ciclo de Krebs.

Por último, temos o **glicerol**. Essa molécula é liberada do tecido adiposo durante a hidrólise dos triacilgliceróis e segue para o fígado, onde é transformada em di-hidroxiacetona-P (DHAP), um intermediário da glicólise, que pode seguir a via gliconeogênica.

Antes de prosseguir a leitura, copie, em uma folha à parte, o esquema metabólico apresentado na **Figura 29.3**, e tente acrescentar a ele as reações de entrada dos precursores na via gliconeogênica recém-discutidas. Agora, compare o seu esquema com o mostrado na **Figura 29.6**.

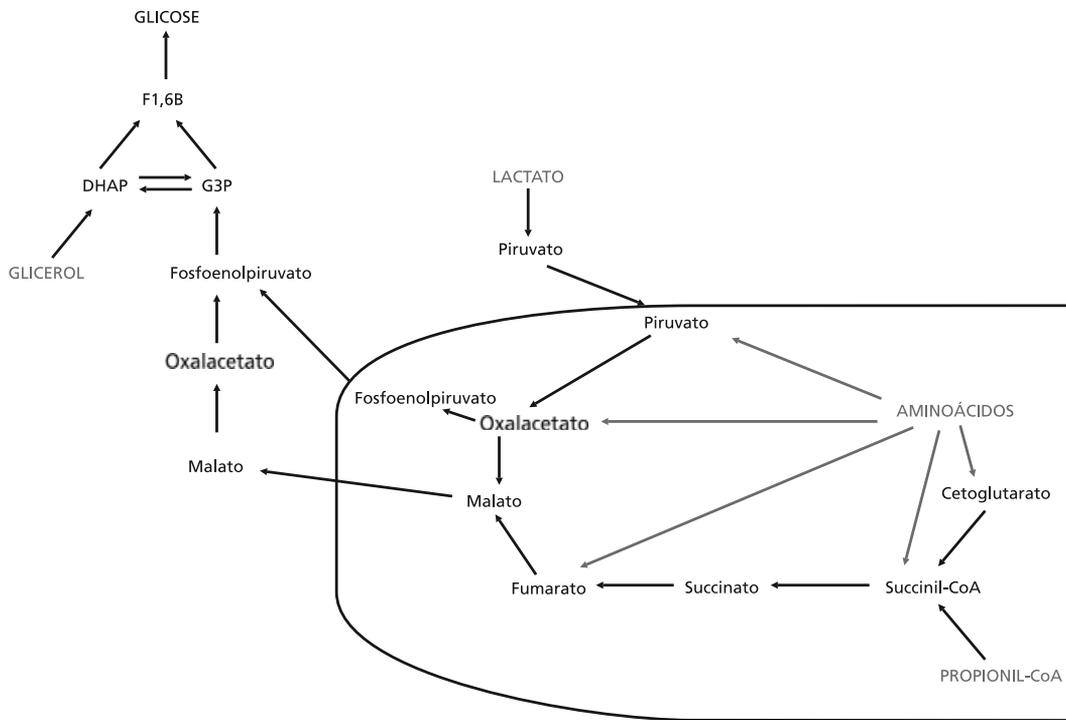


Figura 29.6: Esquema da entrada dos precursores na via gliconeogênica.

VOLTANDO AO TRANSPORTE DO OXALACETATO PARA O CITOSOL

Agora que você já descobriu quais são as moléculas que podem ser usadas como precursoras para a síntese de glicose, vamos voltar ao ponto onde estávamos quando discutíamos a **Figura 29.2**.

É bem provável que naquele momento você tenha pensado: “Isso tudo parece muito complicado! Por que haveria necessidade de termos duas maneiras diferentes de transportar o oxalacetato para o citosol?”

Vamos, agora, tentar responder a essa questão.

Observe novamente a **Figura 29.6**. Se você prestar atenção, verá que para que a reação catalisada pela enzima gliceraldeído-3P desidrogenase seja revertida, é necessário que haja tanto 1,3-bisfosfoglicerato como também NADH. Porém, lembre-se de que a maioria das reações de oxidação, que levam à redução de NAD^+ formando NADH, ocorre na mitocôndria. A principal reação que reduz NAD^+ no citoplasma é justamente a reação catalisada pela gliceraldeído-3P desidrogenase durante a glicólise. Para ser possível reverter esta reação, é necessário, então, que exista uma outra fonte de NADH no citoplasma.

NADH pode ser formado no citoplasma durante a reação de conversão do lactato em piruvato. Então, quando o lactato é o precursor para a síntese de glicose, o problema está resolvido. Entretanto, quando outros precursores são usados, não haveria maneira de se obter NADH no citoplasma. Esse problema é resolvido justamente através do transporte do oxalacetato para o citosol. Preste atenção na **Figura 29.2** e veja que, quando o oxalacetato é transportado via formação de malato, um NAD^+ é reduzido no citosol.

Concluindo: quando o precursor para a gliconeogênese é o lactato, o PEP pode ser formado pela PEPCK mitocondrial e ser transportado diretamente para o citosol, ou o oxalacetato pode ser transportado via formação de aspartato. Por outro lado, quando os precursores são os aminoácidos, o propionil-CoA ou o glicerol, o oxalacetato deve ser transportado por intermédio da formação de malato, garantindo a redução de NAD^+ no citosol. Veja o esquema na **Figura 29.7**.

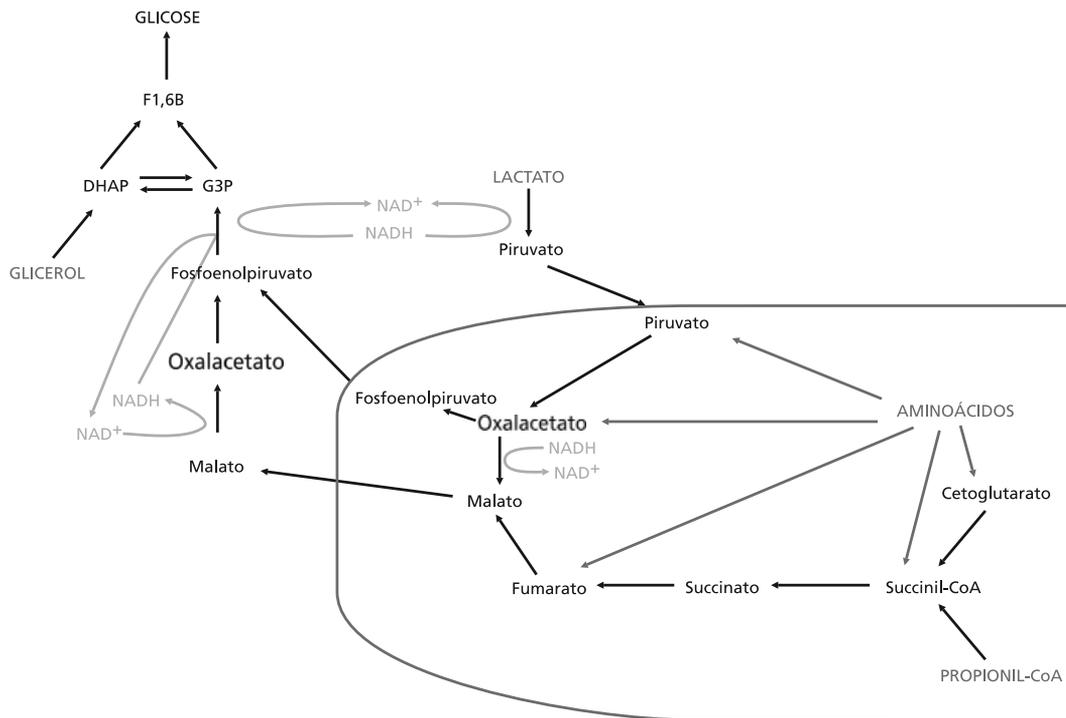


Figura 29.7: O transporte do oxalacetato e o balanço dos NADs.

AS OUTRAS REAÇÕES CONTORNADAS: AS CONVERSÕES DE FRUTOSE-1,6-BP EM FRUTOSE-6P E DE GLICOSE-6P EM GLICOSE

Agora que você entendeu a via gliconeogênica até este ponto, ficou faltando aprender como outras reações irreversíveis da glicólise, catalisadas pela PFK e pela hexocinase, são contornadas. Em vez de estas duas reações serem revertidas gerando ATP, o que seria energeticamente desfavorável, ocorre apenas a hidrólise dos grupos fosfato, como mostrado na **Figura 29.8**. As enzimas que catalisam essas reações são chamadas **frutose-1,6-bisfosfatase (FBPase)** e **glicose-6-fosfatase (G6Pase)**, respectivamente. Veja um esquema da via gliconeogênica completa na **Figura 29.8**.

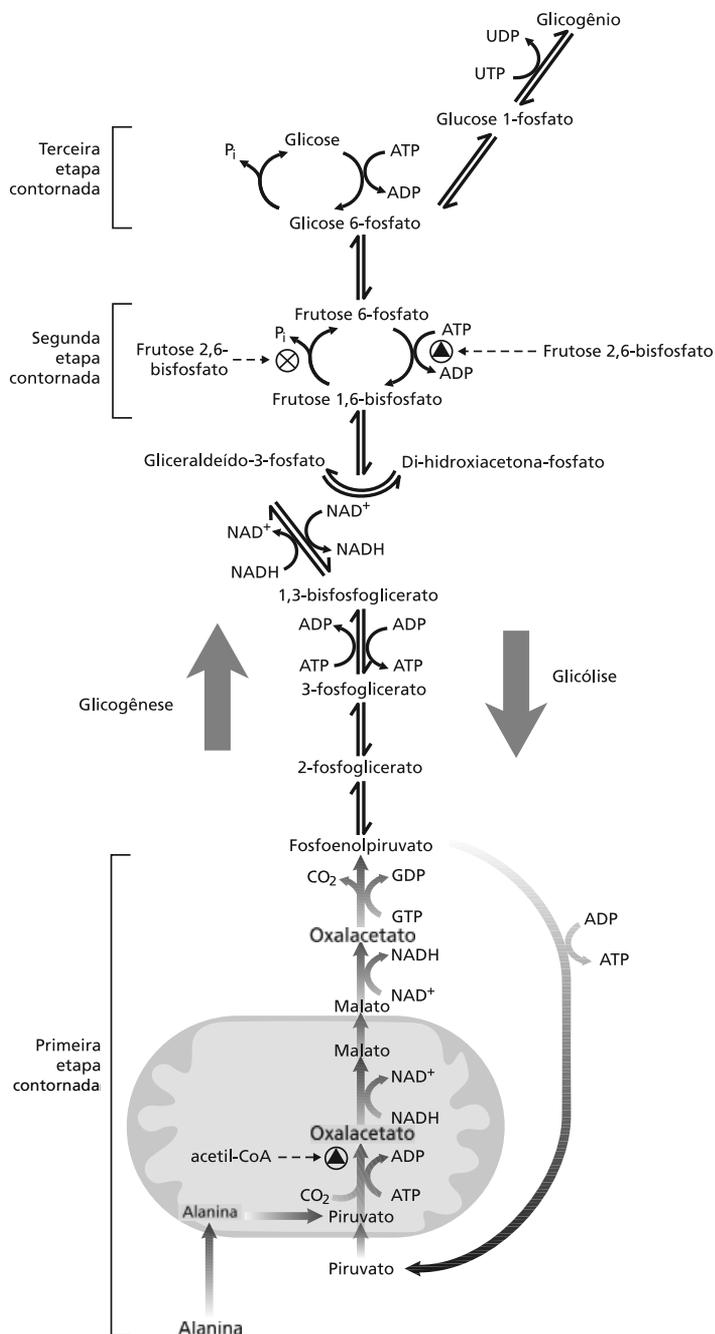


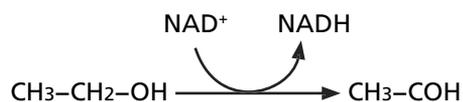
Figura 29.8: A via gliconeogênica.

RESUMO

Alguns precursores, como lactato, glicerol e aminoácidos glicogênicos, podem ser usados para sintetizar glicose através da via gliconeogênica, que ocorre, nos mamíferos, no fígado e no rim. Esses precursores são convertidos em oxalacetato, que então é convertido em fosfoenolpiruvato (PEP). A formação de glicose a partir de PEP se dá através de uma série de reações, muitas delas consistindo na reversão das reações da via glicolítica. Apenas as reações da glicólise, que são irreversíveis em condições fisiológicas, aquelas catalisadas pela PFK e pela hexocinase, são substituídas por reações de hidrólise, catalisadas pela **frutose-1,6-bisfosfatase (FBPase)** e pela **glicose-6-fosfatase (G6Pase)**, respectivamente.

EXERCÍCIO

1. O consumo de álcool, especialmente por um indivíduo mal alimentado, pode causar hipoglicemia. O álcool ingerido é convertido em acetaldeído no citoplasma do hepatócito, em reação catalisada pela álcool desidrogenase:



Utilizando seus conhecimentos sobre a gliconeogênese, tente justificar a hipoglicemia causada pela ingestão de álcool.

Regulação da gliconeogênese

AULA

25

objetivo

- Nesta aula, você vai compreender como é regulada a síntese de glicose no organismo, que funciona para garantir a produção de glicose em situações nas quais seus níveis, no sangue, estejam diminuídos.

Pré-requisitos

Para seguir esta aula, você deve ter compreendido bem as aulas sobre glicólise e as aulas sobre gliconeogênese. Tenha-as em mãos para eventuais consultas ao longo da leitura.

A REGULAÇÃO DA GLICONEOGÊNESE É NECESSÁRIA?

As enzimas **hexoquinase** e **fosfofrutoquinase** catalisam duas etapas da glicólise.

Em todo este trecho, estamos comparando as reações da glicólise com as da gliconeogênese, principalmente com relação ao requerimento energético de cada etapa. Tenha as duas vias em mãos para compreender o que está sendo discutido.

Imagine se a glicólise e a gliconeogênese ocorressem de uma forma incontrolada. Uma das conseqüências seria um gasto desnecessário de ATP. Os ATPs utilizados nas reações catalisadas pelas enzimas **hexoquinase** (a conversão de glicose em glicose-6P) e **fosfofrutoquinase** (a conversão de frutose-6P em frutose-1,6BP) não seriam ressintetizados durante a gliconeogênese. Isto porque as reações que revertem estas etapas (as duas conversões), e que são catalisadas pela G6Pase (conversão de glicose-6P em glicose) e pela FBPase (conversão de frutose-1,6BP em frutose-6P), não levam à síntese de ATP. O ATP sintetizado durante a reação da fosfoglicerato quinase na glicólise seria gasto quando esta reação fosse revertida na gliconeogênese. A síntese de PEP a partir de piruvato gasta um ATP e um GTP, enquanto a reação da piruvato quinase na glicólise leva à síntese de apenas um ATP. Assim, a ausência de um controle sobre a glicólise e a gliconeogênese poderia levar a grandes desperdícios de energia.

De fato, isso não ocorre. Ao contrário: **a glicólise e a gliconeogênese são reguladas reciprocamente**, de acordo com as necessidades do organismo.

Logo após a alimentação, os níveis de glicose no sangue se encontram elevados, e nossas células metabolizam esse nutriente através da glicólise, garantindo os níveis adequados de ATP e armazenando o excesso de energia a partir da síntese de nossas reservas. No fígado, o glicogênio é sintetizado, a glicólise é ativada, e o excesso de acetil-CoA produzido segue, através da formação de citrato, para a síntese de ácidos graxos.

Por outro lado, quando não ingerimos carboidratos, o fígado mantém os níveis sanguíneos de glicose, tanto através da degradação do glicogênio como pela produção de glicose, graças à inibição da glicólise e à ativação da gliconeogênese.

PRINCIPAIS PONTOS DE REGULAÇÃO DA GLICONEOGENESE

Regulação da piruvato carboxilase

É importante assinalar: o controle da gliconeogênese começa com a definição do destino do piruvato dentro da mitocôndria.

Você já aprendeu que a completa oxidação do piruvato começa com sua conversão em acetil-CoA, catalisada pela **PIRUVATO DESIDROGENASE**. Por outro lado, o direcionamento do piruvato para a formação de glicose pela via gliconeogênica depende, inicialmente, de sua conversão em oxalacetato, catalisada pela **piruvato carboxilase**, como vimos na aula passada. Veja o esquema mostrado na **Figura 30.1**.

Se você se esqueceu da reação catalisada pela **PIRUVATO DESIDROGENASE**, consulte a aula de ciclo de Krebs.

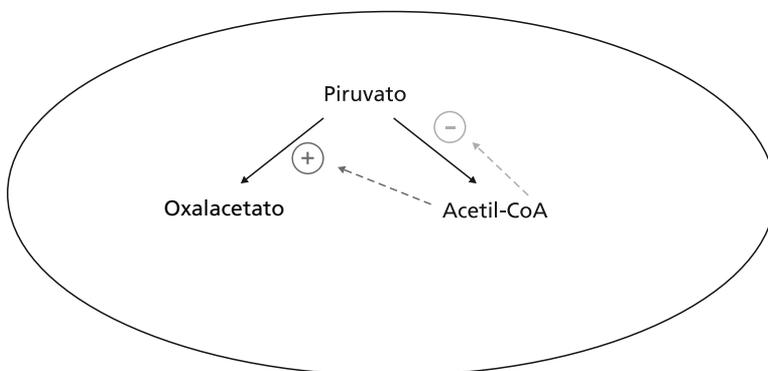


Figura 30.1: Destinos do piruvato no interior da mitocôndria.

As duas enzimas, a piruvato desidrogenase e a piruvato carboxilase, são reguladas pelo mesmo modulador: **acetil-CoA**. De forma a construir um esquema metabólico coerente, procure determinar qual das enzimas deve ser ativada e qual deve ser inibida por essa molécula. Reflita um pouco antes de prosseguir a leitura.

A piruvato desidrogenase é inibida por acetil-CoA e a piruvato carboxilase depende inteiramente da presença deste modulador para funcionar. Vamos ver se isso faz sentido.

Quando a glicose está disponível e entra em uma célula capaz de realizar o metabolismo oxidativo, ela segue pela via glicolítica até ser convertida em piruvato. Este entra na mitocôndria, onde se transforma em acetil-CoA, que entra no ciclo de Krebs, sendo condensado com o oxalacetato, formando citrato, e assim por diante, como você já estudou. Enquanto o ciclo de Krebs funcionar, os níveis mitocondriais de acetil-CoA estarão baixos, e, conseqüentemente, a piruvato desidrogenase continuará ativa e a piruvato carboxilase estará inibida (**Figura 30.2**).

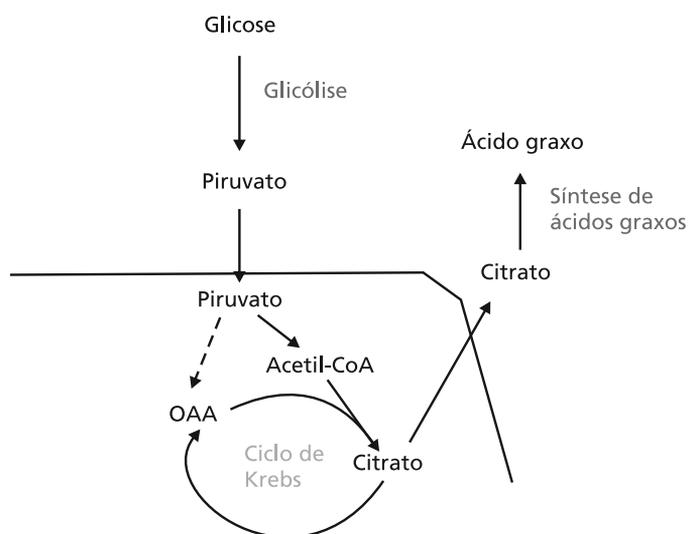


Figura 30.2: Esquema da regulação do destino do piruvato durante o metabolismo oxidativo da glicose.

Quando os níveis de glicose no sangue começam a diminuir, uma das primeiras respostas do organismo é o início da mobilização dos ácidos graxos, que estão armazenados no tecido adiposo. Os ácidos graxos entram nas diversas células e são transportados para o interior da mitocôndria, onde são β -oxidados, formando acetil-CoA. No fígado, o oxalacetato está sendo desviado, nessa situação, para a via gliconeogênica, de forma que o acetil-CoA proveniente da β -oxidação não pode seguir pelo ciclo de Krebs e, então, acumula-se no interior da mitocôndria.

Assim, a piruvato desidrogenase fica inibida e a piruvato carboxilase fica ativa, possibilitando a síntese de mais oxalacetato para a gliconeogênese (Figura 30.3).

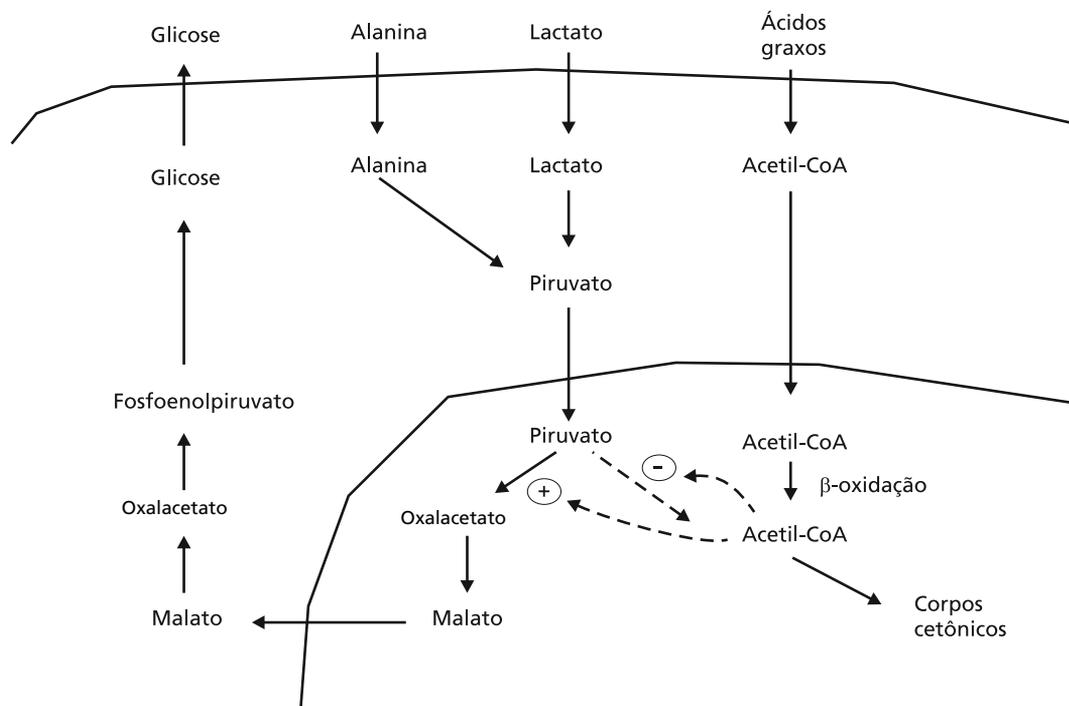


Figura 30.3: Esquema da regulação do destino do piruvato durante situações de baixa glicemia.

Destino do acetil-CoA no fígado: formação dos corpos cetônicos

Como acabamos de discutir, o desvio do oxalacetato para a síntese de glicose leva a um acúmulo de acetil-CoA na mitocôndria dos hepatócitos. O excesso de acetil-CoA é, então, convertido nos chamados corpos cetônicos – acetoacetato, β-hidroxiacetato e acetona, que são secretados pelo fígado, caindo na circulação. Veja, na Figura 30.4, como os níveis sanguíneos de corpos cetônicos aumentam em um indivíduo mantido em jejum.

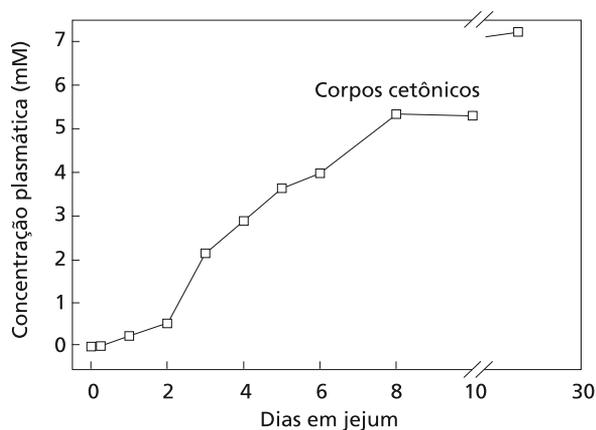


Figura 30.4: Variação da concentração plasmática de corpos cetônicos em um paciente em jejum prolongado.

Você estudou as reações de formação dos corpos cetônicos na aula de oxidação dos ácidos graxos.

Os corpos cetônicos são compostos ácidos, de forma que, caso eles atinjam concentrações acima da capacidade tamponante do sangue, podem levar a uma diminuição do pH sanguíneo, levando ao que chamamos **acidose metabólica**. A acidose metabólica pode se tornar bastante grave, levando a sérias conseqüências, especialmente em casos de diabetes, nos quais o quadro pode evoluir para o óbito do paciente.

Regulação da PFK e da FBPase

O principal ponto de controle da glicólise e da gliconeogênese se dá sobre as enzimas PFK e FBPase. Vamos ver como isso foi descoberto.

Em 1980, um pesquisador chamado van Schaftingen e seus colaboradores descobriram uma substância capaz de modificar a atividade da PFK isolada de fígado, como mostra a **Figura 30.5**.

Mais à frente você vai saber que substância é esta. Por enquanto, preste atenção apenas em seus efeitos.

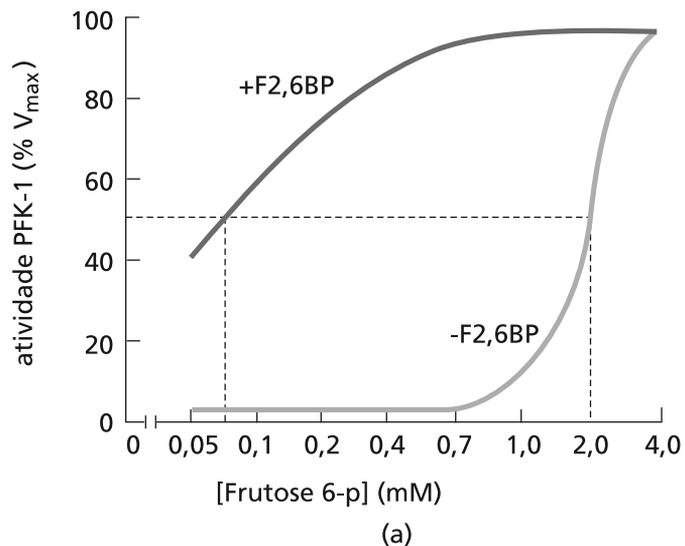


Figura 30.5: Efeito do modulador isolado por van Schaftingen e colaboradores sobre a atividade da PFK.

Veja que, em concentrações baixas de frutose-6P, que é o substrato da PFK, a presença da substância descoberta alterava dramaticamente a velocidade da reação catalisada pela PFK, levando a uma grande ativação desta enzima.

Eles descobriram que essa substância é formada no fígado e pode atingir concentrações bem altas em animais bem alimentados. Por outro lado, ela é destruída após dietas pobres em carboidratos. Observou-se ainda que esta mesma substância era capaz de inibir a FBPase, quando em concentrações semelhantes às aquelas necessárias para levar à ativação da PFK.

Assim, esta substância é capaz de regular antagonicamente a glicólise e a gliconeogênese, ou seja, enquanto uma via está ativada, a outra está inibida e vice-versa.

Depois de muito tempo tentando identificar esta molécula ativadora da PFK, o grupo de van Schaftingen conseguiu mostrar que era **frutose-2,6-bisfosfato**, que a partir de agora vamos designar por **F2,6BP**.

Cuidado, agora, para não fazer confusão! Esta molécula é diferente do intermediário **frutose-1,6-bisfosfato** e não participa diretamente nem da glicólise nem da gliconeogênese. A diferença entre estas duas moléculas está apenas no carbono ao qual está associado o grupamento fosfato.

Analise esses dados e procure integrá-los a um esquema metabólico mais geral. Depois de refletir um pouco sozinho, observe o esquema mostrado na **Figura 30.6**.

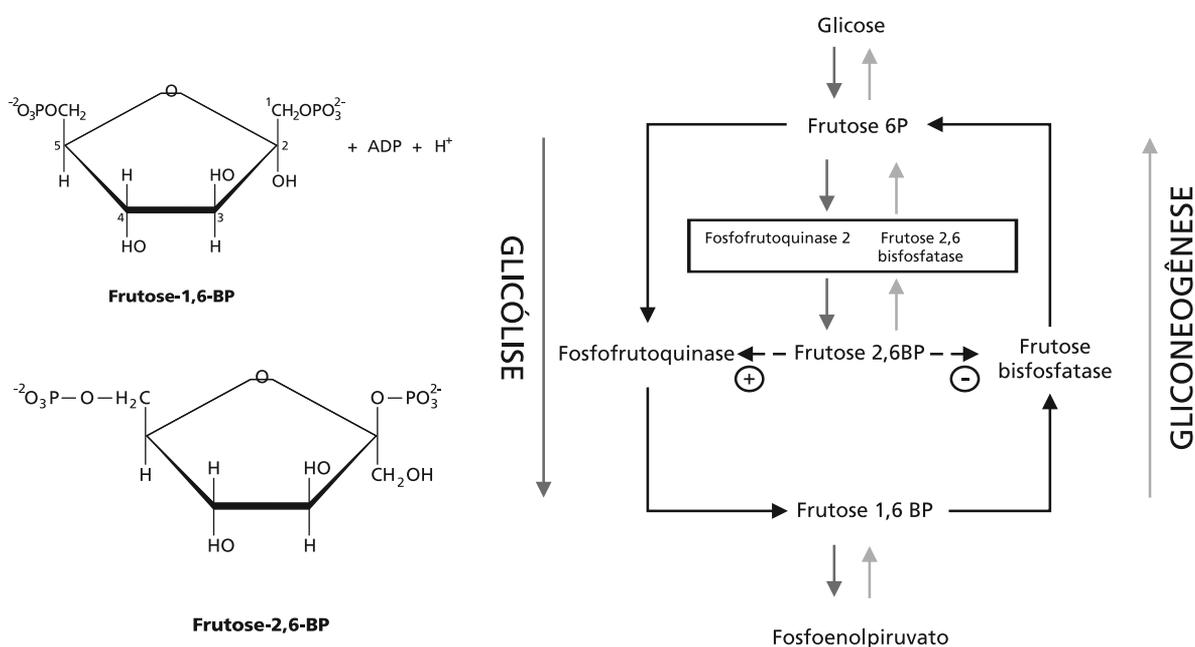


Figura 30.6: Papel da frutose-2,6-bisfosfato na regulação recíproca da glicólise e da gliconeogênese.

Agora que você entendeu o papel da F2,6BP no controle das enzimas PFK e FBPase, você deve estar se perguntando: como essa substância é sintetizada ou degradada?

Os mesmos pesquisadores descobriram, em 1981, uma enzima capaz de sintetizar F2,6BP a partir de frutose-6P à custa de ATP, à semelhança do que ocorria na reação catalisada pela PFK anteriormente conhecida. Para evitar confusão, as enzimas foram denominadas a partir daí fosfofrutoquinase-1 (PFK-1), a clássica, e **fosfofrutoquinase-2 (PFK-2)**, a que sintetiza F2,6BP.

Além disso, o mesmo grupo de trabalho, em 1982, purificou, de fígado de rato, uma enzima capaz de transformar F2,6BP em frutose-6P e denominaram-na enzima **frutose-2,6-bisfosfatase (F2,6B Pase)**. Assim, ficou claro que a ação coordenada das enzimas PFK-2 e F2,6BPase determinava o nível de F2,6BP na célula e, conseqüentemente, direcionava o fluxo metabólico no sentido da glicólise ou da gliconeogênese.

Por muitos anos tentou-se isolar as duas enzimas, mas, finalmente, descobriu-se que se tratava de uma única cadeia polipeptídica que continha dois sítios ativos diferentes, um com atividade PFK-2 e outro com atividade F2,6B Pase. Esta enzima bifuncional era capaz de catalisar uma ou outra reação.

Surge, então, a pergunta: o que vai determinar se esta enzima vai apresentar atividade PFK-2 ou F2,6BPase em um determinado momento?

Para compreender a aula a partir daqui, você vai ter que relembrar o mecanismo de controle do metabolismo do glicogênio. Vamos fazer uma pequena recapitulação do que vai ser importante agora.

Você aprendeu que as enzimas do metabolismo do glicogênio são reguladas através de um mecanismo conhecido como **modificação covalente**. Da mesma forma que ocorre com as enzimas do metabolismo do glicogênio, a ligação covalente de um grupamento fosfato na enzima bifuncional leva a uma modificação de sua atividade: a enzima fosforilada apresenta atividade F2,6BPase, uma vez que a fosforilação provoca uma mudança estrutural na enzima, expondo seu sítio fosfatásico e escondendo seu sítio quinásico. Já a defosforilação da enzima bifuncional expõe o sítio quinásico e esconde seu sítio fosfatásico.

Assim, a atividade da PFK2/F2,6BPase depende do seu estado de fosforilação.

A atividade das enzimas pode ser regulada por **moduladores alostéricos** ou por **modificação covalente reversível**. Os moduladores alostéricos se associam a regiões da enzima diferentes do sítio ativo, provocando uma mudança em sua estrutura que resulta na modificação da sua atividade. A regulação por modificação covalente reversível se dá pela ligação covalente de determinados grupamentos às cadeias laterais de alguns aminoácidos, resultando também na mudança conformacional da enzima e na modificação de sua atividade. Dentre as modificações covalentes mais comuns está a fosforilação e defosforilação de enzimas.

A fosforilação da enzima bifuncional PFK-2/F2,6BPase é catalisada por uma importante proteína quinase, a **proteína quinase dependente de AMPc (PKA)**. Como seu nome diz, esta proteína quinase é regulada por AMPc. Os níveis de AMPc aumentam dentro da célula em função de um estímulo hormonal. Esse modulador, então, se liga às subunidades regulatórias da PKA, liberando as subunidades catalíticas que fosforilam uma série de proteínas, dentre as quais a PFK2/F2,6BPase.

Dentre os hormônios que regulam os níveis de AMPc dentro da célula, podemos citar o **GLUCAGON**. Este hormônio é liberado pelo pâncreas em decorrência da diminuição da concentração sanguínea de glicose. Com esses novos dados, procure analisar o quadro metabólico quando a gliconeogênese se encontra ativada ou inibida, levando em consideração todas as informações fornecidas. Faça um resumo e mostre ao tutor. Essa é uma boa maneira de estudar! Na próxima aula, quando estivermos falando de glucagon, voltaremos a esse ponto.

Você vai aprender mais sobre o **GLUCAGON** na Aula 31.

Regulação da piruvato quinase

A piruvato quinase, enzima que catalisa a conversão de PEP em piruvato na glicólise, também é regulada por fosforilação pela PKA. Tente atribuir, antes de prosseguir a leitura, um papel ativador ou inibitório à fosforilação. Depois de refletir um pouco, continue.

Observe a **Figura 30.7** para lembrar como o piruvato é convertido em PEP na gliconeogênese.

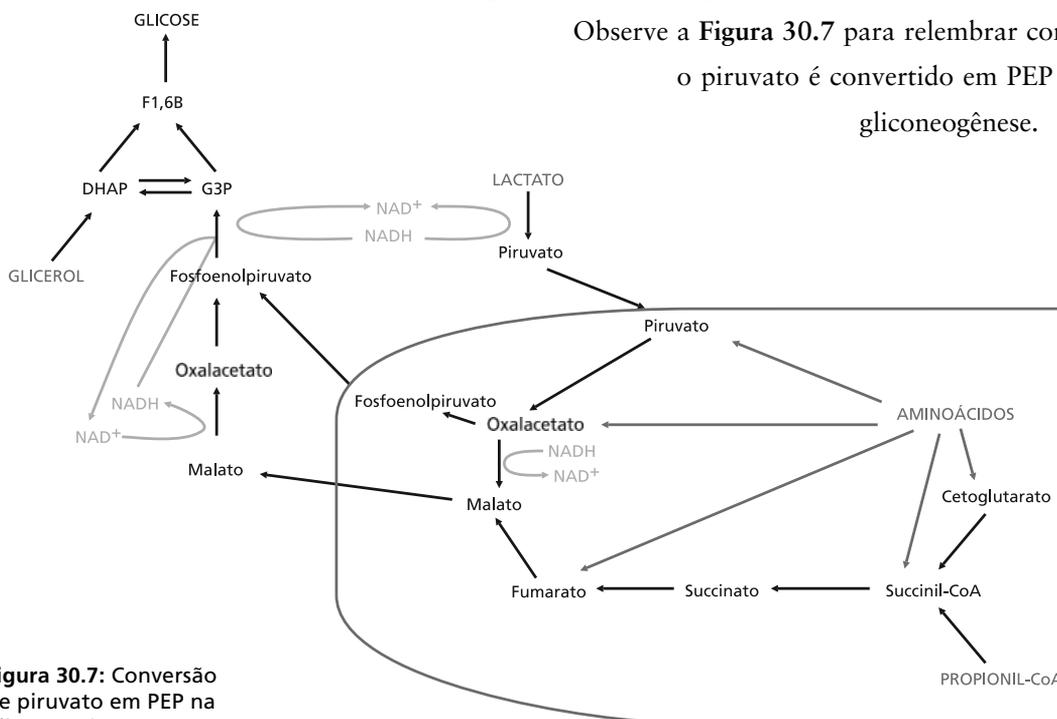


Figura 30.7: Conversão de piruvato em PEP na gliconeogênese.

Como você viu na Aula 29, para que a reversão da reação da piruvato quinase ocorra, são necessárias duas reações e são gastos dois equivalentes de ATPs. O PEP formado no citoplasma poderia ser reconvertido em piruvato pela ação da piruvato quinase se esta enzima não estivesse inibida nesse momento. Assim, a **inibição da piruvato quinase através da sua fosforilação garante que todo o PEP formado seja realmente convertido em glicose.**

RESUMO

Nesta aula, você aprendeu como a glicólise e a gliconeogênese são reguladas, garantindo que não haja desperdícios energéticos nas células capazes de realizar essas duas vias metabólicas. Os principais pontos de regulação são as reações catalisadas pelas enzimas **piruvato carboxilase, PFK e FBPase**, e **piruvato quinase**. A piruvato carboxilase é ativada alostericamente por acetil-CoA. PFK e FBPase são reciprocamente reguladas por frutose-2,6BP, que ativa a primeira e inibe a segunda. Frutose-2,6BP é sintetizada e degradada por uma enzima bifuncional, a **PFK-2/F2,6B Pase**, cujas atividades são reguladas por fosforilação desencadeada pela ação de hormônios. A atividade da piruvato quinase também está sob controle hormonal, sendo inibida por fosforilação.

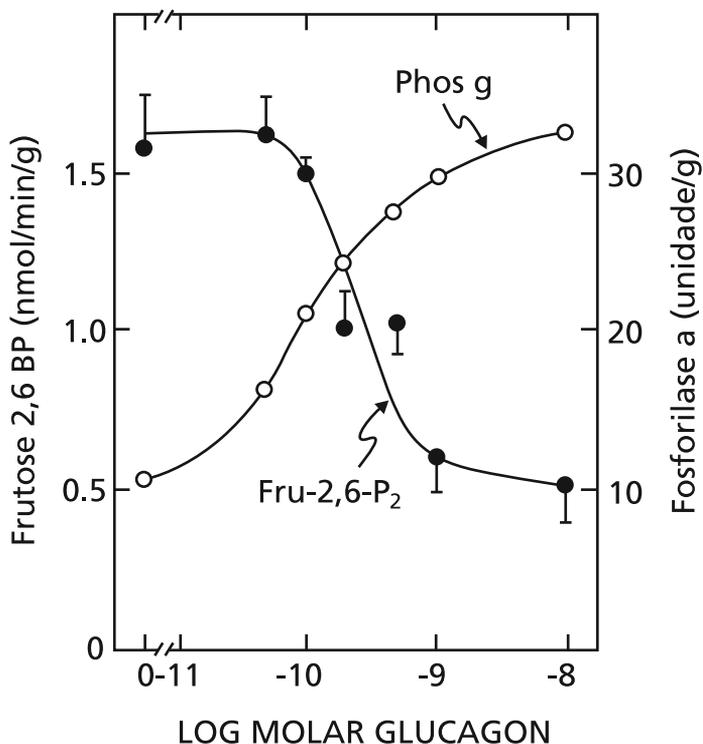
EXERCÍCIOS

1. Indique ao lado do nome de cada enzima listada seu regulador alostérico e o efeito promovido por ele na atividade enzimática (inibição ou ativação):

- piruvato carboxilase
- piruvato desidrogenase
- PFK
- FBPase

2. Correlacione a presença do composto frutose-2,6BP à regulação das vias glicolítica e gliconeogênica. Agora explique como essa substância é formada e degradada.

3. A figura abaixo foi retirada de um artigo científico publicado por Hue e colaboradores, em 1981. Eles estudaram os efeitos do hormônio glucagon no metabolismo de glicídeos em células isoladas de fígado de rato. Verificaram alterações dose-dependentes nos níveis de frutose-2,6BP e na atividade da enzima que catalisa a degradação do glicogênio, a fosforilase a. Interprete a figura, ressaltando os efeitos metabólicos no fígado em função dos resultados observados.



objetivo

Introdução aos hormônios

AULA

26

- Na última parte de nosso curso, vamos conhecer melhor os hormônios, importantes substâncias responsáveis pela comunicação entre os diferentes tipos celulares de um organismo.

Pré-requisitos

As Aulas 13 e 14 de Biologia Celular I tratam de temas complementares aos que vamos abordar aqui. Seria interessante que você relese essas aulas antes de começar.

INTRODUÇÃO

Vamos começar esta aula com uma apresentação dos hormônios e de suas características. Nas próximas duas aulas, vamos falar especificamente dos quatro hormônios que são os principais reguladores do metabolismo energético: o glucagon, a adrenalina, a insulina e os glicocorticóides.

Uma característica essencial dos organismos multicelulares é a diferenciação celular, que resulta na divisão de atividades entre seus órgãos e tecidos, que desta forma desempenham funções especializadas. Para entendermos o papel das diferentes vias metabólicas e de sua regulação, é preciso considerá-las durante o funcionamento do organismo como um todo. A capacidade de os tecidos especializados funcionarem de uma maneira integrada foi possível, em grande parte, pelo aparecimento do **sistema endócrino**, que, juntamente com o sistema nervoso, promove a coordenação das atividades metabólicas dos organismos complexos, otimizando a distribuição de nutrientes e de precursores para os diferentes órgãos e tecidos. Essa integração é mediada por uma importante classe de mensageiros químicos, os **HORMÔNIOS**.

HORMÔNIOS

Esta terminologia foi utilizada inicialmente para definir apenas as substâncias sintetizadas pelas glândulas endócrinas e secretadas na circulação, levando a respostas específicas de um ou mais tecidos-alvo. Atualmente, o termo se refere a qualquer molécula sinalizadora, capaz de gerar uma resposta em determinada célula. Assim, podemos classificar os hormônios como: (a) endócrinos – aqueles que circulam pelo corpo até atingirem o órgão-alvo; (b) parácrinos – aqueles que interagem com células vizinhas; e (c) autócrinos – aqueles que atuam sobre a própria célula secretora. Ou seja, os **hormônios** são classificados de acordo com seu raio de ação.

NATUREZA QUÍMICA DOS HORMÔNIOS

Os hormônios podem ser peptídeos, lipídeos ou derivados de aminoácidos.

Os hormônios peptídicos são assim denominados por apresentarem de 3 até 2.000 resíduos de aminoácidos. Variam com relação a tamanho, composição, número de cadeias e grupos modificados. Podemos citar como exemplo o glucagon, que apresenta uma única cadeia polipeptídica, e a insulina, formada por duas cadeias polipeptídicas derivadas do processamento proteolítico de um único produto gênico (pró-insulina) (**Figura 31.1**).

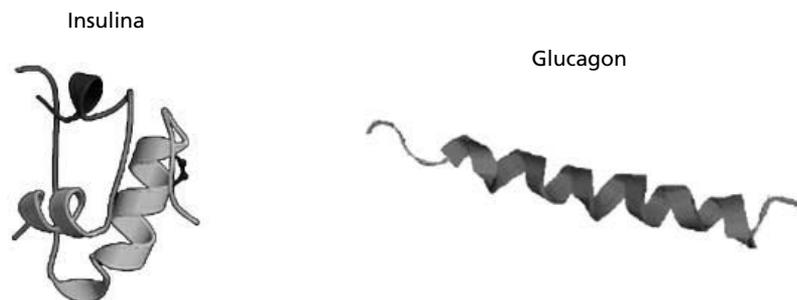


Figura 31.1: Exemplos de hormônios peptídicos: glucagon e insulina.

Os hormônios esteróides e as prostaglandinas são derivados dos lipídeos colesterol e ácido aracônico, respectivamente. Veja na **Figura 31.2** alguns exemplos de esteróides derivados do colesterol.

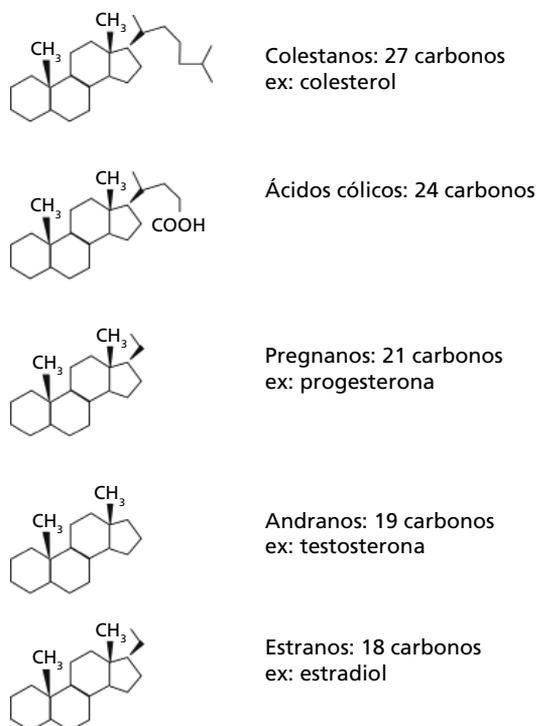


Figura 31.2: Exemplos de hormônios esteróides.

Os derivados de aminoácidos incluem a adrenalina, a noradrenalina, a dopamina e os hormônios da tireóide, todos formados a partir da tirosina (**Figura 31.3**).

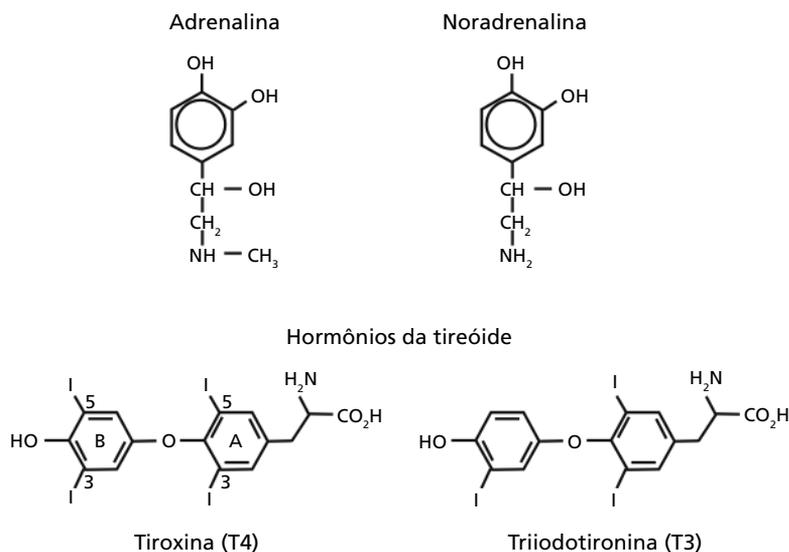


Figura 31.3: Exemplos de hormônios derivados de aminoácidos.

SÍNTESE, LIBERAÇÃO E DEGRADAÇÃO DOS HORMÔNIOS

A liberação dos hormônios na circulação depende, muitas vezes, apenas da sua produção. Esse é o caso dos esteróides, cuja liberação ocorre imediatamente após sua síntese. Por outro lado, algumas glândulas possuem a capacidade de armazenar quantidades consideráveis de hormônios, servindo como reservatórios dessas moléculas. As células β do pâncreas, por exemplo, podem armazenar insulina por vários dias.



Os hormônios da tireóide (T_3 e T_4), que não serão estudados no nosso curso, também são armazenados. Eles são produzidos a partir da clivagem de uma proteína, a tireoglobulina. Essa proteína possui vários resíduos de tirosina que são modificados pela adição de iodo, formando T_3 e T_4 . Grandes quantidades de tireoglobulina podem ser armazenadas na tireóide, garantindo a produção de T_4 mesmo em longos períodos de falta de iodo.

Os hormônios liberados podem circular livres ou associados a proteínas transportadoras. Hormônios solúveis em água, em princípio, podem circular sem necessitar de um sistema transportador específico, já que o sangue é um meio aquoso. Os insolúveis em água circulam associados a proteínas plasmáticas, que garantem o acesso dessas moléculas a todas as células. Algumas **PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS** são específicas para determinados hormônios, enquanto outros hormônios se ligam a sistemas gerais de transporte.

A fração ligada dos hormônios está sempre em equilíbrio dinâmico com pequenas quantidades de hormônio livre, que, na maior parte dos casos, é a fração biologicamente ativa. Dessa forma, as proteínas transportadoras podem muitas vezes ser encaradas como reservatórios circulantes de hormônios.

A degradação dos hormônios liberados na circulação é crítica para a regulação de seus níveis em resposta às várias necessidades. A meia-vida dos hormônios pode variar de poucos minutos (como nos casos da insulina, do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e da adrenalina), a horas (como ocorre com os hormônios esteróides), ou a dias (como a tiroxina).

PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS DE HORMÔNIOS

Específicas:

- globulina ligadora de tiroxina (TBG)
- globulina ligadora de corticosteróides (CBG)

Não-específicas:

- albumina
- transtirretina

MECANISMOS DE AÇÃO DOS HORMÔNIOS

Para atuar, os hormônios devem interagir com sítios específicos, altamente seletivos, presentes nas células-alvo: os **receptores**. Estes devem desempenhar pelo menos duas funções: ter a capacidade de ligar os hormônios com alta afinidade e especificidade, distinguindo essas moléculas entre as outras substâncias presentes; e também transmitir a informação, levando ao desencadeamento da resposta celular. Entretanto, a resposta a um determinado hormônio não depende apenas da presença do receptor, mas também da presença dos sistemas de **TRANSDUÇÃO DO SINAL** hormonal na célula-alvo.

A ação hormonal em tecidos específicos pode ser direcionada ou amplificada por vários mecanismos. A distribuição dos receptores pode variar consideravelmente: enquanto o receptor da insulina está presente em todos os tipos celulares, os receptores para mineralocorticóides são encontrados apenas em células renais. A liberação de hormônios dentro de um sistema de circulação restrita consiste em um outro mecanismo de direcionamento hormonal. O fígado recebe mais insulina que os demais tecidos, uma vez que a quantidade desse hormônio que chega ao tecido hepático pelo **SISTEMA PORTA** é bem maior do que a que atinge os tecidos extra-hepáticos pela circulação sistêmica.

Receptores hormonais podem ser subdivididos em dois grupos principais: aqueles que se encontram na superfície celular, que vão mediar respostas citoplasmáticas, e aqueles de localização intracelular, que vão atuar geralmente no núcleo da célula-alvo (**Figura 31.4**).

Hormônios esteróides

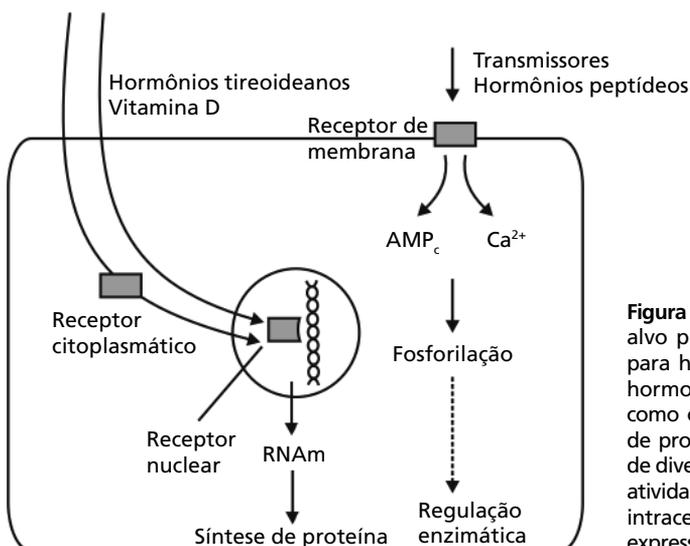


Figura 31.4: Mecanismos de ativação de uma célula-alvo pelos hormônios. Receptores de membrana para hormônios hidrossolúveis transmitem o sinal hormonal através de mensageiros intracelulares, como o AMPc ou o cálcio. Isso resulta na ativação de proteínas quinases que catalisam a fosforilação de diversas enzimas do metabolismo, regulando sua atividade. Hormônios lipossolúveis ativam receptores intracelulares que se ligam ao DNA, regulando a expressão gênica.

TRANSDUÇÃO DE SINAL

Para que uma célula responda a um determinado hormônio, é necessário que a ligação do hormônio a seu receptor desencadeie uma série de reações intracelulares que levem à modificação do metabolismo da célula. Os eritrócitos, por exemplo, possuem receptores para insulina, mas, pela falta de moléculas necessárias à sua ação, não exibem respostas típicas a esse hormônio.

SISTEMA PORTA-HEPÁTICO

O sangue proveniente do trato gastro-intestinal chega ao fígado pela veia porta-hepática, cujas ramificações banham os lóbulos hepáticos. Assim, os nutrientes provenientes da alimentação são “filtrados” pelo fígado antes de atingirem a circulação sistêmica. O mesmo ocorre com o hormônio insulina, que também é liberado do pâncreas na veia porta-hepática.

Os hormônios peptídicos, as catecolaminas e as prostaglandinas se ligam a receptores na superfície da célula-alvo, e a transmissão dessa informação se dá através de mediadores intracelulares. Já os hormônios da tireóide e os esteróides, devido à sua natureza hidrofóbica, são capazes de atravessar a membrana plasmática, encontrando seus receptores no interior da célula-alvo, onde o complexo hormônio-receptor interage com elementos específicos do DNA, induzindo mudanças na expressão de determinados genes.

Hormônios que interagem com a superfície celular

Os experimentos de E. Sutherland foram importantíssimos para a compreensão do mecanismo de ação de hormônios que atuam na superfície celular. Esse pesquisador, ao descobrir o AMPc e seu papel mediador da resposta dos hormônios glucagon e adrenalina, desenvolveu o conceito de **segundo mensageiro**. O segundo mensageiro funciona como um mediador intracelular do sinal extracelular, transmitindo o sinal hormonal para a maquinaria enzimática celular.

Inicialmente, acreditava-se que o segundo mensageiro era sempre uma pequena molécula orgânica, como AMPc, GMPc ou inositol fosfato, mas atualmente sabe-se que pode ser um íon, como cálcio ou hidrogênio, ou mesmo uma enzima que catalisa a fosforilação de proteínas, ou seja, uma proteína cinase.

Muitas estruturas de receptores hormonais de membrana já foram elucidadas, revelando quatro tipos básicos de receptores:

- (a) receptores acoplados à proteína G;
- (b) receptores que funcionam como canais iônicos;
- (c) receptores com atividade enzimática intrínseca;
- (d) receptores que interagem diretamente com enzimas intra-celulares.

Veja o esquema mostrado na **Figura 31.5**. Em todos os casos, a ação do hormônio depende de segundos mensageiros.

! Earl W. Sutherland Jr. (1915-1974) e sua equipe isolaram o AMPc em 1958, e assim o chamaram porque os átomos do único grupo fosfato da molécula de AMPc estão arranjados sob a forma de um anel. Sutherland Jr. foi agraciado com o Prêmio Nobel em Fisiologia e Medicina em 1971.

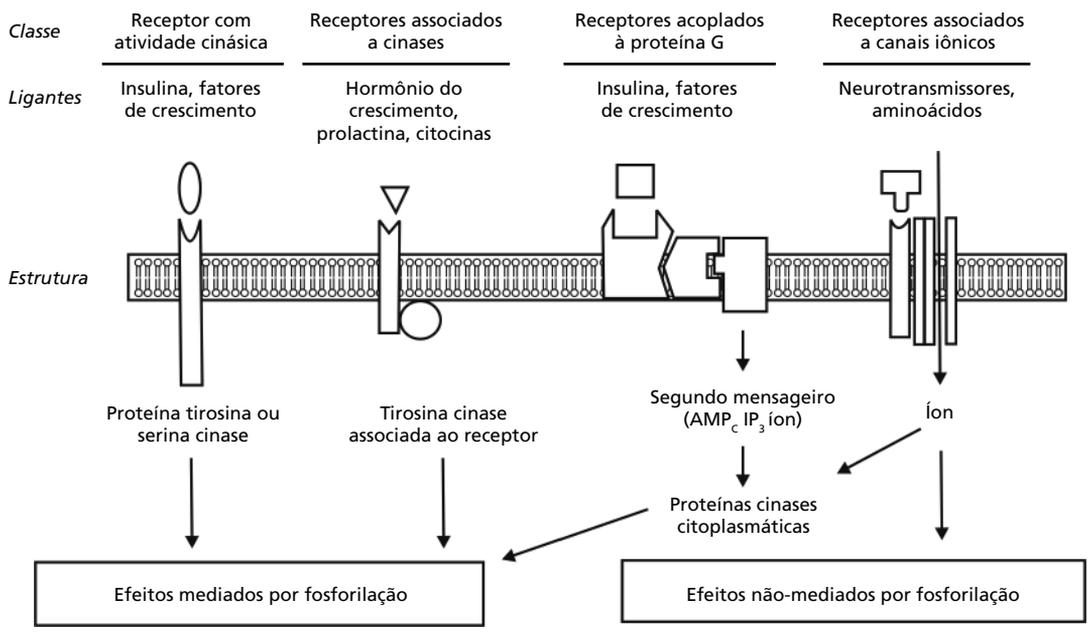


Figura 31.5: Principais classes de receptores de membrana para hormônios e neurotransmissores. A insulina e muitos fatores de crescimento se ligam a receptores de membrana que atuam como tirosinas cinases, catalisando a fosforilação de proteínas em seus resíduos de tirosina; o hormônio do crescimento, a prolactina e muitas citocinas se ligam a receptores que se associam a tirosinas cinases citoplasmáticas; uma terceira classe de agonistas se liga a receptores (R) que se acoplam a um efetor (geralmente enzimas que produzem segundos mensageiros) (E) através de proteínas G (G); a quarta classe de receptores inclui aqueles associados a canais iônicos.

Como a concentração dos hormônios peptídicos na circulação está em torno de 10^{-12} a 10^{-9} M, as células-alvo devem não só reconhecer o hormônio com alta afinidade e especificidade como também devem ser capazes de amplificar o sinal hormonal, já que os processos metabólicos operam na faixa de concentração milimolar (10^{-3} M). As cascatas de mediadores intracelulares possibilitam essa enorme amplificação do sinal extracelular, como exemplificado na **Figura 31.6**.

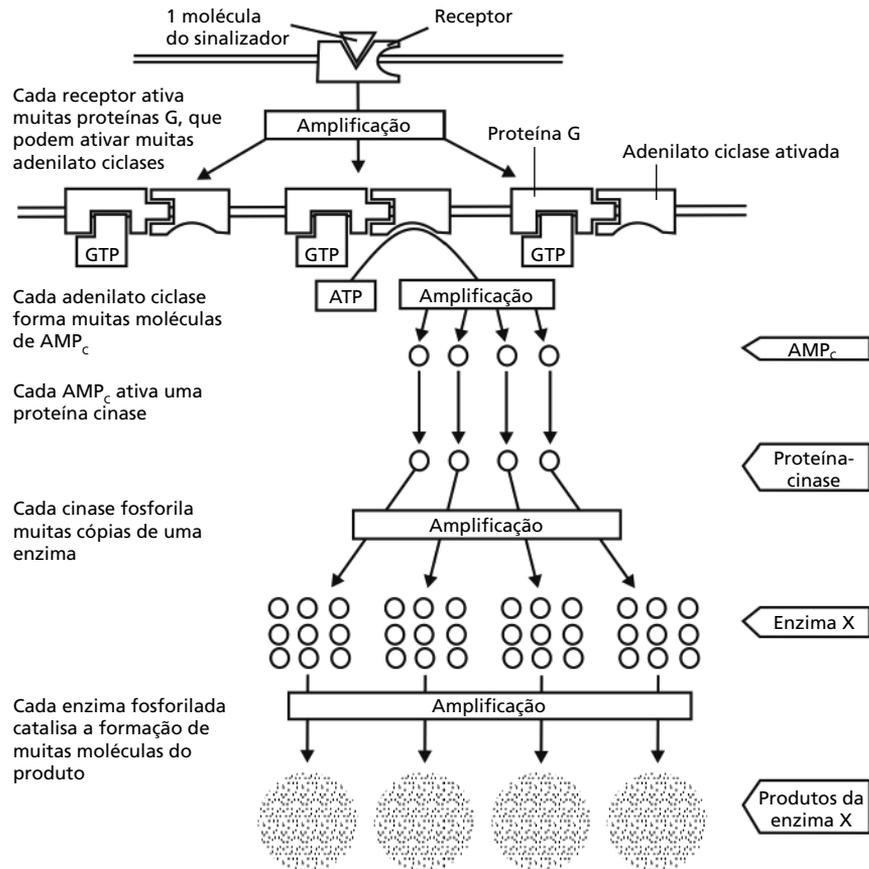
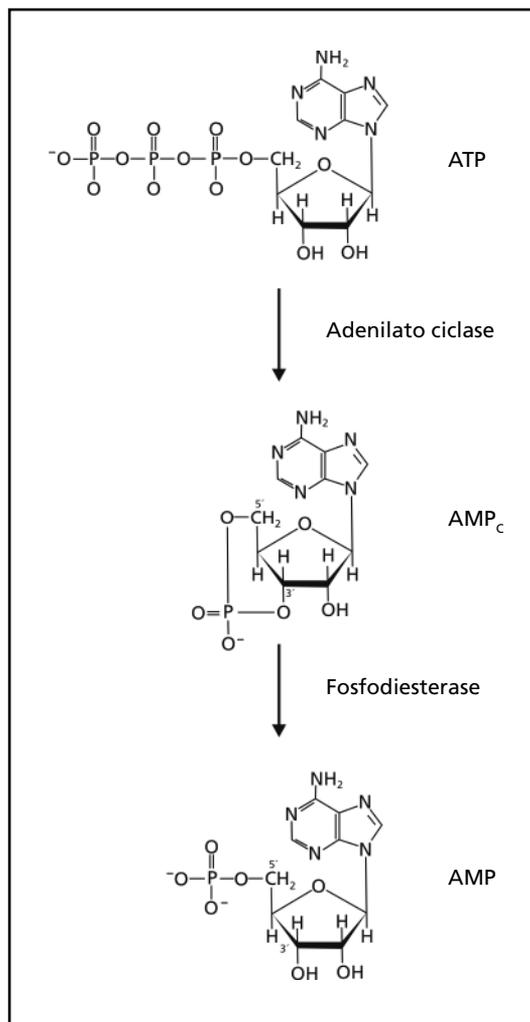


Figura 31.6: Amplificação do sinal após o estímulo de um receptor associado à proteína G.

A **Figura 31.6** mostra o mecanismo de ação de um ligante cujo receptor promove indiretamente o aumento dos níveis intracelulares de AMPc, como, por exemplo, o glucagon ou a adrenalina. As proteínas intermediárias que acoplam esses receptores a seus sistemas efetores são chamadas **proteínas G**, por dependerem de GTP para sua ação regulatória. As proteínas G são heterotrímeros compostos por subunidades α , β e γ . A ligação da molécula sinalizadora promove uma mudança conformacional no receptor que, por sua vez, induz a ligação de GTP à subunidade α da proteína G, que se dissocia das outras subunidades. A subunidade α , então, migra através da membrana e interage com uma enzima, a **adenilato ciclase**, ativando-a. A adenilato ciclase catalisa a conversão de ATP em AMPc. Dessa forma, moléculas como o glucagon ou a adrenalina promovem um grande aumento na concentração de AMPc no interior de células que apresentem seus respectivos receptores.

A subunidade α apresenta atividade GTPásica, convertendo o GTP em GDP, tornando-se inativa e dissociando-se da adenilato ciclase. Cada receptor pode interagir e ativar muitas moléculas de proteína G, cada qual podendo ativar uma molécula de adenilato ciclase. Como cada molécula de proteína G permanece na forma ativa por alguns segundos antes de hidrolisar o GTP e voltar à forma inativa, a adenilato ciclase também permanece ativa por alguns segundos, o que permite a produção de um grande número de moléculas de AMPc. O AMPc se liga às subunidades regulatórias de uma importante proteína quinase, a **proteína quinase AMPc dependente (PKA)**. Esta enzima é um tetrâmero formado por duas subunidades catalíticas e duas regulatórias que, quando ligadas ao AMPc, se dissociam das subunidades catalíticas, ativando-as. A PKA catalisa a fosforilação de um grande número de enzimas, estando, dessa forma, envolvida no controle de diversas vias metabólicas. Assim, uma única molécula sinalizadora extracelular pode causar

a alteração da atividade de milhares de enzimas nas células-alvo. Quando o estímulo cessa, os níveis de AMPc diminuem em função da atividade da enzima **fosfodiesterase**, que catalisa a hidrólise do AMPc, convertendo-o em 5'-AMP.



Você já viu exemplos de enzimas reguladas através de fosforilação catalisada pela PKA em aulas anteriores.

Hormônios que afetam a expressão gênica

Os hormônios de natureza química apolar ou hidrofóbica como, por exemplo, os hormônios esteróides, hormônios da tireóide, a vitamina D e o ácido retinóico, atuam de forma bastante diferente da daqueles descritos até agora. Eles funcionam como fatores de regulação da expressão gênica (**Figura 31.7**).

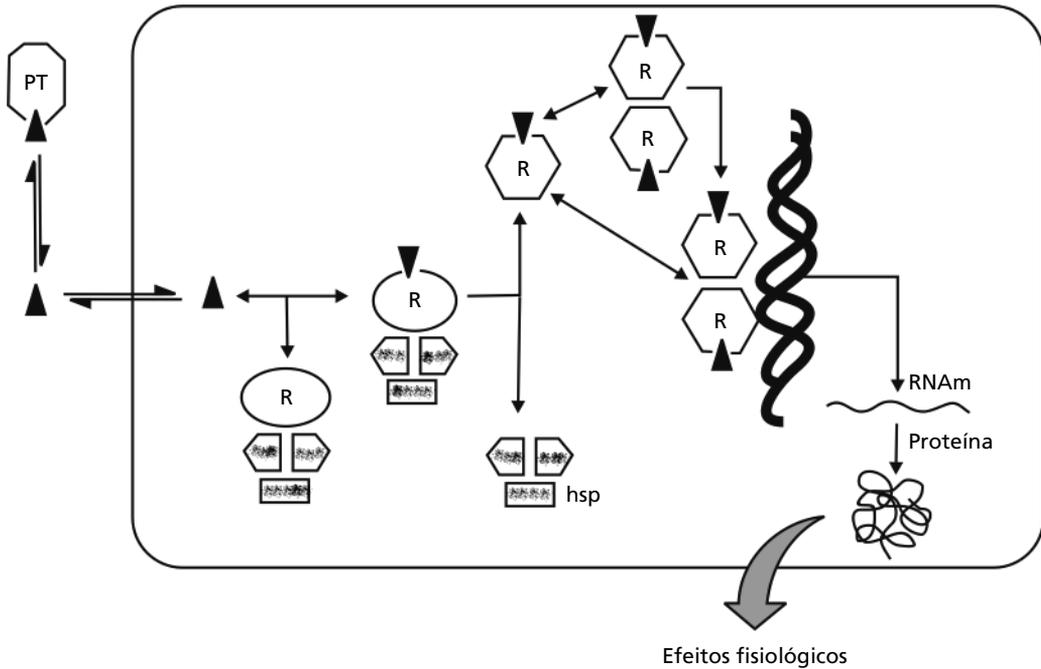


Figura 31.7: Mecanismo de ação de hormônios esteróides. O esteróide () chega à célula-alvo associado a uma proteína transportadora (PT). Os receptores (R) são proteínas intracelulares presentes no núcleo ou no citoplasma associados a proteínas de choque térmico (*heat shock proteins*, hsp), quando não ligados ao hormônio. O complexo hormônio-receptor se liga ao DNA em regiões específicas, modulando a expressão gênica.

Esses hormônios atravessam a membrana plasmática da maioria das células por difusão, embora mecanismos ativos de captação possam ocorrer em alguns sistemas. Nas células-alvo, ou seja, células sensíveis a esses hormônios, eles se ligam a receptores específicos intracelulares, localizados no citoplasma ou no núcleo. A ligação do hormônio promove mudanças conformacionais no receptor, resultando na formação de um complexo ativado, com alta afinidade por determinados sítios do DNA. Geralmente, a ligação do complexo hormônio-receptor a esses elementos regulatórios afeta a expressão gênica, induzindo ou reprimindo a iniciação da transcrição de genes específicos. Os produtos da tradução dos RNA mensageiros de síntese regulada por esses hormônios promoverão efeitos metabólicos nas células-alvo como, por exemplo, o aumento dos níveis de determinadas enzimas, como ocorre com a expressão dos genes de algumas enzimas gliconeogênicas em células tratadas com glicocorticóides, levando, neste caso, a um aumento da produção de glicose por essas células.

RESUMO

Nesta aula, você aprendeu que a comunicação entre as diferentes células de um organismo, para que ele funcione de forma integrada, se dá graças aos hormônios. Estas moléculas podem ser peptídeos, como é o caso da insulina e do glucagon; lipídeos, como os hormônios esteróides; ou derivados de aminoácidos, como, por exemplo, a adrenalina e os hormônios da tireóide. Você viu, também, que os mecanismos de síntese, secreção e degradação dos hormônios podem ser muito variados. Para fins didáticos, os hormônios podem ser agrupados em duas grandes classes, de acordo com seu mecanismo de ação: aqueles cuja ação se dá a partir de sua ligação à superfície celular e aqueles que se ligam a receptores intracelulares e atuam sobre a expressão gênica.

EXERCÍCIOS

Os exercícios referentes às Aulas 31, 32 e 33 serão apresentados em conjunto ao final da Aula 33.

AULA 27

Glucagon e adrenalina

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Apresentar dois hormônios: glucagon e adrenalina.
- Conhecer o mecanismo de ação desses hormônios.
- Estudar seus efeitos nos diferentes tecidos.

Pré-requisitos

Esta aula e a próxima vão explorar a integração hormonal do metabolismo. Por isso, será importante que você tenha uma visão geral bem clara do metabolismo e das várias vias que o compõem. Aproveite para adiantar o estudo de toda a matéria antes de começar a ler estas aulas. Assim, elas servirão para reforçar seus conhecimentos e poderão fornecer uma visão mais ampla do funcionamento do nosso organismo.

INTRODUÇÃO

Nesta aula, vamos falar especificamente de dois hormônios: o glucagon e a adrenalina. Agrupamos estes dois hormônios na mesma aula, porque ambos compartilham o mesmo mecanismo de ação. Entretanto, você vai ver que estes hormônios vão atuar em resposta a situações diferentes, algumas vezes em tecidos distintos.

GLUCAGON

Natureza química, síntese e secreção do glucagon

PÂNCREAS

Para fins didáticos, o pâncreas pode ser estudado em duas porções:

Pâncreas exógeno: sintetiza e secreta enzimas responsáveis pela digestão de proteínas (tripsina, quimotripsina e carboxipeptidase), carboidratos (amilase) e lipídeos (lipase) provenientes da dieta, além de secretar bicarbonato de sódio.

Pâncreas endógeno: sintetiza e secreta os hormônios glucagon, insulina e somatostatina.

O glucagon é um hormônio peptídico secretado pelo **PÂNCREAS**, glândula de fundamental importância para a digestão dos alimentos e para a regulação do metabolismo de macronutrientes.

O pâncreas contém um grupo de células especializadas, as Ilhotas de Langerhans. Nas Ilhotas de Langerhans, existem três subpopulações de células distintas, as células α , as células β e as células γ , que são responsáveis pela síntese e secreção dos hormônios glucagon, insulina e somatostatina, respectivamente.

Uma vez sintetizado, o glucagon pode ser secretado diretamente ou ficar estocado dentro de vesículas secretórias no interior das células α . Os principais controladores fisiológicos da liberação de glucagon são a hipoglicemia, a hiperaminoacidemia (aumento dos níveis de aminoácidos no sangue; neste caso, principalmente aumento de arginina), baixos níveis circulantes de ácidos graxos e estímulo do sistema adrenal (estresse ou exercício).

O receptor de glucagon

O glucagon, assim como os demais hormônios peptídicos, exerce seus efeitos através da ligação a um receptor localizado na membrana plasmática das células-alvo. O receptor de glucagon pertence à superfamília dos receptores acoplados à proteína G (**Figura 32.1**).



Você aprendeu sobre receptores acoplados à proteína G na Aula 31 de Bioquímica II e na Aula 14 de Biologia Celular I.

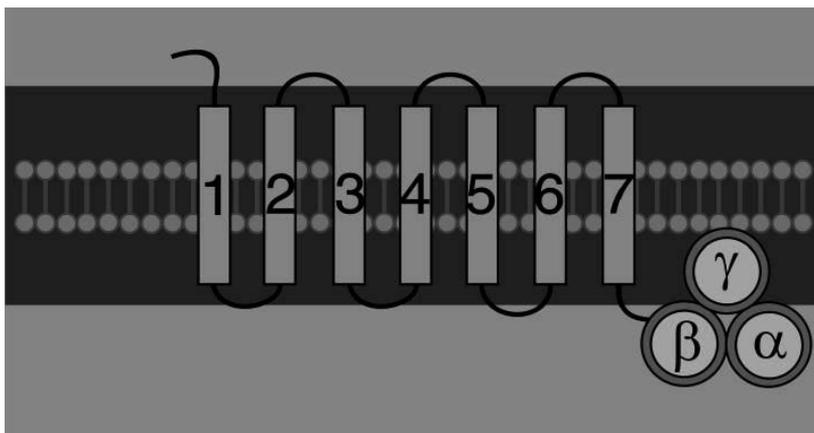


Figura 32.1: Representação esquemática do receptor de glucagon. As sete hélices transmembrana são exemplificadas na figura. A região superior corresponde às regiões extracelulares do receptor, enquanto a região inferior representa a porção intracelular. Associadas ao receptor estão esquematizadas as três subunidades da proteína G.

Ainda não temos uma definição exata de que tecidos apresentam receptores de glucagon. Diversos trabalhos científicos vêm mostrando que os maiores níveis de expressão do receptor de glucagon são encontrados no fígado, nos rins e nas ilhotas pancreáticas. Níveis intermediários de expressão podem ser detectados no coração, tecido adiposo, duodeno e estômago.

Mecanismo de ação do glucagon

Os principais efeitos conhecidos do glucagon são mediados por um aumento dos níveis intracelulares de AMPc. Isso ocorre porque o receptor de glucagon encontra-se associado a uma família muito particular de proteínas, conhecida como família das proteínas G, como já comentamos anteriormente.



Para relembrar o que são as proteínas G e como os níveis intracelulares de AMPc são controlados por elas, releia o final da Aula 31 de Bioquímica II e a Aula 14 de Biologia Celular I.

A **Figura 32.2** mostra a seqüência de eventos desencadeados pela ligação do glucagon a seu receptor presente na superfície celular.

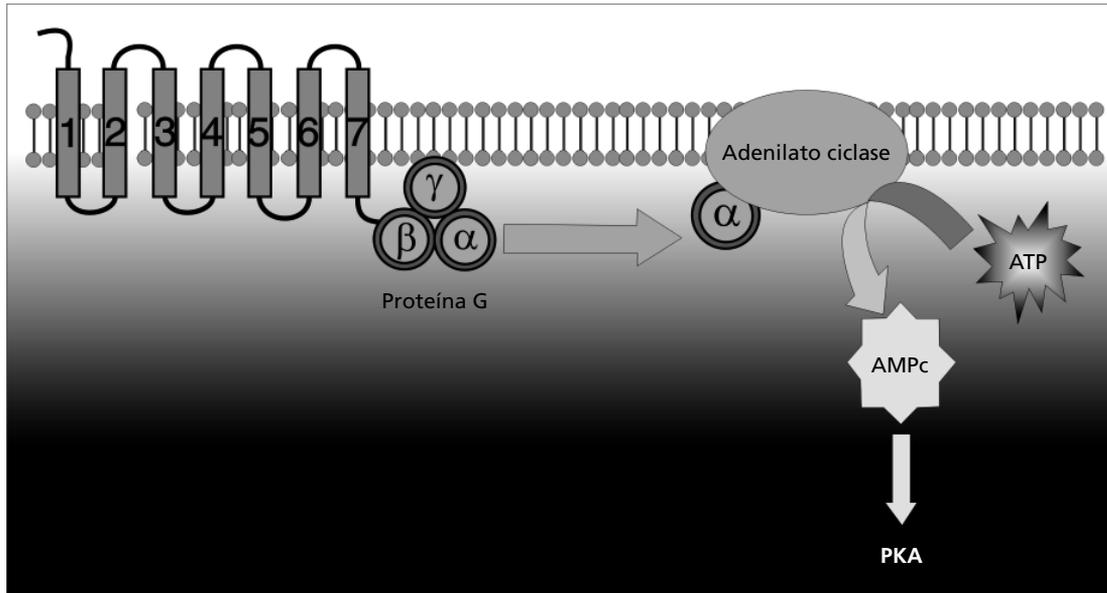


Figura 32.2: Eventos desencadeados pela ligação do glucagon a seu receptor presente na superfície celular.

Mas como o aumento da concentração intracelular de AMPc vai promover a alteração do metabolismo celular?

O AMPc se liga a uma importante proteína cinase, a **proteína cinase dependente de AMPc (PKA)**. Esta proteína é composta por quatro subunidades: duas regulatórias, onde estão os sítios de ligação do AMPc,

e duas catalíticas, que podem fosforilar várias enzimas do metabolismo. Quando a PKA está na sua forma tetramérica, as subunidades regulatórias impedem a atividade das subunidades catalíticas. Quando o AMPc se liga, as subunidades regulatórias se dissociam das subunidades catalíticas, levando à ativação dessa enzima. Veja o esquema na **Figura 32.3**.

Uma vez ativada, a PKA poderá catalisar a fosforilação de diversas proteínas no interior da célula, levando assim à ativação/inativação de enzimas.

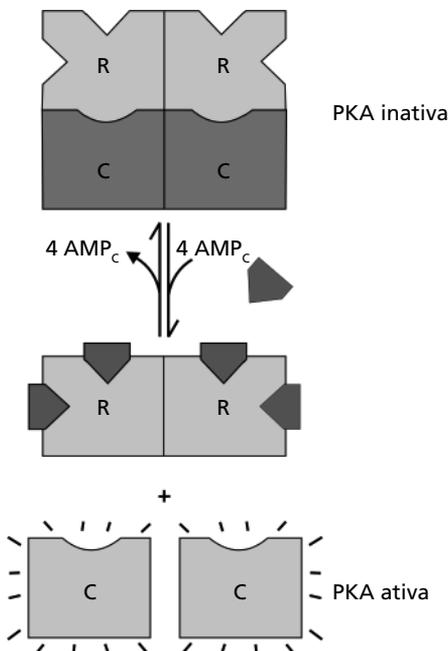


Figura 32.3: Esquema da regulação da PKA pelo AMPc.

Agora você deve estar se perguntando: afinal, que enzimas são essas e quais são os efeitos do glucagon no metabolismo energético? Vamos responder a essa pergunta a seguir.

Ação do glucagon sobre o fígado

Sem dúvida, o principal órgão a sofrer os efeitos da liberação de glucagon é o fígado. Em resposta a elevações bastante sutis nas concentrações sanguíneas de glucagon, esse órgão modifica seu metabolismo drasticamente. Graças a isso, o organismo é capaz de adaptar-se a diferentes situações metabólicas, principalmente à hipoglicemia. As principais vias metabólicas afetadas pelo glucagon no fígado são:

O metabolismo de glicogênio

Após uma refeição balanceada, cerca de 25% da glicose ingerida é convertida em glicogênio no fígado. Os níveis de glicogênio no interior de um hepatócito podem variar entre 1 e 100mg/g de tecido hepático durante um ciclo normal de jejum/alimentação.



Antes de ser batizado com seu nome atual, o glucagon era conhecido como “fator hiperglicemiante glicogenolítico”. Isso se deveu a algumas experiências realizadas entre 1921 e 1938, que mostraram que extratos pancreáticos injetados em animais sem pâncreas provocavam rapidamente hiperglicemia, em decorrência da mobilização do glicogênio hepático. De fato, o primeiro efeito conhecido do glucagon foi o estímulo da degradação do glicogênio.

Como vimos anteriormente, a **SÍNTESE E DEGRADAÇÃO DE GLICOGÊNIO** devem ser conjuntamente reguladas, de modo a evitar desperdícios de energia decorrentes da realização de ciclos fúteis.

Através da ativação da PKA, um dos primeiros efeitos do glucagon sobre a síntese de glicogênio é a inativação da enzima **glicogênio sintase**. Aparentemente, tanto a própria PKA quanto as cinases ativadas por ela, principalmente a **glicogênio sintase cinase 3 (GSK-3)**, são capazes de fosforilar esta enzima. Essa fosforilação faz com que a glicogênio sintase passe de sua forma *a* (ativa) para a forma *b* (inativa).

A **fosforilase cinase** também é fosforilada pela PKA, tornando-se ativa. Essa enzima catalisa a fosforilação da **glicogênio fosforilase**, a enzima-chave da degradação do glicogênio. Quando fosforilada, a glicogênio fosforilase sofre uma mudança conformacional, passando da forma *b* (inativa) para a forma *a* (ativa).

Veja um esquema da regulação da síntese e da degradação do glicogênio na **Figura 32.4**.

SÍNTESE E DEGRADAÇÃO DE GLICOGÊNIO

Se precisar, reveja as vias de síntese e de degradação do glicogênio, assim como sua regulação, nas Aulas 25, 26 e 27.

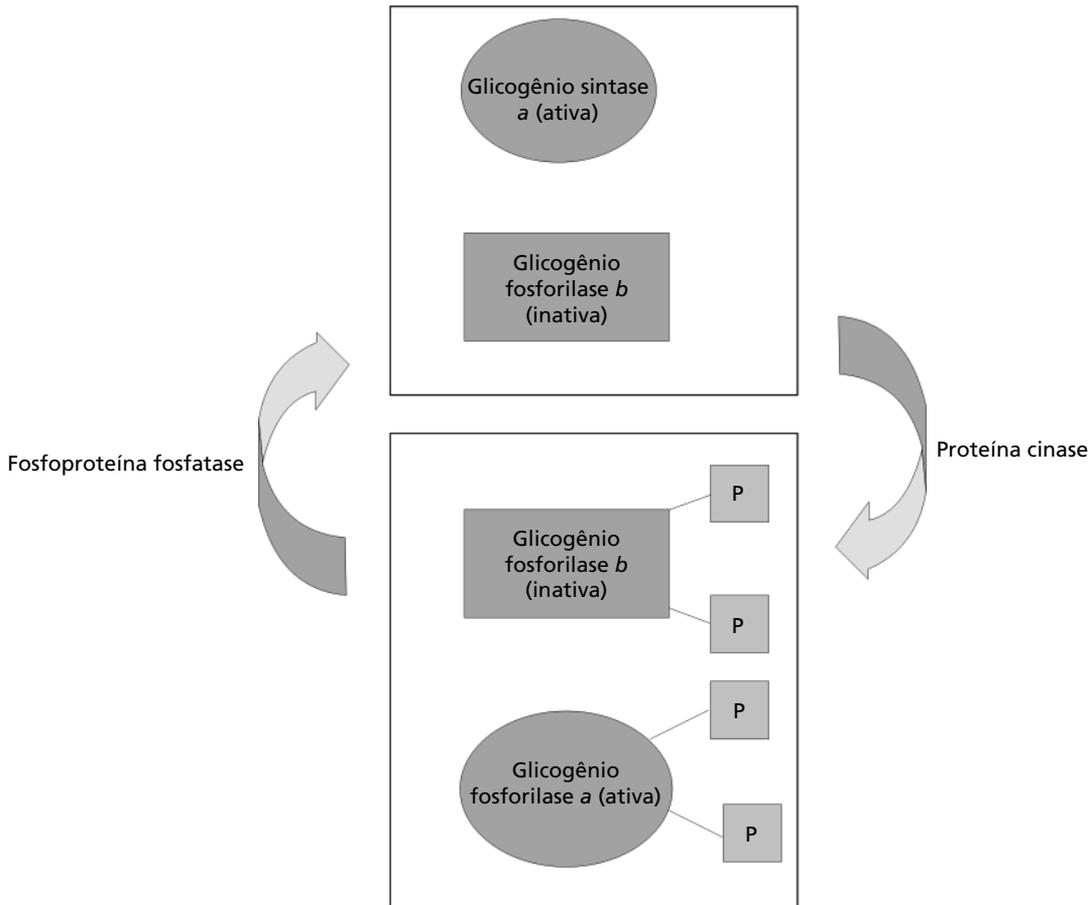


Figura 32.4: Esquema da regulação das enzimas-chave da síntese (glicogênio sintase) e da degradação (glicogênio fosforilase) em resposta à ação do glucagon.

Assim, quando os níveis sanguíneos de glucagon aumentam, a síntese de glicogênio é drasticamente diminuída e sua degradação muito aumentada.

A degradação do glicogênio gera glicose-1-fosfato que, pela ação da enzima fosfoglucomutase, é convertida em glicose-6-fosfato, que por sua vez é substrato para a glicose-6-fosfatase presente no retículo endoplasmático dos hepatócitos, formando, assim, glicose livre que pode ser enviada para a corrente sanguínea.

Alteração da relação glicólise/gliconeogênese

Você já aprendeu que o fígado é o principal órgão dos mamíferos a realizar a gliconeogênese. Por isso, é importante a existência, nesse órgão, de um controle integrado da relação glicólise/gliconeogênese, de forma a minimizar a ocorrência de ciclos fúteis e a perda de energia. O glucagon desempenha um papel extremamente importante nessa regulação.

!
Reveja as reações e a regulação da via gliconeogênica nas Aulas 29 e 30.

O principal efeito do glucagon sobre a glicólise/gliconeogênese acontece sobre a enzima bifuncional **fosfofrutocinase-2/frutose-2,6-bisfosfatase**. Como você já aprendeu na Aula 30, essa enzima catalisa duas reações distintas: a conversão de frutose-6-fosfato (frutose-6P) em frutose-2,6-bisfosfato (F2,6BP) e a reação reversa, a conversão de F2,6BP em frutose-6P.

A fosforilação da enzima bifuncional pela PKA leva a uma modificação de sua atividade. A enzima fosforilada apresenta atividade F2,6BPase, enquanto sua defosforilação inibe essa atividade fosfatásica e ativa a porção PFK2 da enzima.

Mas o que faz F2,6BP? Tente lembrar e confira se sua resposta estava correta lendo o texto a seguir.

F2,6BP é um potente ativador da **fosfofrutocinase-1 (PFK-1)**, enzima-chave da glicólise. Ao mesmo tempo, essa substância também inibe a **frutose-1,6-bisfosfatase**, enzima da gliconeogênese.

Assim, quando a PKA é ativada devido à ação do glucagon, os níveis intracelulares de F2,6BP diminuem, levando à inibição da PFK-1 e, conseqüentemente, da glicólise, e à ativação da frutose-1,6-bisfosfatase e, conseqüentemente, da gliconeogênese.

Outro efeito importante do glucagon sobre a glicólise é a regulação da enzima **piruvato cinase (PK)**. Essa enzima catalisa a última reação da glicólise, a conversão de fosfoenolpiruvato (PEP) em piruvato com concomitante síntese de uma molécula de ATP. A fosforilação da PK hepática é catalisada pela PKA e leva a uma drástica redução de sua atividade. Com isso, a glicólise fica inibida. Essa regulação também é importante para garantir que o PEP, formado na primeira etapa da gliconeogênese, não seja reconvertido em piruvato (você já viu isso em mais detalhes na Aula 30; se achar necessário, volte até lá).

O metabolismo dos ácidos graxos

Os ácidos graxos derivados dos triacilglicerídeos e estocados nos adipócitos são a fonte de energia mais importante para os mamíferos. O glucagon exerce um importante papel na regulação do metabolismo de ácidos graxos, como veremos a seguir.

A primeira etapa da **SÍNTESE DE ÁCIDOS GRAXOS** é o transporte das unidades de acetil-CoA, derivadas da oxidação da glicose ou dos aminoácidos, da mitocôndria para o citoplasma. Estas unidades de acetil-CoA saem da mitocôndria na forma de citrato, que no citoplasma é convertido a oxaloacetato e acetil-CoA novamente.

SÍNTESE DE ÁCIDOS GRAXOS

Reveja a síntese de ácidos graxos em detalhes nas Aulas 22 e 23.

Uma vez no citoplasma, a etapa seguinte da síntese de ácidos graxos seria a conversão de acetil-CoA em malonil-CoA, catalisada pela **acetil-CoA carboxilase**. Esta enzima-chave da biossíntese de ácidos graxos é inibida por glucagon através de um mecanismo também dependente de PKA, que catalisa a fosforilação dessa enzima, mantendo-a na sua forma protomérica inativa.

Ação do glucagon sobre o adipócito

A mobilização das reservas de triacilgliceróis estocadas nos adipócitos se dá através da ativação da **lipase sensível a hormônio**. Esta enzima catalisa a hidrólise das ligações éster dos triacilgliceróis, gerando glicerol e ácidos graxos, que seguirão pela corrente sanguínea associados à albumina até o fígado ou outros tecidos capazes de realizar a β -oxidação.

A lipase sensível a hormônio é ativada por fosforilação catalisada pela PKA. Embora ainda exista certa controvérsia na literatura científica a respeito da presença ou não de receptores de glucagon no tecido adiposo, uma série de dados vêm sustentando que, quando os níveis sanguíneos de glucagon aumentam, a cascata de sinalização desencadeada por esse hormônio promove a hidrólise dos triacilgliceróis, com conseqüente liberação de glicerol e ácidos graxos por estas células.

Desta forma, podemos concluir que a liberação do glucagon na corrente sanguínea promove a mobilização dos ácidos graxos, que passam a servir como fonte de energia para a maioria dos tecidos. Por outro lado, o glucagon também vai promover a liberação hepática de glicose, seja proveniente da degradação do glicogênio, seja produzida pela via gliconeogênica. Veja, na **Figura 32.5**, um esquema da integração do metabolismo dos vários tecidos do nosso corpo durante uma situação de hipoglicemia.

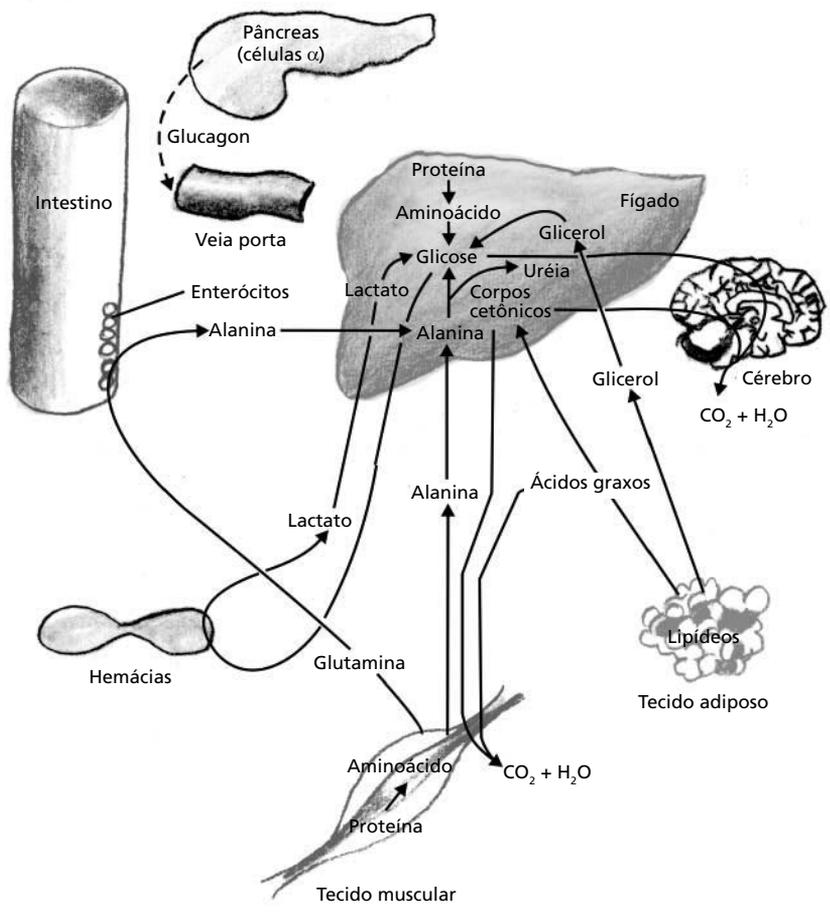


Figura 32.5: Esquema do metabolismo em resposta à liberação de glucagon durante a hipoglicemia.

ADRENALINA

Natureza química e secreção da adrenalina

A adrenalina faz parte de um grupo de substâncias denominadas catecolaminas, por suas estruturas derivarem do catecol (Figura 32.6).

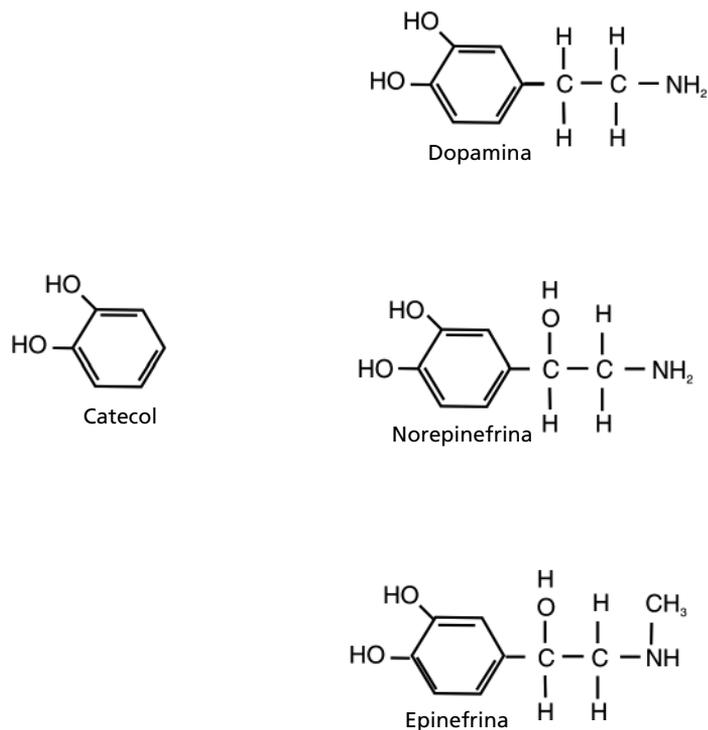


Figura 32.6: Estrutura do catecol e das catecolaminas.

ADRENAL

A adrenal pode ser dividida em duas partes: o córtex, que secreta glicocorticóides e mineralocorticóides (falaremos desses hormônios na Aula 33); e a medula, cujo principal produto de secreção é a adrenalina.

A adrenalina é secretada pela glândula **ADRENAL** (de onde vem seu nome), que se localiza acima dos rins e, por isso, é também conhecida como glândula supra-renal.

Em resposta a situações de estresse agudo (estresse psicológico, cansaço físico, jejum prolongado ou hipoglicemia, perda sangüínea e diversas condições patológicas), ocorre ativação do sistema nervoso simpático, que é parte integrante do sistema nervoso autônomo. Como parte dessa resposta adaptativa, há aumento da liberação de catecolaminas pela adrenal. A liberação dessas substâncias no sangue e sua atuação em órgãos periféricos, principalmente no caso da adrenalina, promovem as conhecidas reações de “fuga ou luta”. Essas reações são caracterizadas por dilatação pupilar, taquicardia, sudorese, tremores, aumento da glicemia.



As ações dos produtos secretados pela adrenal têm grande correlação com as funções do sistema nervoso simpático. Dessa forma, freqüentemente usamos o termo **sistema simpático-adrenal** para ressaltar as inter-relações existentes entre o sistema nervoso autônomo e o sistema endócrino representado pela adrenal.

Receptores adrenérgicos

A adrenalina é uma molécula polar e solúvel em meio aquoso e, portanto, incapaz de atravessar a membrana plasmática das células. Assim, uma vez liberada na circulação, a adrenalina exerce seus efeitos intracelulares por intermédio da ação de receptores de membrana, os chamados receptores α e β -adrenérgicos. Os receptores adrenérgicos, assim como os receptores de glucagon, se encontram associados à proteína G. Como você já deve estar suspeitando, a seqüência de eventos que ocorrem a partir da ligação da adrenalina a seu receptor é semelhante àquela descrita para a ação do glucagon.

É isso mesmo! Entretanto, a distribuição dos receptores adrenérgicos entre os tecidos é diferente da distribuição dos receptores de glucagon, de forma que os efeitos gerais sobre o metabolismo também vão ser diferentes frente a um estímulo de adrenalina ou de glucagon.

Efeitos da adrenalina sobre o metabolismo hepático

Os principais efeitos da adrenalina no fígado são o resultado de sua ligação a **RECEPTORES β -ADRENÉRGICOS**, com conseqüente aumento das concentrações intracelulares de AMPc e a regulação de processos como o metabolismo de glicogênio e o fluxo glicólise/gliconeogênese.

Os efeitos da adrenalina sobre a síntese e a degradação do glicogênio no fígado são muito semelhantes aos já descritos para a ação do glucagon. Na verdade, o papel de ambos os hormônios foi elucidado na mesma série de trabalhos, desenvolvidos ao longo da década de 1950 por Sutherland e diversos colaboradores. Nesses trabalhos, os pesquisadores, utilizando fatias de fígado de coelho, demonstraram que tanto o chamado “fator hiperglicemiante” (glucagon) quanto a adrenalina eram capazes de causar um aumento na atividade glicogenolítica hepática, *in vivo e in vitro*.

Os efeitos sobre a glicólise e a gliconeogênese, assim como sobre a síntese de lipídeos, também são semelhantes àqueles desencadeados pelo glucagon.

Assim, podemos concluir que, no fígado, adrenalina e glucagon causam os mesmos efeitos metabólicos.

RECEPTORES ADRENÉRGICOS

São divididos em vários subtipos. Primeiramente, são divididos em dois grandes grupos: os receptores α e β -adrenérgicos. Os receptores β se dividem nos subtipos β_1 , β_2 , β_3 , este último exclusivo do tecido adiposo. Os receptores α são divididos em α_1 ou α_2 . Os receptores α_1 podem ainda ser subdivididos em vários outros subtipos: α_{1A} , α_{1B} etc.

Efeitos da adrenalina sobre o músculo esquelético

Efeitos sobre o metabolismo do glicogênio

Nas células do músculo esquelético, assim como no tecido muscular cardíaco, a adrenalina também exerce seus efeitos sobre o metabolismo do glicogênio. Como já vimos no caso do fígado, a adrenalina promove a ativação da glicogênio fosforilase muscular através da sua fosforilação. A principal diferença entre os dois tecidos reside no destino da glicose-1-fosfato produzida na fosforólise do glicogênio. As células musculares não apresentam a enzima glicose-6-fosfatase, resultando no aprisionamento da glicose-6-fosfato produzida pela reação da fosfoglicomutase. Esta é uma importante adaptação funcional, uma vez que o coração e os músculos, ao contrário do fígado, necessitam da glicose para a produção de ATP para contração, em resposta a situações de estresse ou risco iminente (que disparam o estímulo adrenérgico), e não têm papel na manutenção da glicose plasmática. Assim, a glicose-6-fosfato resultante da degradação do glicogênio no músculo segue a via glicolítica, como veremos a seguir.

Ação sobre o fluxo glicolítico

Uma diferença fundamental ocorre entre o tecido muscular e o tecido hepático, com relação ao papel da adrenalina sobre a glicólise. No músculo, a enzima bifuncional PFK-2/F2,6BPase responde de maneira

totalmente inversa à fosforilação promovida pela PKA; ou seja, no músculo, a PFK-2 estará ativa quando a enzima estiver fosforilada, enquanto a atividade da F2,6BPase fica inibida. Isso resulta em efeitos inversos da adrenalina sobre as vias glicolíticas muscular e hepática (Figura 32.7).

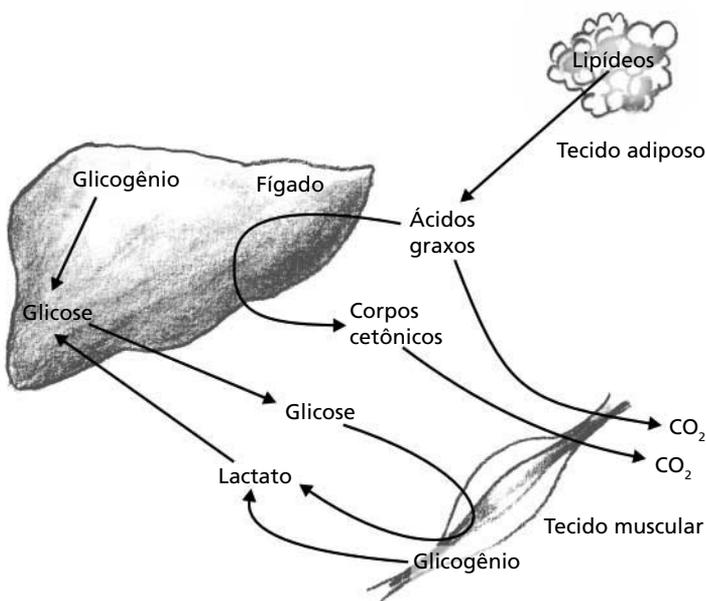


Figura 32.7: Ação da adrenalina sobre o metabolismo do glicogênio e sobre o fluxo glicolítico muscular e hepático.

Efeitos da adrenalina sobre o músculo cardíaco

A adrenalina exerce efeitos bem característicos no músculo cardíaco. Como já comentamos, situações de estresse muitas vezes tornam necessário o aumento da frequência cardíaca, o aumento da força de contração e, por conseguinte, maior efetividade no bombeamento de sangue, com oxigênio e nutrientes para todo o organismo. Isso só é possível se ocorrer um aumento na taxa de metabolismo basal do cardiomiócito, ou seja, aumento no consumo de oxigênio e aumento na produção de ATP. Torna-se óbvio então que, nessa situação, ao contrário do que ocorre em nível hepático, é necessário que a adrenalina promova um aumento da glicólise cardíaca, a fim de maximizar a produção de energia para a contração muscular.

No cardiomiócito, a adrenalina também age via receptor β -adrenérgico, com ativação da adenilato ciclase e de todos os outros efeitos atrelados ao aumento nos níveis de AMPc, resultando na ativação da PFK-1 pela F2,6BP, como ocorre no músculo esquelético.

Estudos recentes mostraram que, no tecido muscular cardíaco sob influência de adrenalina, o glicogênio é utilizado preferencialmente, seguido pela glicose exógena e, finalmente, pela oxidação de ácidos graxos, que ocorre em níveis muito inferiores. Entretanto, a oxidação de ácidos graxos continua sendo muito importante no suprimento energético de outros tecidos, principalmente durante o jejum.

Efeitos da adrenalina sobre o tecido adiposo

No tecido adiposo, a adrenalina apresenta um importante papel no processo de degradação dos triacilgliceróis armazenados. Como comentamos anteriormente, a enzima lipase sensível a hormônio pode ser substrato da fosforilação catalisada pela PKA. Essa fosforilação promove a ativação da enzima. O resultado final da sinalização da adrenalina é a liberação de glicerol e de ácidos graxos dos adipócitos para o plasma. Esses ácidos graxos serão transportados para utilização em diversos tecidos, como importante fonte energética.

Outra enzima encontrada em adipócitos, que responde aos efeitos da adrenalina, é a acetil-CoA carboxilase. Essa enzima catalisa o primeiro passo comprometido da biossíntese de ácidos graxos, sendo regulada tanto por efetores alostéricos (citrato), como pela inativação induzida por fosforilação.

Assim, podemos concluir que a adrenalina estimula a lipólise no tecido adiposo, a glicogenólise e a glicólise muscular, além de aumentar as concentrações plasmáticas de glicose, ao estimular a glicogenólise e a gliconeogênese no fígado.

RESUMO

Nesta aula, abordamos os principais aspectos relacionados aos hormônios glucagon e adrenalina. Embora sejam secretados por glândulas diferentes, em resposta a estímulos distintos, esses dois hormônios compartilham o mesmo mecanismo de ação. Ambos se ligam a receptores associados à proteína G, ativando a produção intracelular de AMPc, que, por sua vez, ativa a PKA. Essa proteína cinase vai catalisar a fosforilação de uma série de enzimas, levando à modificação de sua atividade.

O glucagon é secretado pelas células α das Ilhotas de Langerhans do pâncreas, em resposta à diminuição da glicemia. Ele age principalmente sobre o fígado e também sobre o tecido adiposo. No fígado, os principais efeitos metabólicos são: a ativação da degradação do glicogênio e da gliconeogênese, resultando na produção de glicose, que é liberada na circulação sanguínea. No tecido adiposo, a fosforilação da lipase leva à hidrólise dos triacilgliceróis, liberando ácidos graxos e glicerol na circulação.

A adrenalina é secretada pela medula da glândula adrenal, em resposta a estímulos do sistema nervoso. Os principais tecidos-alvo são o fígado, o músculo e o tecido adiposo. No fígado e no tecido adiposo, os efeitos são semelhantes aos do glucagon. No músculo, que não responde ao glucagon devido à ausência de receptores, a adrenalina provoca a degradação do glicogênio e ativa a glicólise, permitindo que as células musculares sintetizem ATP em anaerobiose.

EXERCÍCIOS

Os exercícios referentes às Aulas 31, 32 e 33 serão apresentados em conjunto ao final da Aula 33.

objetivo

Insulina e glicocorticóides

AULA

28

- Chegamos ao final do nosso curso. Nesta aula, vamos terminar o estudo do metabolismo, falando especificamente de outros dois hormônios importantes na regulação do metabolismo energético: a insulina e os glicocorticóides. Com isso, acreditamos que você terá uma visão bem ampla do funcionamento do nosso organismo.

Pré-requisito

Esta aula também vai explorar a integração hormonal do metabolismo. Por isso, será importante, novamente, adiantar o estudo de toda a matéria antes de começar a ler a aula, de forma que você tenha uma boa visão geral do metabolismo e das várias vias que o compõem.

INSULINA

Características químicas da insulina

Na Aula 32, falamos sobre as células que compõem as Ilhotas de Langerhans do pâncreas.

A insulina é uma pequena proteína com 51 resíduos de aminoácidos, secretada pelas células β das Ilhotas de Langerhans do pâncreas. Ela é sintetizada como uma forma inativa, chamada pré-pró-insulina. Essa proteína apresenta uma única cadeia polipeptídica, tendo em sua porção N-terminal uma seqüência de sinalização (**Figura 33.1**). Quando essa seqüência é clivada devido à ação de proteases, há formação de três pontes dissulfeto, dando origem à pró-insulina. Essa, então, é direcionada para o Complexo de Golgi, onde será armazenada em vesículas.

Quando há estímulo para a secreção de insulina, enzimas específicas, denominadas **pró-hormônios convertases 1, 2 e 3** (PC 1, 2 e 3), promovem a hidrólise de duas ligações peptídicas na cadeia da pró-insulina, dando origem à insulina madura e ao peptídeo C (**Figura 33.1**).

A forma ativa do hormônio, agora, apresenta duas cadeias peptídicas unidas por pontes dissulfeto, e é transportada pelas vesículas secretórias através do Complexo de Golgi, que é extremamente desenvolvido nas Ilhotas de Langerhans, até a membrana plasmática onde será excitada.

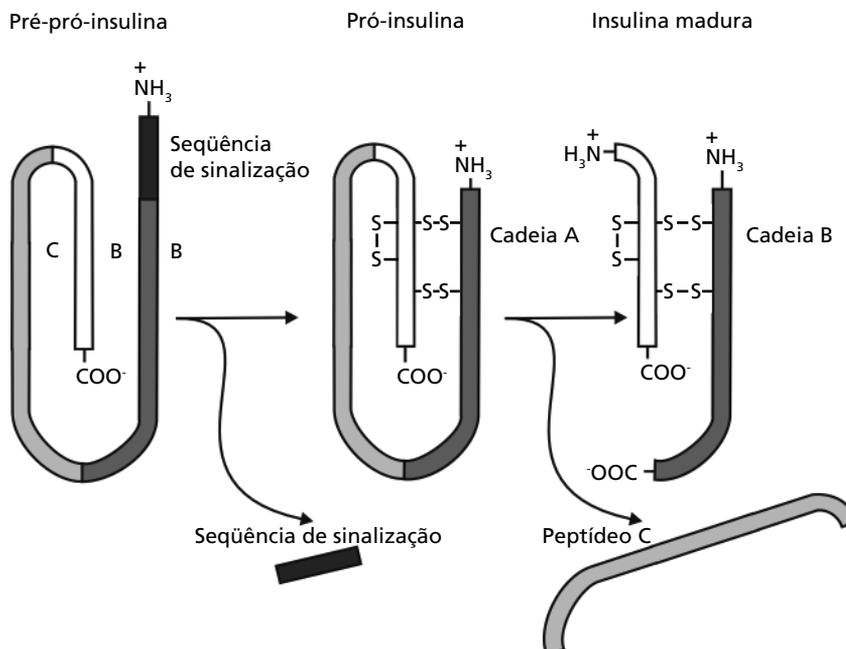


Figura 33.1: Processo de formação da insulina. A insulina madura é formada a partir de seu precursor pré-pró-insulina através de sucessivas reações de proteólise. A remoção de 23 aminoácidos (seqüência de sinalização) na região amino-terminal da pré-pró-insulina e a formação de três pontes dissulfeto produzem a pró-insulina. Posteriormente, nova proteólise remove o peptídeo C, formando a insulina madura, composta por duas cadeias – A e B.

Secreção de insulina pelas células β

As células β do pâncreas secretam quantidades precisas de insulina em resposta a sutis aumentos na concentração basal de glicose plasmática. O principal estímulo fisiológico para a secreção de insulina é, portanto, a glicose.

Quando nos alimentamos, a absorção dos nutrientes é um processo gradual e contínuo, que se inicia aproximadamente 20 minutos após o início da refeição. Os níveis plasmáticos de glicose após uma refeição podem chegar a mais de 10mM, ou seja, o dobro dos níveis basais. Portanto, é de suma importância que a secreção de insulina seja um processo também gradual, acompanhando as oscilações dos níveis plasmáticos de glicose.



Existem algumas drogas, utilizadas no tratamento do diabetes, denominadas hipoglicemiantes orais, que também estimulam a secreção de insulina (estímulo clínico).

Receptor e mecanismos de ação

O receptor de insulina faz parte da grande família dos **receptores tirosina cinase**. É uma glicoproteína composta de duas subunidades α , que contêm sítios de ligação para a insulina, e duas subunidades β , que atravessam a membrana plasmática da célula e apresentam atividade tirosina cinase em seus domínios citosólicos (**Figura 33.2**).

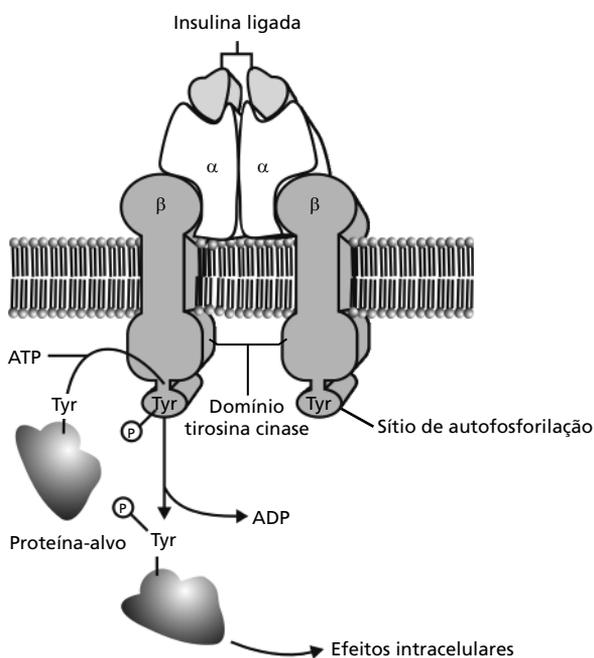


Figura 33.2: Diagrama esquemático do receptor da insulina. Os sítios de ligação da insulina estão mostrados na subunidade α e os sítios de fosforilação na subunidade β .

As subunidades α e β encontram-se unidas através de pontes dissulfeto. Após a ligação da insulina no sítio das subunidades α , uma rápida mudança conformacional se segue, provocando a autofosforilação de vários resíduos de tirosina na porção citosólica das subunidades β .

A autofosforilação resulta no aumento da atividade tirosina cinásica do receptor de insulina, iniciando a propagação de sinal através de interações proteína-proteína.

Atualmente, a insulina é um dos hormônios mais bem estudados. Entretanto, seu mecanismo de ação ainda está longe de ser completamente esclarecido. Sabe-se que a cascata de sinalização da insulina é muito complexa e cada vez mais novas proteínas são descritas.

! Os estudos referentes ao mecanismo de ação da insulina têm grande importância face à alta prevalência de *diabetes mellitus* em todo o mundo. O diabetes é a terceira maior enfermidade, que acomete pelo menos 3% da população européia e norte-americana e 100 milhões de pessoas em todo o mundo.

! Você aprendeu as características e a importância dos fosfolípídeos na disciplina Bioquímica I.

Uma classe de proteínas, conhecidas como **IRS** (*Insulin Receptor Substrate*, ou Substrato para o Receptor de Insulina), é diretamente fosforilada pelo receptor em seus resíduos de tirosina. Quando essas proteínas são fosforiladas, elas se associam a uma série de outras proteínas presentes na célula, modificando sua atividade. Uma das principais enzimas cuja atividade é modificada pela ligação ao IRS-1 é a **fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K)**. Essa enzima introduz um grupamento fosfato na posição 3 do anel inositol dos fosfoinosítídeos, que são fosfolípídeos localizados nas membranas plasmáticas ou de organelas. A PI3K apresenta uma subunidade regulatória (mais bem descrita) de 85kDa (**p85 α**), e uma subunidade catalítica de 110kDa (**p110**).

A subunidade p85 α associa-se ao IRS-1 e também à p110. A subunidade catalítica p110 é estimulada pela ligação à p85 α e, ainda mais, quando esta última está associada ao IRS-1 (**Figura 33.3**).

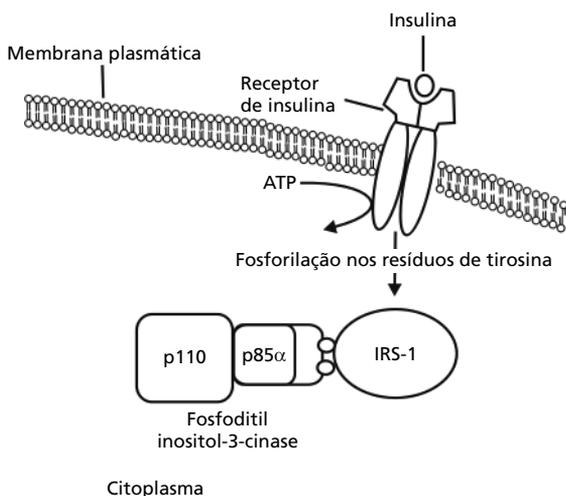


Figura 33.3: Esquema da transdução de sinal da insulina. O receptor da insulina ativo se liga temporariamente à IRS-1, fosforilando-a, e esta última se liga à subunidade regulatória p85 α da PI3K. O complexo IRS-1/PI3K transloca-se para membranas, promovendo a fosforilação do fosfatidilinositol.

Efeitos da insulina sobre a captação de glicose

Um dos principais efeitos promovidos pela PI3K é o aumento da captação de glicose por determinadas células, principalmente células musculares e células do tecido adiposo. Isso evita um aumento indesejável da concentração plasmática desse açúcar. Mas como isso ocorre?

A entrada de glicose nas células se dá através de proteínas transportadoras de glicose, que são chamadas GLUT (*Glucose Transporter*, ou seja, transportador de glicose). Os diferentes tecidos expressam diferentes tipos de GLUT (Tabela 33.1).

Tabela 33.1: Características dos transportadores de glicose

Transportador	K_M aproximado para glicose (mM)	Distribuição	Características
SGLT-1	0,2-0,5	Intestino e rim	Transporte dependente de Na^+ ; concentra glicose através da membrana epitelial apical
GLUT-1	10	Ampla distribuição, alta concentração nos eritrócitos e no endotélio	Transportador constitutivo de glicose
GLUT-2	20-42	Fígado, células β do pâncreas, rim e intestino delgado	Transportador de baixa afinidade e alta capacidade de transporte; funciona como um sensor de glicose
GLUT-3	1-5	Neurônios, placenta	Transportador de alta afinidade
GLUT-4	2-10	Músculo esquelético e cardíaco, tecido adiposo	Transportador dependente de insulina
GLUT-5	---	Intestino delgado, esperma, rim, cérebro, adipócitos e músculo	Transportador de frutose; afinidade muito baixa para glicose
GLUT-7	---	Hepatócitos	Transporta glicose através da membrana do retículo endoplasmático durante a gliconeogênese

Dentre os transportadores de glicose conhecidos, os GLUTs 4, que são expressos nas células do tecido adiposo e do músculo esquelético, são dependentes de insulina para captarem glicose. Isso se dá da seguinte forma: em células não estimuladas com insulina, esses transportadores encontram-se confinados em vesículas, localizadas no citosol.

A estimulação celular pela insulina promove a exocitose e translocação das vesículas contendo GLUT4 para a membrana plasmática, resultando em um aumento de até 30 vezes na captação de glicose por essas células. Ainda não está muito bem esclarecido como esse mecanismo ocorre. Alguns estudos mostraram que a associação da p110 da PI3K às vesículas é uma possível resposta (Figura 33.4). Como os tecidos adiposo e muscular correspondem, juntos, a aproximadamente 60% da massa corporal, o controle exercido pela insulina sobre a captação e utilização de glicose pelas células desses tecidos é fundamental para a normalização da glicemia no período absorptivo.

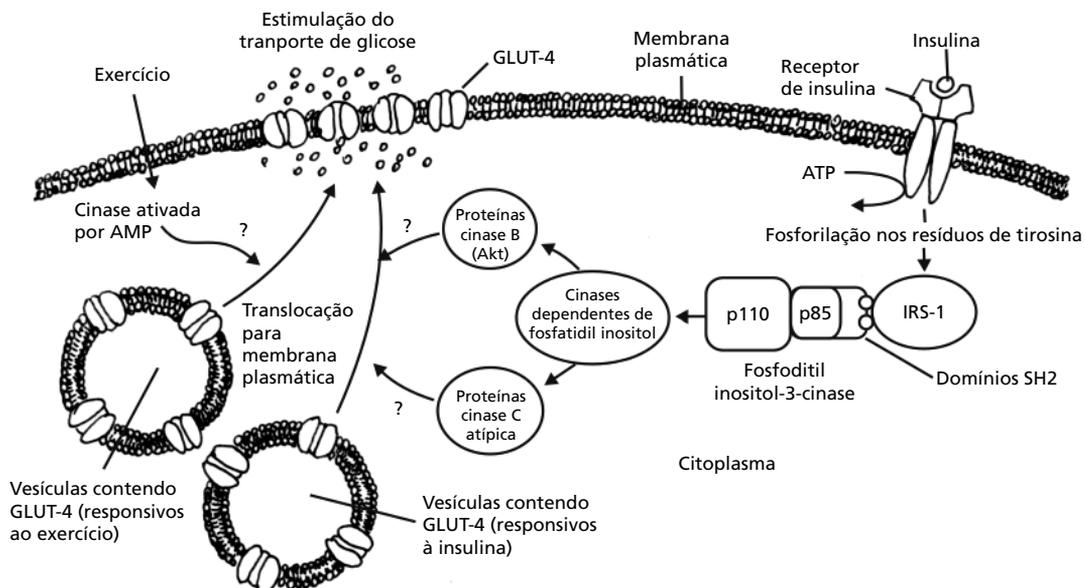


Figura 33.4: Efeito da insulina sobre os GLUT4. A ligação da insulina a seu receptor induz um aumento da atividade tirosina cinásica deste último. Um dos principais substratos desse receptor é a proteína IRS-1 que, fosforilada, vai ativar a PI3K. A fosforilação do fosfatidilinositol na posição 3, catalisada por essa enzima, levará à migração das vesículas contendo GLUT4 para a superfície das células adiposas e musculares. Quando a insulina se desliga dos receptores, os transportadores de glicose GLUT4 são internalizados por endocitose e armazenados em vesículas citoplasmáticas.

Outros efeitos da insulina no metabolismo

Além de estimular a captação de glicose pelo músculo e pelo tecido adiposo, a insulina provoca uma série de outros efeitos sobre o metabolismo de diversos tipos celulares. Os mecanismos envolvidos nesses efeitos não estão todos completamente elucidados. Optamos, então, por listar apenas os efeitos finais, sem descrever as etapas enzimáticas diretamente envolvidas na regulação pela insulina. Cabe ressaltar que grande parte desses efeitos resulta da ativação de fosfatases que defosforilam as enzimas que são fosforiladas pela PKA. Segue a lista com os principais efeitos da insulina em diferentes tecidos:

Fígado:

- Ativação da glicólise e inibição da gliconeogênese;
- Ativação da síntese de glicogênio e inibição da sua degradação;
- Ativação da síntese de ácidos graxos;
- Ativação da via das pentoses.

Músculo:

- Aumento da captação de glicose;
- Ativação da síntese de glicogênio e inibição da sua degradação.

Tecido adiposo:

- Aumento da captação de glicose;
- Ativação da síntese de ácidos graxos;
- Ativação da via das pentoses.

Repare que todos os resultados da ação da insulina sobre as vias metabólicas resultam em uma maior utilização da glicose, permitindo uma rápida redução da glicemia e a produção de reservas energéticas com o excedente de glicose.

GLICOCORTICÓIDES

Os corticóides são hormônios esteróides sintetizados exclusivamente no **CÓRTEX** das glândulas supra-renais (adrenais). Esses hormônios podem ser divididos em duas classes principais, os **mineralocorticóides**, assim denominados por estarem envolvidos com a regulação do equilíbrio de íons, principalmente sódio e potássio, dos quais não falaremos nesta aula, e os **glicocorticóides**, assim denominados devido ao seu papel central na regulação do metabolismo de carboidratos, mas que também estão envolvidos na regulação de diversas outras vias metabólicas, como a via de síntese e degradação de ácidos graxos, além de desempenharem papel central na mediação da resposta imunológica.

Natureza química dos glicocorticóides

Os glicocorticóides são sintetizados a partir do colesterol por uma série de reações químicas complexas que não serão exploradas nesta aula. Os glicocorticóides naturais mais importantes são o cortisol e a corticosterona (Figura 33.5). Um homem adulto produz diariamente de 10 a 30mg de cortisol e de 2 a 4mg de corticosterona.

CÓRTEX

Em um indivíduo adulto, o córtex compreende 90% do tamanho total da glândula supra-renal, sendo os outros 10% constituídos pela medula. Do ponto de vista histológico, o córtex supra-renal pode ser dividido em três zonas: (a) a zona mais externa, chamada zona glomerular, responsável pela síntese dos mineralocorticóides; (b) a zona média, chamada zona fasciculada, que é a maior das três zonas, constituindo cerca de 75% do córtex supra-renal; e (c) a zona mais interna, denominada zona reticular. As duas últimas são responsáveis pela síntese dos glicocorticóides, dos androgênios e dos estrogênios supra-renais.

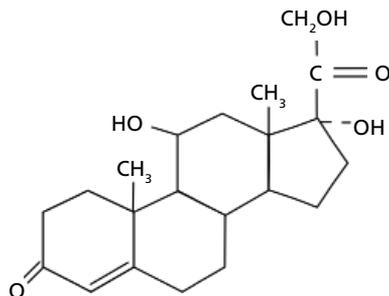


Figura 33.5: Estrutura química do cortisol.

Secreção de glicocorticóides

A produção de glicocorticóides é regulada pelo **hormônio adrenocorticotrófico (ACTH)**, um hormônio peptídico produzido pela **GLÂNDULA PITUITÁRIA**.

O controle da secreção de glicocorticóides se dá principalmente em dois níveis. O primeiro nível pode ser considerado constitutivo, e determina o ritmo circadiano de secreção dos glicocorticóides. Todos os mamíferos apresentam um pico de secreção de ACTH (e posteriormente de glicocorticóides) algumas horas antes do despertar. O horário dessa secreção pode ser reajustado em poucos dias, adaptando-se a mudanças nos hábitos noturno e diurno do indivíduo. Um segundo nível de controle de secreção de glicocorticóides se relaciona à resposta ao estresse. Sabe-se que estresses de qualquer natureza, como alimentar, hídrico, choques e traumas, dentre outros, disparam a secreção de glicocorticóides.

A liberação de ACTH pela glândula pituitária, por sua vez, pode ser regulada por um outro hormônio peptídico, o **hormônio liberador de corticotrofina (CRH)** (*corticotrophin releasing hormone*). Esse hormônio é produzido no hipotálamo e levado à adeno-hipófise por um sistema de vasos do tipo porta. Assim, diz-se que a produção e a secreção dos glicocorticóides se encontram sob o controle do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal.

GLÂNDULA PITUITÁRIA

A glândula pituitária, também conhecida como hipófise, às vezes recebe também o nome de glândula “mestra” do sistema endócrino, por controlar as funções das outras glândulas endócrinas. A glândula pituitária está localizada na base do cérebro, unida ao hipotálamo (uma parte do cérebro que influi na glândula pituitária) por meio de fibras nervosas. Vários hormônios são produzidos pela hipófise, como o hormônio do crescimento, a prolactina, o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), o hormônio estimulante da tireóide (TSH), o hormônio folículo-estimulante (FSH), o hormônio luteinizante (LH), o hormônio estimulante dos melanócitos, o hormônio antidiurético (ADH) e a oxitocina.

Mecanismo de ação dos glicocorticóides

Ao contrário dos hormônios peptídicos, os glicocorticóides não necessitam ligar-se a receptores na membrana celular para desempenhar seus principais papéis. Por serem lipídeos, esses hormônios apresentam natureza hidrofóbica, podendo assim atravessar a membrana e encontrar receptores específicos intracelulares, localizados no citoplasma ou no núcleo das células-alvo. A ligação do hormônio promove mudanças conformacionais no receptor, resultando na formação de um complexo ativado, com alta afinidade por determinados sítios do DNA, chamados elementos regulatórios. Geralmente, a ligação do complexo hormônio-receptor a esses elementos regulatórios afeta a expressão gênica, induzindo ou reprimindo a iniciação da transcrição de genes específicos. Os produtos da tradução dos RNA mensageiros de síntese regulada por esses hormônios promoverão efeitos metabólicos nas células-alvo.



Lembre-se! Você já aprendeu na Aula 31 que receptores hormonais podem ser subdivididos em dois grupos principais: aqueles que se encontram na superfície celular e vão mediar respostas citoplasmáticas e aqueles de localização intracelular e que vão atuar geralmente no núcleo da célula-alvo.

Efeitos dos glicocorticóides no metabolismo

Um dos principais efeitos dos glicocorticóides se dá sobre a via gliconeogênica. Analise os resultados experimentais descritos a seguir e tire suas conclusões sobre os efeitos dos glicocorticóides sobre essa via metabólica.

Nesta experiência, Viru e colaboradores mediram a concentração de glicose sanguínea em ratos-controle e ratos adrenalectomizados (cuja adrenal foi retirada), antes e após um exercício intenso, obtendo os resultados mostrados na **Tabela 33.2**.

Tabela 33.2: Efeito do exercício na glicemia de ratos-controle e adrenalectomizados.

Condição	Concentração de glicose sanguínea (mM)	
	controle	adrenalectomizado
Repouso	6,12 ± 0,22	4,88 ± 0,38
Pós-exercício	5,63 ± 0,29	2,95 ± 0,41

Esses resultados demonstram, de forma bastante clara, que a glicemia é significativamente menor nos ratos adrenalectomizados, sugerindo um papel importante dos glicocorticóides na ativação da via gliconeogênica.

Mas quais seriam os mecanismos responsáveis por esse aumento da atividade gliconeogênica induzida por glicocorticóides?

Vamos analisar outros resultados experimentais. Em 1960, Weber e colaboradores estudaram os efeitos dos corticóides na atividade de duas enzimas-chave das gliconeogênicas: **GLICOSE-6-FOSFATASE** E **FRUTOSE-1,6 BIFOSFATASE**. Após administração de um glicocorticóide (dia sim, dia não), eles sacrificavam animais de três lotes (controle, tratados com glicocorticóide e tratados com glicocorticóide + actinomicina D, um inibidor de transcrição). Extraíam o fígado e faziam os ensaios da atividade enzimática no homogenato. Nos animais remanescentes, continuavam a injetar cronicamente o glicocorticóide até o fim da experiência no 13º dia. Os resultados por eles obtidos podem ser observados na **Figura 33.6**.

GLICOSE-6-FOSFATASE E FRUTOSE-1,6 BIFOSFATASE

Caso você tenha esquecido a importância das enzimas glicose-6-fosfatase e frutose-1,6 bifosfatase na gliconeogênese, volte às Aulas 29 e 30.

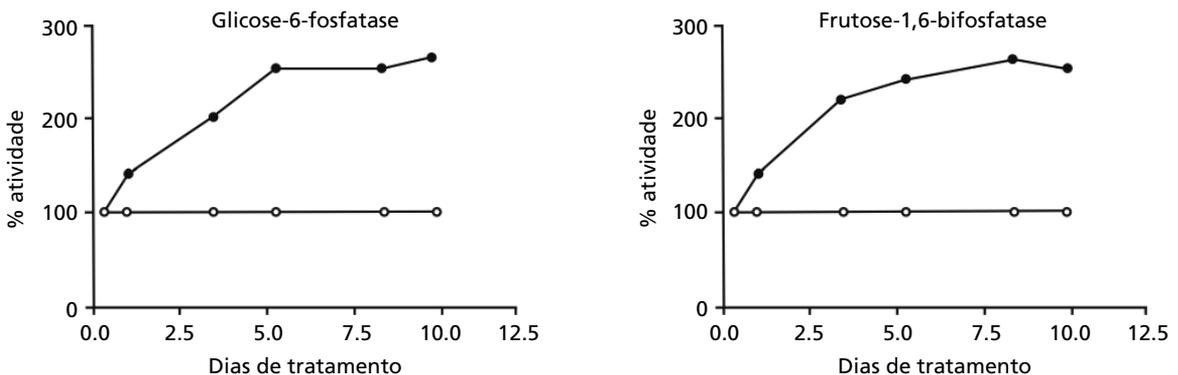


Figura 33.6: Atividade das enzimas gliconeogênicas durante tratamento com glicocorticóides. 100%: atividades obtidas nos animais controle; (•) tratados com glicocorticóide; (o) tratado com glicocorticóide + actinomicina D.

Que conclusões você pode tirar dessa experiência?

Agora, observe os resultados obtidos em outra experiência.

Você sabe que a gliconeogênese é uma via metabólica para síntese de glicose a partir de precursores não glicídicos que têm, como uma de suas etapas limitantes, a conversão de oxaloacetato em fosfoenolpiruvato (PEP), catalisada pela enzima **fosfoenolpiruvato carboxicinase (PEPCK)**. Em 1986, Hoppner e colaboradores mediram os níveis de RNA mensageiro para a PEPCK, em cultura de hepatócitos, na presença ou ausência de dexametasona (um glicocorticóide sintético), obtendo os resultados mostrados na **Tabela 33.3**.

Tabela 33.3: Níveis de RNA mensageiro para a PEPCK de hepatócitos em cultura, mantidos na presença ou ausência de glicocorticóides.

Condição	RNA da PEPCK (% mRNA total)
Controle	0,023 ± 0,005
Dexametasona	0,052 ± 0,004

Com este experimento, podemos compreender que os glicocorticóides são capazes de ativar a gliconeogênese através da indução da transcrição e síntese da PEPCK, levando, assim, a um aumento dos níveis celulares totais dessa enzima.

Além de ativarem a gliconeogênese, os glicocorticóides também agem sobre o metabolismo de aminoácidos e proteínas.

O tratamento de células musculares com glicocorticóides aumenta em, pelo menos, 20% a degradação de proteínas. Imagina-se que os aminoácidos resultantes sejam secretados pelo músculo para a corrente sanguínea, ficando assim disponíveis para outros órgãos, principalmente o fígado. Neste órgão, os aminoácidos podem ser utilizados como substrato para a gliconeogênese ou como substratos para a síntese das diversas proteínas hepáticas, cuja produção é justamente estimulada pelos glicocorticóides.

A expressão de importantes enzimas relacionadas ao metabolismo de aminoácidos, as **TRANSAMINASES**, também pode ser estimulada pelos glicocorticóides. O aumento da síntese dessas enzimas pode ser observado em diversos tecidos, mas principalmente no músculo e no fígado. No músculo, acredita-se que esse efeito esteja relacionado ao aumento da secreção de alanina e glutamina. Uma vez no plasma, esses aminoácidos podem ser então captados pelo fígado e, com a ajuda das transaminases recém-sintetizadas, convertidos a piruvato ou a intermediários do ciclo de Krebs que podem ser utilizados como substratos para a gliconeogênese.

TRANSAMINASES

Você aprendeu sobre as transaminases nas Aulas 17, 18 e 19.

RESUMO

Nesta aula, abordamos os principais aspectos relacionados aos hormônios insulina e glicocorticóides.

A insulina é uma pequena proteína secretada pelas células β das Ilhotas de Langerhans do pâncreas, em resposta ao aumento da glicemia. O receptor da insulina tem atividade tirosina cinase que é ativada pela ligação da insulina. O receptor se autofosforila e, então, fosforila algumas proteínas intracelulares em seus resíduos de tirosina. A principal proteína fosforilada é o IRS-1. Essa proteína se associa a várias enzimas, modificando sua atividade. Uma das principais enzimas com atividade modulada pela ligação do IRS-1 é a PI3K. Os efeitos da insulina sobre o metabolismo estão relacionados a um aumento na captação e utilização da glicose pelas diferentes células do organismo. A captação de glicose pelo músculo e pelo tecido adiposo é aumentada em muitas vezes. Esses tecidos passam a usar a glicose e a produzir suas reservas, o glicogênio e os triacilgliceróis, respectivamente. A utilização da glicose também é aumentada no fígado, que repõe suas reservas de glicogênio e sintetiza ácidos graxos.

Os glicocorticóides são secretados pelo córtex da glândula adrenal em resposta ao aumento nos níveis sanguíneos de ACTH, que, por sua vez, aumentam por um estímulo do hipotálamo em decorrência de vários tipos de estresse. O principal glicocorticóide humano é o cortisol. Por sua natureza lipídica, esses hormônios atravessam a membrana da célula, ligam-se a receptores intracelulares e atuam sobre a expressão gênica. As principais enzimas cujos genes são regulados pelos glicocorticóides são as transaminases e as enzimas gliconeogênicas PEPCK, frutose-1,6-bifosfatase e glicose-6-fosfatase. O resultado de sua ação é, principalmente, o aumento da produção de glicose pelo fígado, especialmente a partir de aminoácidos provenientes da degradação de proteínas musculares.

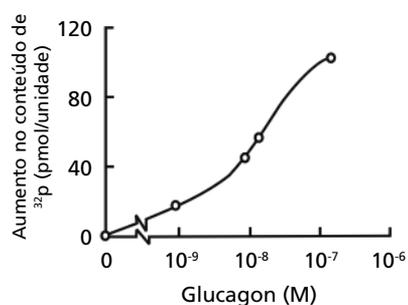
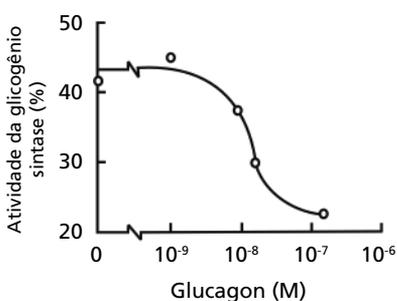
EXERCÍCIOS REFERENTES ÀS AULAS 31, 32 E 33

1. A meia-vida da maioria dos hormônios no sangue é relativamente curta. Por exemplo, se injetarmos insulina marcada radioativamente em um animal, metade do hormônio desaparecerá do sangue após 30min.

- Qual é a importância dessa inativação relativamente rápida dos hormônios circulantes?
- Tendo em vista essa rápida inativação, como o nível de hormônios circulantes se mantém constante em condições normais?
- De que maneira é possível a ocorrência de mudanças nas concentrações de hormônios circulantes?

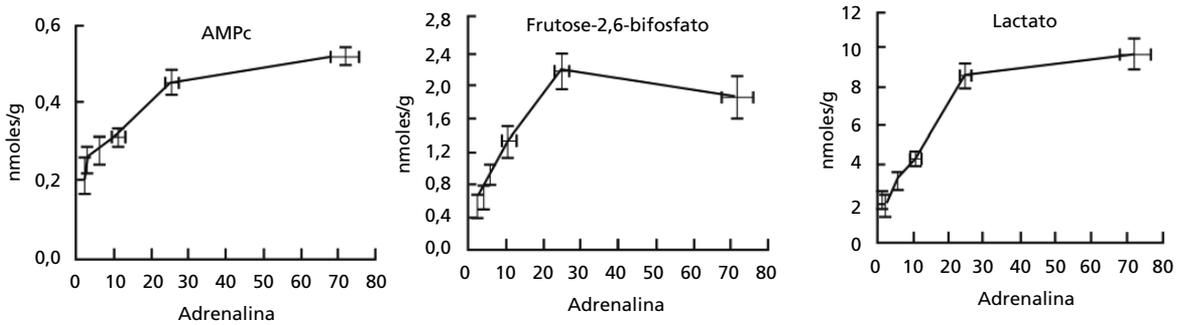
2. Com base em suas propriedades químicas, os hormônios podem ser classificados em duas categorias: aqueles que são muito solúveis em água, mas relativamente insolúveis em lipídeos (por exemplo, a adrenalina); e aqueles que são relativamente insolúveis em água, mas muito solúveis em lipídeos (por exemplo, os hormônios esteróides). Comente as implicações entre as características químicas dessas duas classes de hormônios e seu mecanismo de ação.

3. Ramachandran e colaboradores, em 1983, perfundiram fígados de rato com diferentes concentrações de glucagon e determinaram a atividade da glicogênio sintase, bem como o conteúdo de fosfato associado a ela. Os resultados estão mostrados na figura a seguir:



- Interprete a figura, correlacionando os resultados dos dois gráficos.
- Quais seriam os resultados obtidos se fossem medidos os níveis de frutose-2,6-bifosfato e a atividade da glicogênio fosforilase?

4. A adrenalina é um hormônio sintetizado na medula da glândula adrenal a partir do aminoácido tirosina. Esse hormônio é secretado em resposta a diferentes tipos de estresse. Os gráficos a seguir mostram o resultado de uma experiência na qual células de músculo esquelético de rato foram incubadas com concentrações crescentes de adrenalina.



- Justifique as alterações observadas nos níveis intracelulares dos diferentes metabólitos.
- Quais seriam as variações observadas, se essas células fossem incubadas com glucagon? Justifique.

5. Durante situações de "fuga ou luta", a liberação de adrenalina promove a degradação do glicogênio no fígado, no músculo esquelético e no coração. O produto final da quebra do glicogênio no fígado é a glicose, enquanto no músculo é piruvato ou lactato.

- Por que são observados diferentes produtos da degradação do glicogênio nos dois tecidos?
- Para o organismo, qual é a vantagem adaptativa de existirem esses dois diferentes destinos do glicogênio em situações de "fuga ou luta"?

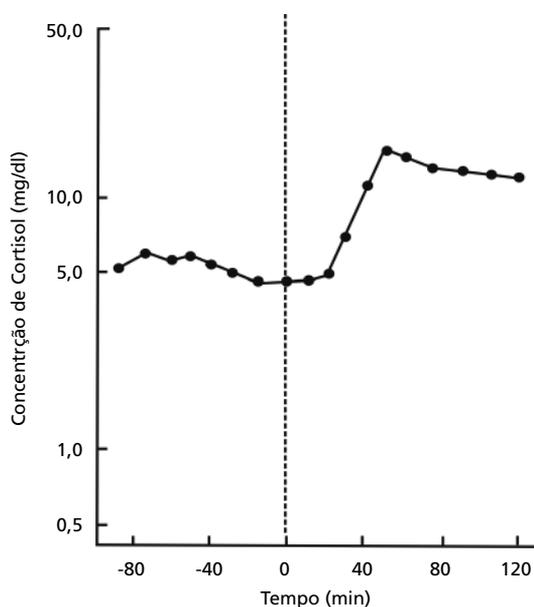
6. Com base nos conhecimentos adquiridos a respeito da ação da insulina sobre a captação de glicose por alguns tipos celulares, explique os resultados obtidos no experimento descrito a seguir:

Por volta de 1985, diversos pesquisadores fizeram culturas de diferentes tipos de tecidos para estudar a captação de glicose por essas células. Os ensaios foram realizados a partir da adição de 3-metil-glicose (um análogo não metabolizado da glicose) ao meio de cultura, contendo ou não insulina. Os resultados estão dispostos na tabela seguinte:

Tipo Celular	3-metil-glicose		3-metil-glicose + insulina	
	g/dia	$\mu\text{mol/g}$ tecido/min	g/dia	$\mu\text{mol/g}$ tecido/min
Fígado	107	0,3	104	0,3
Cérebro	110	0,31	112	0,3
Músculo esquelético	98	0,01	980	0,1

7. Descreva dois efeitos da insulina sobre o metabolismo energético diferentes daqueles descritos no exercício anterior.

8. No gráfico abaixo, a linha tracejada indica a administração de um composto hipoglicemiante (diminui a concentração sanguínea de glicose).



- Relacione a hipoglicemia com a variação observada na concentração de cortisol.
- Descreva o mecanismo de ação dos glicocorticóides, ressaltando seu papel na utilização de aminoácidos para a reposição da glicose sanguínea.

Bioquímica II

Gabarrito

1. a) A inativação fornece uma maneira rápida de mudar a concentração sanguínea do hormônio, permitindo um controle preciso de seus efeitos.
b) Os níveis dos hormônios podem ser mantidos constantes se suas taxas de síntese e degradação são equivalentes.
c) Outras maneiras de variar a concentração de hormônios no sangue são o controle sobre as taxas de liberação dos estoques intracelulares, de transporte, e de conversão de um precursor do hormônio em sua forma ativa.
2. Os hormônios solúveis em água exercem seus efeitos a partir de sua ligação a receptores presentes na superfície externa da célula, desencadeando a formação de um segundo mensageiro no interior da célula; geralmente levam à modificação da atividade de enzimas pré-existentes. Os hormônios lipossolúveis atravessam a membrana celular e agem sobre moléculas-alvo ou receptores diretamente; geralmente levam à modificação da expressão gênica, modificando o número de enzimas disponíveis.
3. a) À medida que a concentração de glucagon no meio de perfusão aumenta, a atividade da glicogênio sintase diminui, e a quantidade de fosfato associado essa enzima aumenta. Isso ocorre porque o glucagon, ao se ligar ao seu receptor na superfície dos hepatócitos, desencadeia uma série de eventos que culminam com a ativação da PKA. Esta enzima catalisa a fosforilação de diversas enzimas, dentre as quais a glicogênio sintase. Por isso, o conteúdo de fosfato associado à enzima aumenta. A fosforilação da glicogênio sintase inibe sua atividade, justificando o primeiro gráfico.
b) A concentração hepática de frutose-2,6-bifosfato diminuiria, já que a fosforilação da enzima bifuncional fosfofrutocinase2/frutose-2,6-bifosfatase ativa sua porção frutose-2,6-bifosfatase, levando à conversão de frutose-2,6-bifosfato em frutose-6-fosfato. A atividade da glicogênio fosforilase aumentaria, pois esta enzima também é substrato para a PKA, sendo o efeito da sua fosforilação a sua ativação.

4. a) Os níveis de AMPc aumentam em resposta ao aumento da concentração de adrenalina no meio de incubação. Isso ocorre porque a ligação da adrenalina ao seu receptor celular desencadeia mudanças conformacionais no receptor que alteram sua interação com a proteína G associada a ele, levando à dissociação da subunidade α , que passa a interagir com a adenilato ciclase, ativando-a. A adenilato ciclase catalisa a conversão de ATP em AMPc, aumentando, assim, os níveis intracelulares deste metabólito.

Os níveis de F2,6BP aumentam em resposta ao aumento da concentração de adrenalina no meio de incubação. Isso ocorre porque o AMPc se liga às subunidades regulatórias da PKA, levando a sua dissociação das subunidades catalíticas. Estas últimas passam a catalisar a fosforilação de uma série de proteínas celulares, dentre as quais a enzima bifuncional PFK2/F2,6Bpase. A fosforilação da isoforma muscular desta enzima promove a ativação de sua atividade PFK e a inibição de sua atividade F2,6Bpase, levando à conversão de F6P em F2,6BP.

Os níveis de lactato aumentam em resposta ao aumento da concentração de adrenalina no meio de incubação. Isso ocorre porque F2,6BP é um potente ativador da enzima glicolítica PFK, aumentando, assim, o fluxo glicolítico. Como o aporte de oxigênio é insuficiente para a completa oxidação da glicose, o excesso de piruvato formado na via glicolítica é convertido em lactato, permitindo a reoxidação dos NADH formados na glicólise e a continuidade do metabolismo anaeróbico.

- b) Não seria observado nenhum efeito já que as células musculares não possuem receptores para glucagon.

5. a) As células do coração e do músculo esquelético não possuem a enzima glicose-6-fosfatase. Assim, a glicose-6-fosfato produzida entra na via glicolítica, e, em condições de deficiência de oxigênio, é convertida a lactato via piruvato. Cabe ressaltar, ainda, que a via glicolítica se torna bastante ativada pela ação da adrenalina, uma vez que a isoforma muscular da enzima bifuncional (fosfofrutocinase2/frutose-2,6-bifostase) passa a ter atividade fosfofrutocinase2 em decorrência de sua fosforilação pela PKA, levando a um aumento da concentração de frutose-2,6-bifosfato, que, por sua vez, ativa a enzima-chave da glicólise fosfofrutocinase1.

b) Intermediários fosforilados não podem sair da célula porque a membrana não é permeável a moléculas carregadas. Em situações de “fuga ou luta”, a concentração de precursores glicolíticos devem ser altas para garantir a atividade muscular em anaerobiose. O fígado, por outro lado, deve liberar a glicose necessária para manter a glicemia. A glicose-6-fosfato formada no fígado é convertida em glicose pela enzima hepática glicose-6-fosfatase sendo, então, liberada na corrente sanguínea.

6. A presença de insulina no meio de incubação promove um grande aumento na captação de glicose pelas células musculares (~10 vezes), enquanto nenhuma alteração é observada na captação de glicose pelo fígado ou pelo cérebro. Os transportadores de glicose expressos nas células do músculo esquelético, os GLUTs 4, são dependentes de insulina para captarem glicose. Isso se dá da seguinte forma: em células não estimuladas com insulina, esses transportadores encontram-se confinados em vesículas, localizadas no citosol. A estimulação celular pela insulina promove a autofosforilação do receptor da insulina, o que resulta no aumento da sua atividade tirosina cinase. O receptor catalisa, então, a fosforilação da proteína IRS-1, que, quando fosforilada, associa-se a várias proteínas celulares, dentre as quais, a PI3K. Esta enzima se torna ativa e catalisa a fosforilação do fosfatidilinositol presente em membranas celulares. Este sinal leva à translocação das vesículas contendo GLUT4 para a membrana plasmática, resultando em um aumento na captação de glicose por essas células.

Os GLUTs presentes nas células hepática e cerebrais se encontram constantemente na superfície celular, possibilitando a captação de glicose mesmo na ausência de insulina.

7. Grande parte dos efeitos resulta da ativação de fosfatases que defosforilam as enzimas que são fosforiladas pela PKA. Uma das conseqüências é a ativação da glicogênio sintase e inibição da glicogênio fosforilase, resultando no aumento da síntese de glicogênio e inibição da sua degradação, tanto no fígado como no músculo. Podemos citar também a ativação da acetil-CoA carboxilase devido à sua defosforilação. Isso resulta na ativação da síntese de ácidos graxos, tanto no fígado como no tecido adiposo. De uma maneira geral, os resultados da ação da insulina sobre as vias metabólicas resultam em uma maior utilização da glicose, permitindo uma rápida redução da glicemia e a produção de reservas energéticas com o excedente de glicose.

8. a) A secreção de glicocorticóides pode se desencadear em resposta a estresses de diferentes naturezas, dentre os quais, a hipoglicemia. A baixa concentração sanguínea de glicose é percebida por uma região especializada do hipotálamo, induzindo a secreção de um hormônio peptídico, o hormônio liberador de corticotrofina (CRH) (*corticotrophin releasing hormone*). Este hormônio induz a liberação de ACTH pela glândula pituitária. O ACTH atua na glândula adrenal, estimulando a produção de glicocorticóides.
- b) Os glicocorticóides são hormônios lipídicos, podendo atravessar a membrana da célula e ligar a receptores intracelulares. O complexo formado pelo glicocorticóide associado ao seu receptor atua sobre a expressão gênica. Assim, esses hormônios são capazes de induzir a expressão de uma série de enzimas, dentre as quais as transaminases, importantes enzimas relacionadas ao metabolismo de aminoácidos. Isso favorece a conversão dos aminoácidos a piruvato ou a intermediários do ciclo de Krebs, que podem ser utilizados como substratos para a gliconeogênese. Os glicocorticóides também induzem a transcrição e a síntese de várias enzimas da gliconeogênese, como a PEPCK, a F1,6BPase e a G6Pase, levando, assim, a um aumento dos níveis celulares totais dessas enzimas. Assim, o resultado da ação dos glicocorticóides é, principalmente, o aumento da produção de glicose pelo fígado, especialmente a partir de aminoácidos provenientes da degradação de proteínas musculares.

