



Ciências Biológicas



Cadernos CB Virtual 2

❖ Rafael Angel Torquemada Guerra (Org.)

❖ Amélia Iacca Kanagawa ❖ Creusoni Figueredo dos Santos

❖ Fabiana Sena da Silva ❖ Frederico Barbosa de Sousa

❖ Gilmara Alves Cavalcanti ❖ Jorge Adriano Lubenow

❖ Marcio Bernardino da Silva ❖ Maria Alice Neves

❖ Roberto Menezes



**Universidade Federal da Paraíba
Universidade Aberta do Brasil
UFPB VIRTUAL
COORDENAÇÃO DO CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS À DISTÂNCIA**

Caixa Postal 5046– Campus Universitário - 58.051-900 – João Pessoa

Fone: 3216-7838 e 8832-6059

Home-page: portal.virtual.ufpb.br/biologia

UFPB

Reitor

Rômulo Soares Polari

Pró-Reitor de Graduação

Valdir Barbosa Bezerra

UFPB Virtual

Coordenador

Renata Patrícia Jerônimo Moreira

Edson de Figueiredo Lima Junior

Centro de Ciências Exatas e da Natureza

Diretor

Antônio José Creão Duarte

Departamento de Sistemática e Ecologia

Chefe

Juraci Alves de Melo

**Curso de Licenciatura em Ciências
Biológicas à Distância**

Coordenador

Rafael Angel Torquemada Guerra

Coordenação de Tutoria

Diego Bruno Milanês Lopes

Coordenação Pedagógica

Isolda Ayres Viana Ramos

Coordenação de Estágio

Paulo César Geglio

Coordenação de TCC

José Vaz Neto

Apoio de Designer Instrucional

Luizângela da Fonseca Silva

Artes, Design e Diagramação

Romulo Jorge Barbosa da Silva

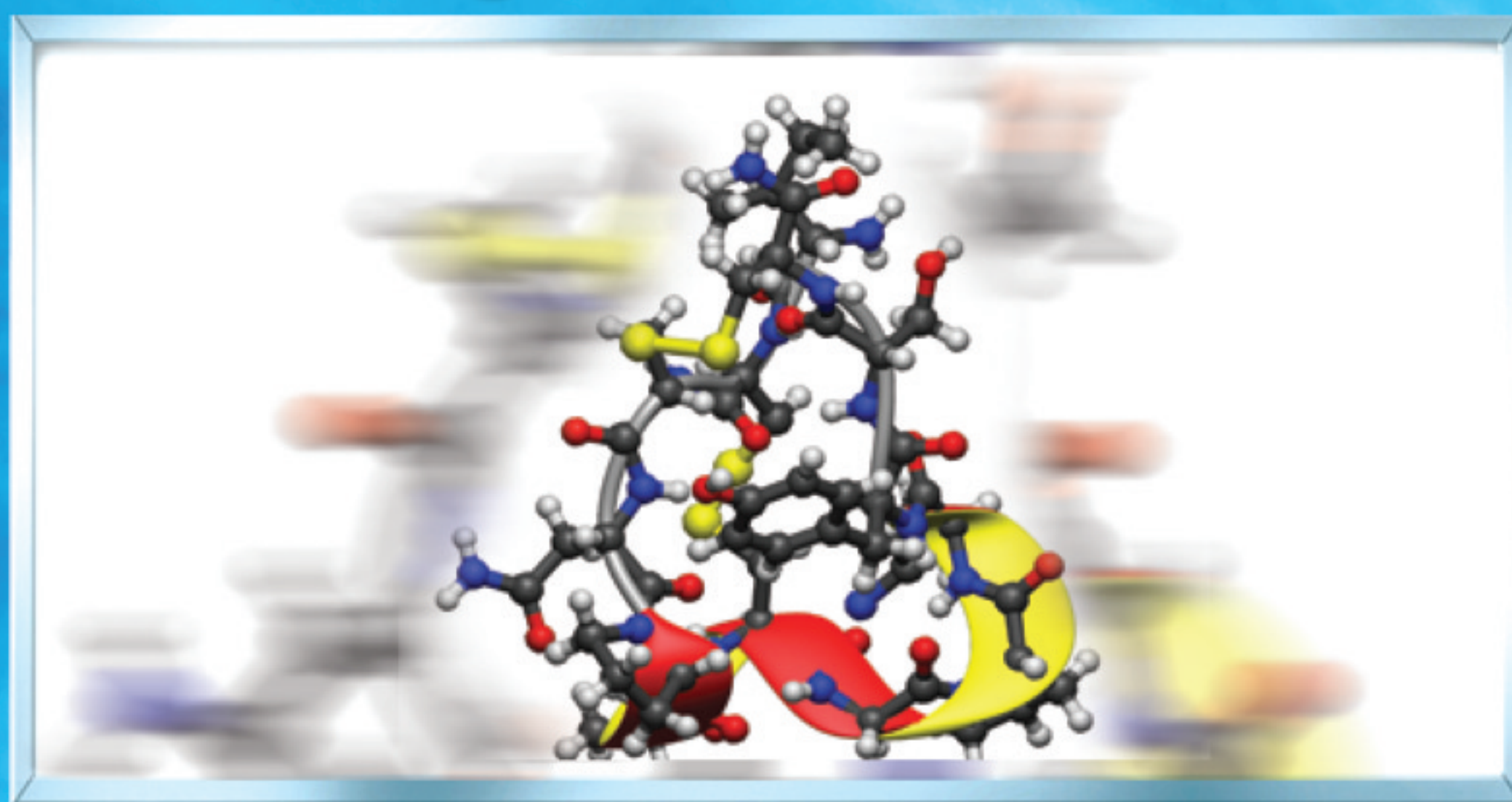
Apoio Áudio Visual

Edgard Adelino Ruiz Sibrão

C 569 Cadernos Cb Virtual 2 / Rafael Angel
Torquemada Guerra ... [et al.].-
João Pessoa: Ed. Universitária, 2011.
610p. : Il.
ISBN: 978-85-7745-902-5
Educação a Distância. 2. Biologia
I. Guerra, Rafael Angel Torquemada.
UFPB/BC CDU: 37.018.43

Bioquímica Metabólica

Creusioni Figueredo dos Santos



BIOQUÍMICA METABÓLICA

Creusoni Figueredo dos Santos

UNIDADE 1

DIGESTÃO E ABSORÇÃO DE NUTRIENTES

1. INTRODUÇÃO

Para que as moléculas da alimentação sejam aproveitadas pelo organismo, é necessário que sejam degradadas e absorvidas pelo trato digestivo, levadas pela corrente sanguínea até os órgãos competentes da metabolização. A presença de alimento na boca, a simples visão, pensamento ou o cheiro do alimento estimulam a produção de saliva, sendo assim a digestão dos alimentos começa na boca pela amilase salivar. A passagem do bolo alimentar no sistema digestivo estimula a secreção e ação de hormônios pelo pâncreas e fígado que estão ligados aos processos digestivos. No suco gástrico, o pepsinogênio (forma inativa) é transformado em pepsina (ativa) pela ação do baixo pH. A maquinaria enzimática é quase toda secretada pelo pâncreas e pelo fígado no duodeno. O pâncreas também é responsável pela neutralização do pH para que as enzimas possam atuar em seu pH ótimo por volta de 7,2 (**Figura 1, Tabela. 1**).

Figura 1-Sinalização hormonal sobre o fígado e o pâncreas



Tabela. 1.Produção hormonal, órgãos excretadores e órgãos alvo.

| Hormônio | Local de produção | Órgão alvo | Função |
|-----------------------|-------------------|----------------------------|--|
| Gastrina (1) | estômago | estômago | Estimula a produção de suco gástrico. |
| Secretina (2) | intestino delgado | pâncreas | Estimula a liberação de bicarbonato. |
| Colecistocinina (3,4) | intestino delgado | pâncreas e vesícula biliar | Estimula a liberação da bile pela vesícula biliar e a liberação de enzimas pancreáticas. |
| Enterogastrona (5) | intestino delgado | estômago | Inibe o peristaltismo estomacal e a produção de gastrina. |

2. ALIMENTAÇÃO E SEU VALOR CALÓRICO

Quando o valor calórico dos alimentos ingeridos em um determinado tempo supera o total da energia consumida no mesmo período, os alimentos excedentes são convertidos em gorduras corporais. Essa conversão acontece mais facilmente quando ingerimos gorduras do que quando ingerimos proteínas ou carboidratos.

O estoque de glicose é representado pelo glicogênio armazenado no fígado e nos músculos. Enquanto houver glicose disponível, ela será usada, e o metabolismo das gorduras será interrompido. Em um adulto em jejum, o estoque de glicogênio esgota-se dentro de 12 a 24 horas. A seguir, são consumidas as reservas de gordura e, se necessário, as de proteína, posteriormente. As células podem usar até 50% de suas proteínas como fonte de energia, antes da ocorrência de morte celular.

Exercícios

1. Quais são os órgãos responsáveis pela digestão?
2. Qual é a função da colestocinina?

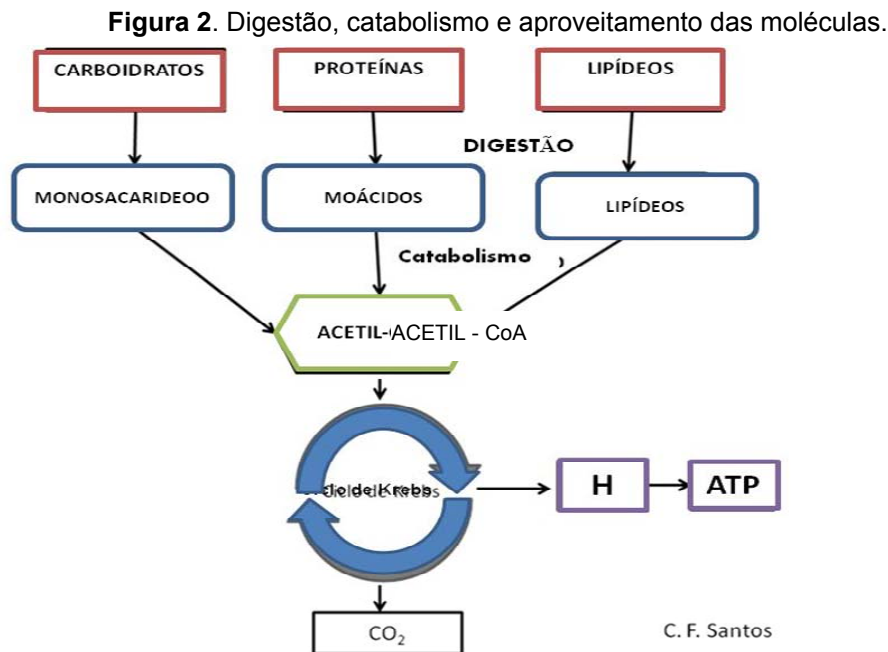
Discussão

Função desse órgão na digestão dos lipídeos.

UNIDADE 2 METABOLISMO DOS CARBOIDRATOS

1. CONCEITOS BÁSICOS

Todo alimento depois que é digerido e suas unidades absorvidas e metabolizadas, a energia produzida é aproveitada na forma de ATP (**Figura 2**).



- **Metabolismo** é o conjunto de reações químicas que ocorrem nas células e que lhe permitem manter-se viva, crescer e dividir-se. O metabolismo divide-se classicamente em:
 - **Catabolismo** - obtenção de energia e poder redutor a partir de macromoléculas como proteínas, triacilgliceróis.
 - **Anabolismo** - produção de novos componentes celulares, em processos que geralmente utilizam a energia e o poder redutor a partir de moléculas menores como aminoácidos.
 - **Bioquímica Metabólica** - Trata do anabolismo e catabolismo: degradação de aminoácidos e do ciclo da uréia, metabolismo dos ácidos graxos, glicólise, ciclo de Krebs, síntese e degradação do glicogênio, via das pentoses-fosfato e vias metabólicas.
- Existe uma grande variedade de vias metabólicas. Em humanos, as vias metabólicas mais importantes são:
- **Glicólise** - oxidação da glicose a fim de obter ATP.
 - **Ciclo de Krebs** - oxidação do acetil-CoA a fim de obter energia.
 - **Fosforilação oxidativa** - eliminação dos elétrons libertados na oxidação da glicose e do acetil-CoA. Grande parte da energia libertada neste processo pode ser armazenada na célula sob a forma de ATP.
 - **Via das pentoses-fosfato** - síntese de pentoses e obtenção de poder redutor para reações anabólicas.
 - **Ciclo da uréia** - eliminação de NH_4^+ sob formas menos tóxicas.

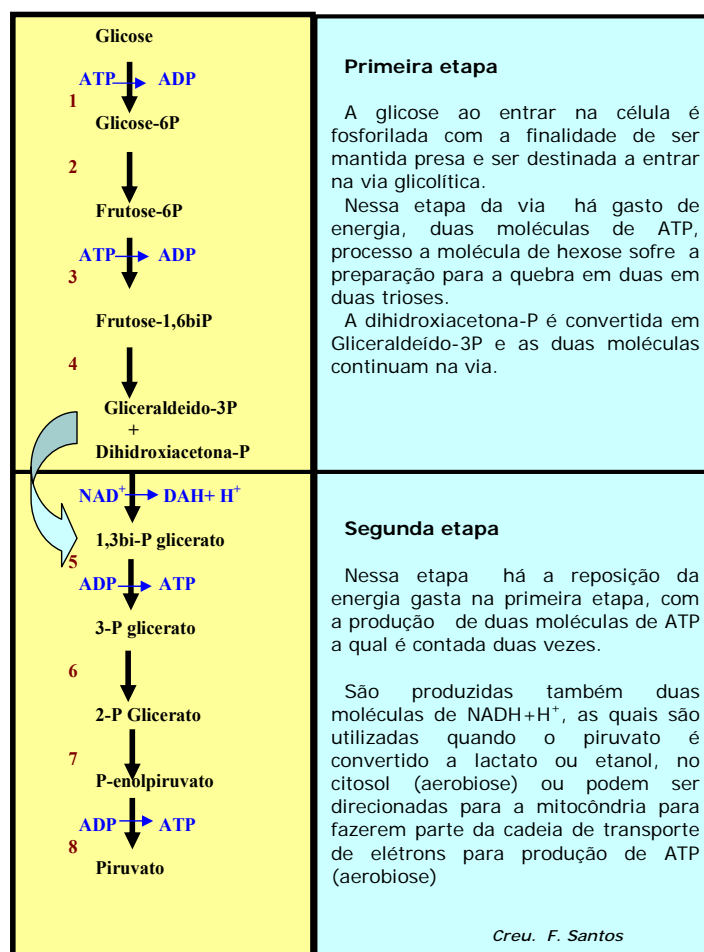
- **β-oxidação dos ácidos graxos** - transformação de ácidos graxos em acetil-CoA, para posterior utilização pelo ciclo de Krebs.
- **Neoglicogênese** - síntese de glicose a partir de moléculas não glicolíticas, para posterior utilização pelos órgãos glicodependentes, como o cérebro, miocárdio e glóbulos vermelhos.

2. GLICÓLISE OU VIA GLICOLÍTICA

2.1. ETAPAS E REAÇÕES

Essa via ocorre por anaerobiose e é um processo pelo qual uma hexose, a molécula de glicose, é oxidada a duas moléculas de piruvato. Esse processo é realizado em duas etapas: a primeira em que se trata da fosforilação da glicose para que seja mantido preso na célula onde é oxidada à Gliceraldeído-3P e à Dihidroxiacetona-P. Nessa primeira etapa só há gasto de energia. A segunda, a Dihidroxiacetona-P é transformada em Gliceraldeído-3P para continuar a via. As duas moléculas de Gliceraldeído-3P são transformadas em duas moléculas de piruvato. Nessa segunda etapa há compensação da energia perdida na primeira etapa e apresenta um saldo positivo de ATP (**Figura 3**).

Figura 3 – Passos e etapas da glicólise. As reações 1, 3 e 8 são irreversíveis.



A glicoquinase é específica da glicose e atua somente no fígado ou pâncreas, e a hexoquinase pode atuar sobre a glicose, frutose ou manose somente no músculo. Todas as enzimas da via glicolítica, ΔG das reações e gasto ou produção de energia estão na **Tabela 2 e Figura 4**.

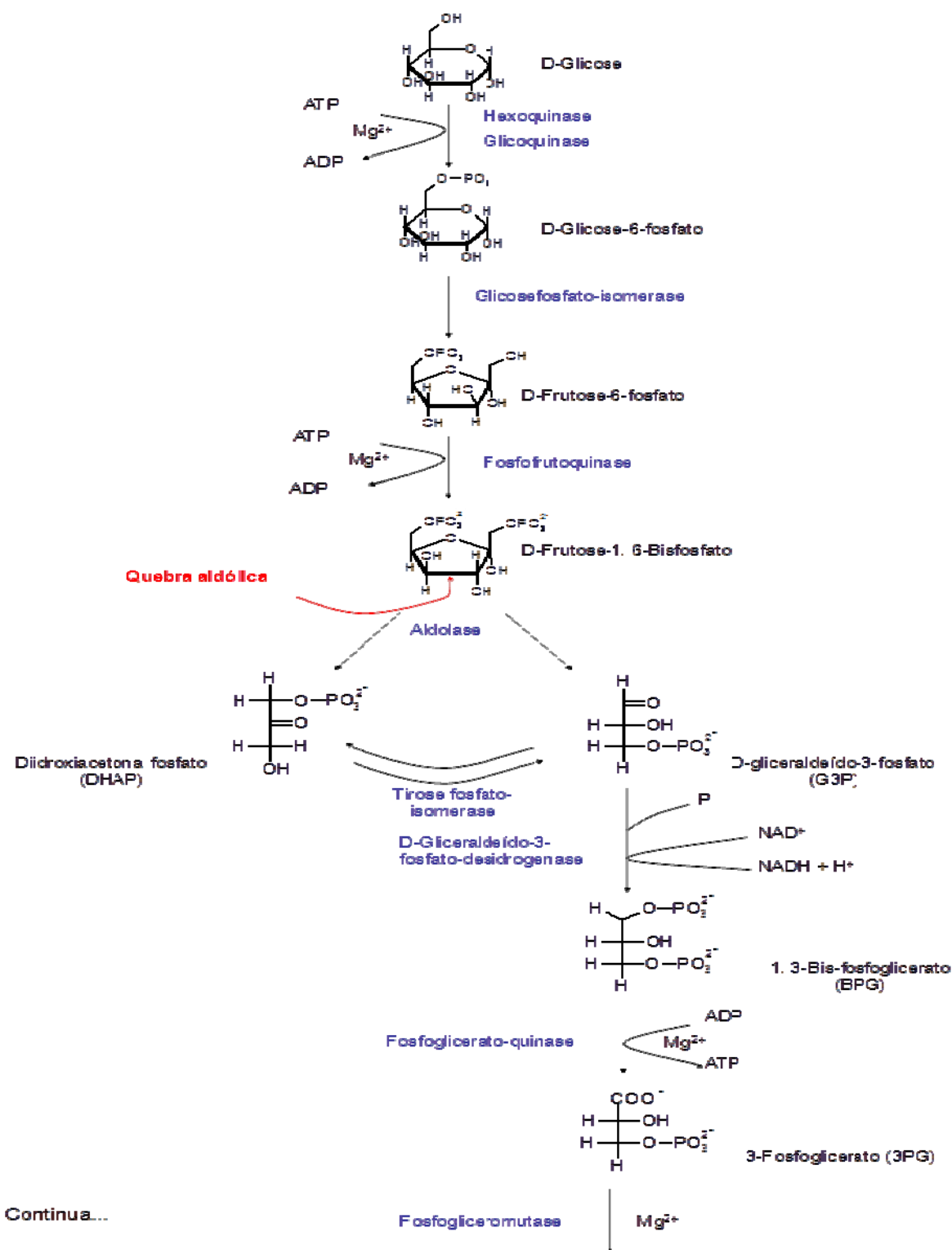
É importante salientar que $\text{NADH} + \text{H}^+$ citosólico, produzido na via glicolítica, dependendo do órgão, pode ser transportado para mitocôndria no processo aeróbico através de duas formas: entrando como o próprio NADH ou como FADH_2 . Se transportado para mitocôndria em forma de $\text{NADH} + \text{H}^+$, conta-se como 2,5 ATPs. Se for transportado para mitocôndria na forma de FADH_2 , conta-se somente 1,5 ATPs como veremos adiante.

Tabela. 2. Reações da via glicolítica, energia e ATP. GK = enzima glicoquinase e HK =hexoquinase.

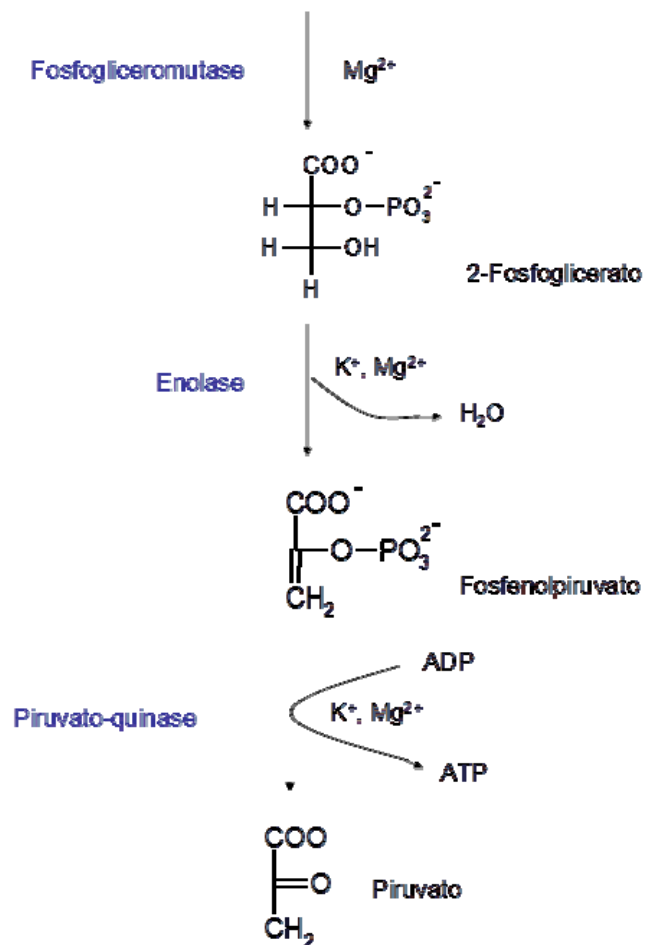
| Reações da Via glicolítica | Enzima | ΔG da reação | ATP (gastos ou produzidos) |
|----------------------------|---------------|----------------------|----------------------------|
| 1 | HK/GK | -33,4 | -1 |
| 2 | isomerase | -2,5 | |
| 3 | Quinase | -22,2 | -1 |
| 4 | Aldolase | -1,25 | |
| 5 | Desidrogenase | 2,5 | |
| 6 | Isomerase | -1,7 | +2,5 ou 1,5(x2)* |
| 7 | Quinase | 2,25 | +1 (x2) |
| 8 | mutase | 0,8 | |
| 9 | aldolase | -3,3 | |
| 10 | Quinase | -16,7 | +1(x2) |
| Saldo de energia | | | 5 ou 3 ATP |

Na via glicolítica (citósol), a molécula de glicose (6 carbonos) é convertida em duas moléculas de piruvato de 3 carbonos como visto nas reações da **Figura 4**.

Figura 4. Reações da via glicolítica.



Continuação



Antônio S. Lins

2.2. REGULAÇÃO DA GLICÓLISE

A via glicolítica em geral é estimulada pela insulina.

No fluxo metabólico, através da glicólise existem três pontos de regulação que são as etapas irreversíveis onde estão envolvidas as enzimas abaixo:

A Hexoquinase é inibida pelo próprio produto, glicose-6-P.

A **Fosfofrutoquinase I** é inibida por ATP e por citrato, o qual sinaliza a abundância de intermediários do ciclo de Krebs. É também inibida por H^+ , o que é importante em situações de anaerobiose, na qual a fermentação produz ácido lático, o que faz baixar o pH. Provavelmente este mecanismo impede que nestas situações, a célula esgote toda a sua reserva de ATP na reação da fosfofrutoquinase, o que impediria a ativação da glicose pela hexoquinase. É estimulada pelo substrato frutose-6-fosfato, AMP e ADP que sinalizam falta de energia disponível. Essa etapa é regulada negativamente pela Fosfrutoquinase II através do glucagon.

A **Piruvato Quinase** inibida por ATP e por acetil-CoA e também pelo glucagon.

O controle hormonal das vias glicolíticas é efetuado principalmente por dois hormônios sintetizados pelo pâncreas: a **insulina** e o **glucagon**. A insulina é libertada pelo pâncreas quando a concentração de glicose no sangue é elevada, ou seja, sinaliza a abundância de glicose. A insulina estimula a entrada de glicose no músculo, a síntese de glicogênio e a síntese de triacilglicerídeos pelo tecido adiposo inibem a degradação do glicogênio e a gliconeogênese. O glucagon é produzido pelo pâncreas quando os níveis de glicose no sangue baixam muito, e tem efeitos contrários aos da insulina. No fígado, o glucagon vai estimular a degradação do glicogênio e a absorção de aminoácidos gliconeogênicos, também inibe a síntese do glicogênio e promove a liberação de ácidos graxos (em nível do tecido adiposo).

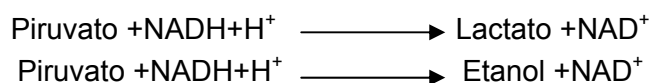
As diversas vias metabólicas relacionam-se entre si de maneira complexa, de forma a permitir uma regulação adequada. Este relacionamento envolve a regulação enzimática de cada uma das vias, o perfil metabólico característico de cada órgão e o controle hormonal.

2.3. FORMAÇÃO DO LACTATO E DO ETANOL A PARTIR DO PIRUVATO NO CITOSOL

Via anaeróbica

O piruvato originado da glicólise **não** entra na **mitocôndria** e, portanto, não é transformado em Acetil-CoA. No citosol das células musculares, o piruvato é transformado em lactato, e em etanol, nas leveduras.

Essas duas situações são processadas pela fermentação, onde o $\text{NADH} + \text{H}^+$ formado no citosol é aí mesmo utilizado:



Portanto, o $\text{NADH} + \text{H}^+$ no citosol é consumido e o saldo energético em relação à via glicolítica é de 2 ATP.

Metabolismo do Etanol

Do metabolismo do etanol, todo $\text{NADH} + \text{H}^+$ que é produzido no citosol é gasto nesse mesmo compartimento logo, o saldo energético é também de 2 ATP.

No fígado, os níveis altos de NADH e Acetil-CoA, que são resultados do metabolismo de etanol, inibem a atividade do ciclo do ácido cítrico e cetogênese. Por outro lado, mostram um efeito estimulador na síntese de gorduras neural e colesterol. Ocorre então, um armazenamento de lipídeos no fígado. Este

aumento no conteúdo gorduroso do fígado chegando a menos que 5% e a mais que 50% do peso da matéria seca é normalmente reversíveis.

O alcoolismo se torna um problema severo quando as células do fígado começam a morrer. Uma vez que a cirrose do fígado começa, os danos chegam a um estado irreversível que é caracterizado por perda progressiva de função do fígado.

Metabolismo do Lactato

O ciclo de Cori (**Figura 5**) é uma cooperação metabólica entre músculos e fígado. Com um trabalho muscular intenso, o músculo usa o glicogênio de reserva como fonte de energia, via

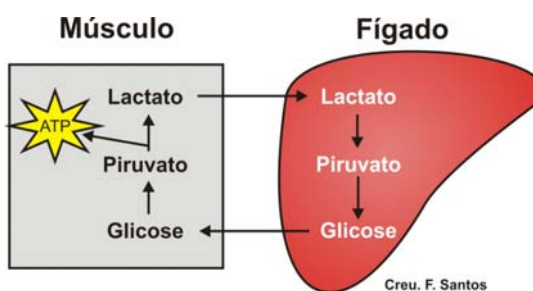
glicólise. Ao contrário do que muitos pensam não é o acúmulo de lactato no músculo que causa dor e fadiga muscular, mas o

acúmulo do acetato gerado glicoliticamente. Os músculos são capazes de manter a carga de trabalho na presença de lactato, se o pH for mantido constante.

Para obtenção de energia sob a forma de adenosina trifosfato (ATP), a glicose é convertida a piruvato através da glicólise. Durante o metabolismo aeróbico normal, o piruvato é então oxidado pelo oxigênio, onde o produto gerado é CO_2 e H_2O .

Durante um curto período de intenso esforço físico, a distribuição de oxigênio aos tecidos musculares pode não ser suficiente para oxidar totalmente o piruvato. Nestes casos, a glicose é convertida a piruvato e depois a lactato, através da via da fermentação láctica, onde os músculos obtêm ATP sem recorrer ao oxigênio.

Figura 5. Representação do Ciclo de Cori. A seta laranja mostra a direção das reações metabólicas envolvidas no ciclo numa situação de esforço físico. A vermelha, as reações que ocorrem no período de reoxigenação no estado de descanso.



2.4. UTILIZAÇÃO DO PIRUVATO NA MITOCÔNDRIA

a) Respiração aeróbica

A respiração aeróbica envolve a glicólise e o ciclo do ácido tricarboxílico (ciclo de Krebs). O piruvato é completamente degradado a dióxido de carbono (CO_2) e, nesse processo, o NAD é convertido a $\text{NADH} + \text{H}^+$. Desta forma, na fermentação aeróbica, o NADH é gerado a partir de duas rotas: a glicólise e o ciclo de Krebs, para gerar ATP na cadeia de transporte de elétrons. A fosforilação oxidativa converte o excesso de $\text{NADH} + \text{H}^+$ à NAD^+ e, no processo, produz moléculas de ATP como forma de energia a ser armazenada. Nesse processo estão envolvidos outros pares redoxes como veremos adiante. A conversão de oxigênio à água é o passo final deste processo através do par redox $2 \text{H}^+ + \frac{1}{2} \text{O}_2$. Portanto, a respiração celular aeróbica tem como objetivo principal produzir energia a partir da decomposição de glicídios, gorduras e aminoácidos, utilizando para tal, o oxigênio.

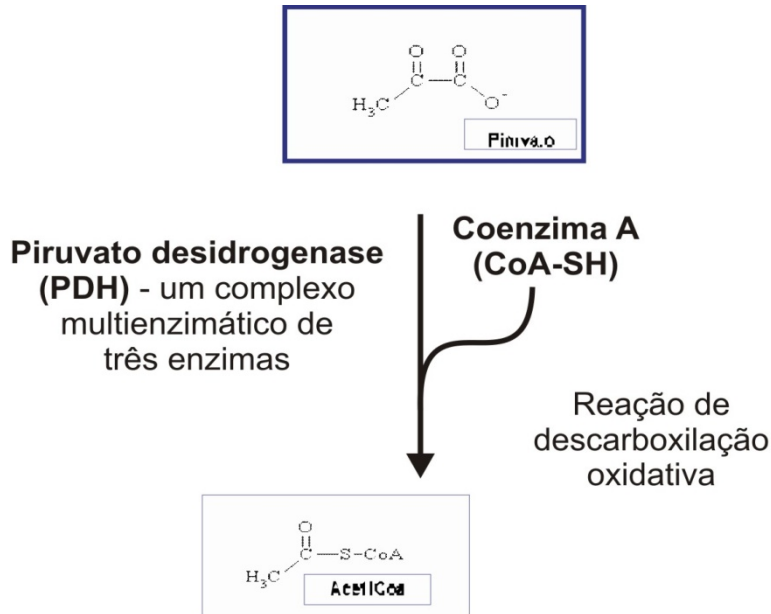
b) Entrada do piruvato na mitocôndria

Pelo processo aeróbico o piruvato entra na mitocôndria e é transformado em Acetil-CoA (**Figura 6**).

Há também a participação de NAD^+ que se transforma em $\text{NADH} + \text{H}^+$ ao capturar H^+ do piruvato para produção do Acetil-CoA, já na mitocôndria. Essa reação é realizada pelo complexo piruvato-desidrogenase e é uma etapa intermediária entre a glicólise e o Ciclo de Krebs. Como são

formadas 2 moléculas de piruvato, a partir de uma molécula de glicose, então são formadas duas moléculas de Acetil-CoA e duas de NADH+ H⁺. Essas moléculas de Acetil-CoA entram no Ciclo de Krebs ou Ciclo do Ácido Cítrico, em condensação com o oxaloacetato, resultando no citrato.

Figura 6. Etapa intermediária entre a via glicolítica e o ciclo de Krebs realizada na mitocôndria.



Creu. F. Santos

Exercícios

1. Quais são as duas trioses produzidas a partir da glicose, na via glicolítica?
2. Explicar o mecanismo de funcionamento do complexo enzimático piruvato-desidrogenase.
3. Como o cAMP ativa a PKC (proteína quinase dependente de cAMP)? Explique como isso interfere na via glicolítica.

Discussão

Por que a glicose-6-P é transformada em frutose-6-P, na via glicolítica?

UNIDADE 3

OXIDAÇÃO MITOCONDRIAL

As células animais armazenam ácidos graxos na forma de gorduras, glicose na forma de glicogênio, e outras moléculas como proteínas que posteriormente, são utilizadas na forma de energia.

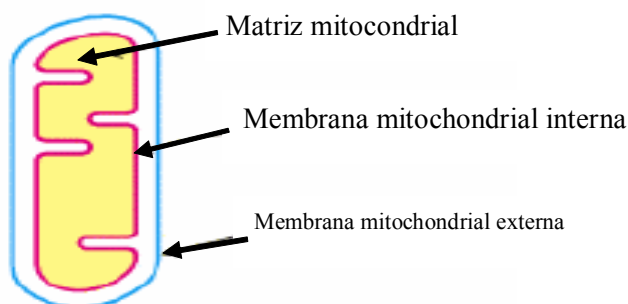
Os ácidos graxos são oxidados a acetil-CoA que é introduzido no ciclo do ácido cítrico na matriz mitocondrial.

Como já visto na Figura 6, na matriz mitocondrial o piruvato é convertido em acetil CoA. A respiração aeróbica envolve a **glicólise** e o **ciclo do ácido tricarboxílico** (ciclo de Krebs). O piruvato é completamente degradado a dióxido de carbono (C1) e nesse processo, o NAD é convertido à NADH. Desta forma, na via aeróbica, o NADH é gerado a partir de duas rotas, glicólise e ciclo de Krebs. A Fosforilação oxidativa converte o excesso de NADH a NAD e, no processo, mais ATP (forma de energia armazenada) é produzido. As ubiquinonas e os citocromos são os componentes da cadeia de transporte de elétrons envolvidos neste último processo. A conversão de oxigênio à água é o passo final deste processo que é totalmente dependente de O₂.

1. CICLO DE KREBS

Também conhecido como Ciclo do Ácido Cítrico ou Tricarboxílico, ocorre na matriz mitocondrial (**Figura 7**).

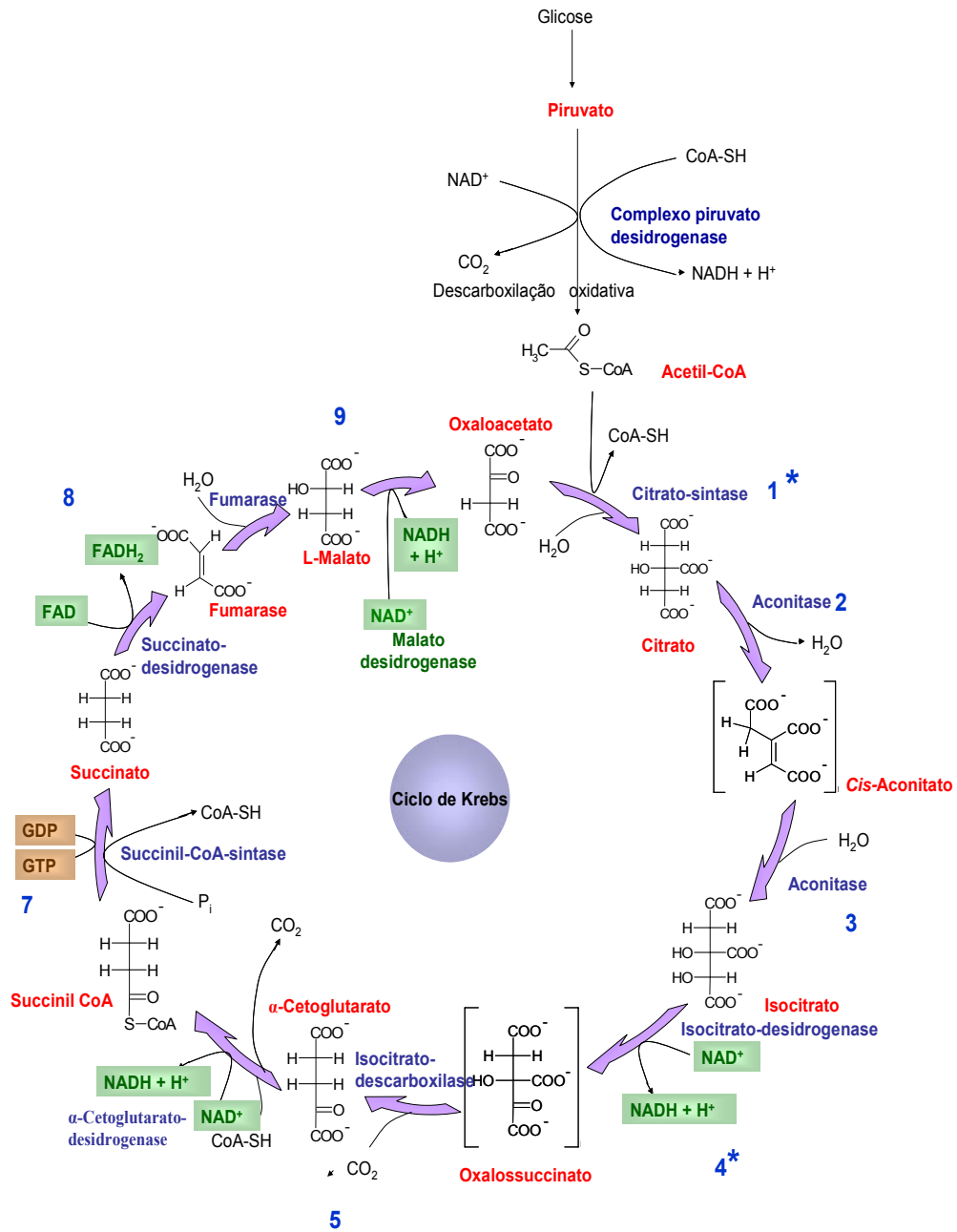
Figura 7. Compartimentos da mitocôndria.



Creu. F. Santos

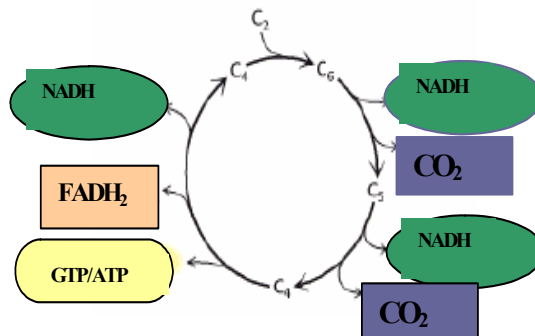
As moléculas iniciantes do Ciclo de Krebs são Acetil-CoA e Oxaloacetato (**Figura 08 e 09**).

Figura 8. Etapas do Ciclo de Krebs (As etapas **1***, **4***, **6*** são irreversíveis).



Antonio Lins

Figura 9. Esquema resumido do Ciclo de Krebs.



A acetil-CoA pode ser proveniente também de outras fontes além da via glicolítica como da oxidação de proteínas e lipídeos. Iniciando o ciclo de Krebs, 2 moléculas de Acetil-CoA provenientes de uma molécula de glicose se condensam com número equivalente de oxaloacetato originando a liberação de CoA, duas moléculas de citrato e duas moléculas de CO_2 . A liberação de H^+ de intermediários das reações do ciclo é capturada por moléculas de NAD^+ que passam para sua forma reduzida $\text{NADH} + \text{H}^+$ e capturados por molécula FAD^+ passando a FADH_2 . Acontece também a transformação da molécula de GDP em GTP a qual é desfosforilada por ADP dando ATP. Esse ATP assim como os produzidos na via glicolítica são os ATPs formados ao nível de substrato e fora da cadeia de transporte de elétrons.

Os elétrons capturados pelas moléculas de NAD^+ e de FAD^+ são direcionados para a cadeia de transporte de elétrons que, acoplada a fotofosforilação oxidativa, dão origem ao conjunto de moléculas de ATP que servirá como moeda energética para todos os processos metabólicos.

O ciclo de Krebs contém intermediários de 4 a 6 carbonos. O piruvato (C3) supre o ciclo de Krebs de tal maneira que, o número de intermediários de C4 e C6 permanece o mesmo ou aumenta (Figura 8).

A perda de CO_2 (C1) do piruvato para formar acetil CoA, seguida de sua adição a um componente C4 (oxaloacetato) do ciclo produz um componente C6 (citrato). Assim, o número de moléculas de C6 produzidas se iguala ao número de moléculas de C4 inicialmente presentes.

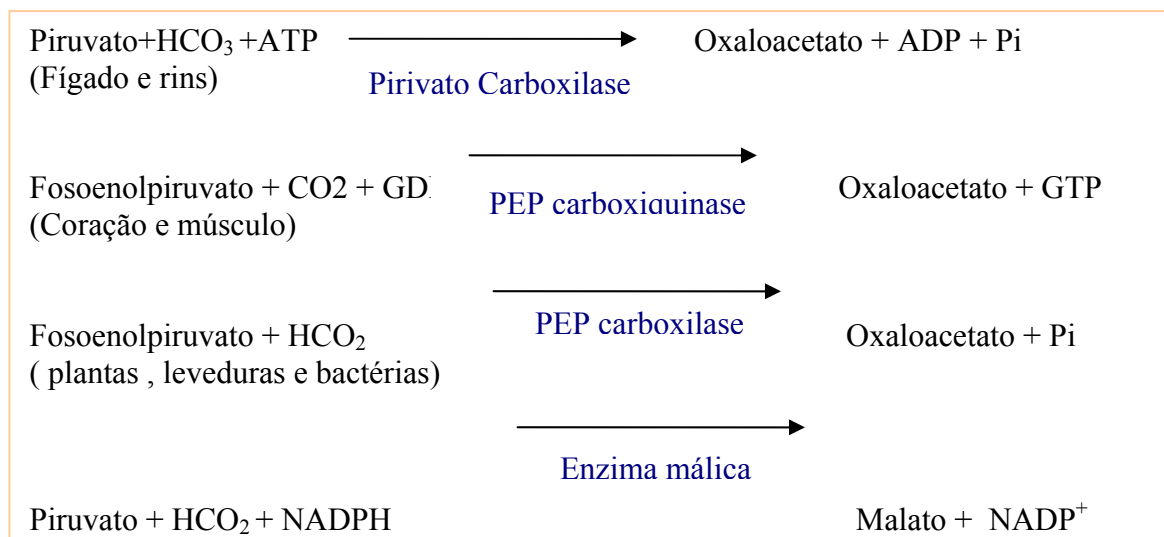
Por outro lado, pela adição de CO_2 ao piruvato, um composto C4 é produzido. Nesta circunstância, são formadas moléculas adicionais de C4 tais como o oxaloacetato, também componente do ciclo. Desta forma, se alguns dos componentes do ciclo são removidos para uso em outras vias biossintéticas, estes podem ser repostos por meio desta reação. Os tipos de reações e as enzimas envolvidas no ciclo de Krebs estão na **Tabela 3**.

Tabela. 3. Reações do Ciclo de Krebs e enzimas envolvidas.

| Reação | Tipo de reação | Enzima envolvida |
|--------|------------------------------------|--|
| 1 | condensação | Citrato sintase |
| 2 | Desidratação | Aconitase |
| 3 | Hidratação | Aconitase |
| 4 | descarboxilação oxidativa | Isocitrato desidrogenase |
| 5 | descarboxilação oxidativa | Complexo α -cetoglutarato desidrogenase |
| 6 | fosforilação ao nível de substrato | Succinil CoA sintase |
| 7 | desidrogenação | Succinato desidrogenase |
| 8 | hidratação | Fumarase |
| 9 | desidrogenação | Malato desidrogenase |

No ciclo são produzidos $2 \text{ CO}_2 + 3\text{NADH} + 1 \text{ FADH}_2 + 1\text{GTP}$. O fosfato do GTP é transferido para o ADP dando ATP. Em resumo, o ciclo de Krebs funciona para produzir energia e compostos de carbono (Figura 9). Contudo, se os intermediários forem removidos para uso em outras vias metabólicas, estes devem ser repostos.

O processo de reposição é diferente quando da utilização de açúcares ou ácidos graxos sendo realizado pelas vias anapleróticas:



1.1. REGULAÇÃO DO CICLO DE KREBS

O ciclo de Krebs é controlado fundamentalmente pela disponibilidade de substratos, inibição pelos produtos e por outros intermediários do ciclo.

- **Piruvato desidrogenase:** é inibida pelos próprios produtos, acetil-CoA e NADH.
- **Citrato sintase:** é inibida pelo próprio produto, citrato. Também inibida por NADH e succinil-CoA que sinalizam a abundância de intermediários do ciclo de Krebs.
- **Isocitrato desidrogenase e α -cetoglutarato desidrogenase:** tal como a citrato sintase, são inibidas por NADH e succinil-CoA. A isocitrato desidrogenase também é inibida por ATP, e estimulada por ADP. Todas as desidrogenases mencionadas são estimuladas pelos íons cálcio.

2. CICLO DO GLIOXILATO

Ao invés desse processo, as bactérias utilizam o ciclo do glioxilato (um ciclo de Krebs modificado) no qual não acontecem os passos enzimáticos em que duas moléculas de CO_2 são removidas do C6 (isocitrato) intermediário. Este último é convertido a dois compostos C4 (succinato). Desta forma, para cada grupo acetil (dos ácidos graxos) um ciclo intermediário pode ser produzido. Usualmente, a via do glioxilato não é encontrada em células animais uma vez que são utilizados ácidos graxos pré-formados presentes nos alimentos.

Exercícios

1. Em qual compartimento celular ocorrem a glicólise e o ciclo de Krebs?

2. Qual o número de ATP formado por molécula de glicose oxidada anaerobicamente?
3. Qual a opção utilizada no processo de fermentação alcoólica?
4. Faça um paralelismo entre todas as reações irreversíveis da glicólise e do ciclo de Krebs, contendo nome do substrato, do produto e da enzima onde ocorrem produção ou gasto de ATP (ou GTP). Calcule o balanço energético em cada uma dessas vias.
5. Qual o papel do ciclo do glioxilato? Quando e onde ocorre?
6. Explique o mecanismo de funcionamento do complexo enzimático piruvato-desidrogenase.
7. Citar dois mecanismos que modificam a velocidade do ciclo de Krebs.

Tema para discussão

Fosforilação ao nível de substrato.

UNIDADE 4

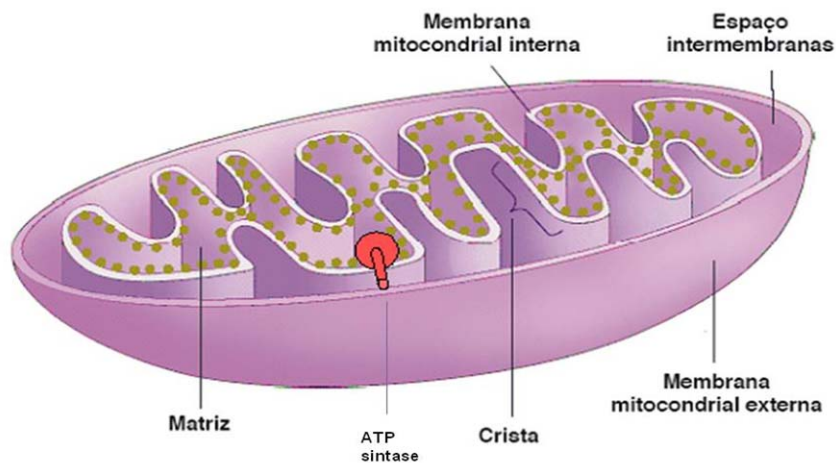
CADEIA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS E FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA

1. CONCEITO

A cadeia transportadora de elétrons é a etapa de maior síntese de ATP celular. Nesse processo ocorre reoxidação de $\text{NADH} + \text{H}^+$ e FADH em NAD^+ e FAD^+ e outros pares redoxes compostos de coenzima Q, citocromos b, c, c_1 , a, a_3 os quais são apresentados nas suas formas oxidadas e reduzidas no processo de transporte de elétrons.

O transporte de elétrons ocorre no espaço intermembrana e a fosforilação oxidativa ocorre na matriz mitocondrial em conjunto com a ATP sintetase (em vermelho) (**Figura 10**).

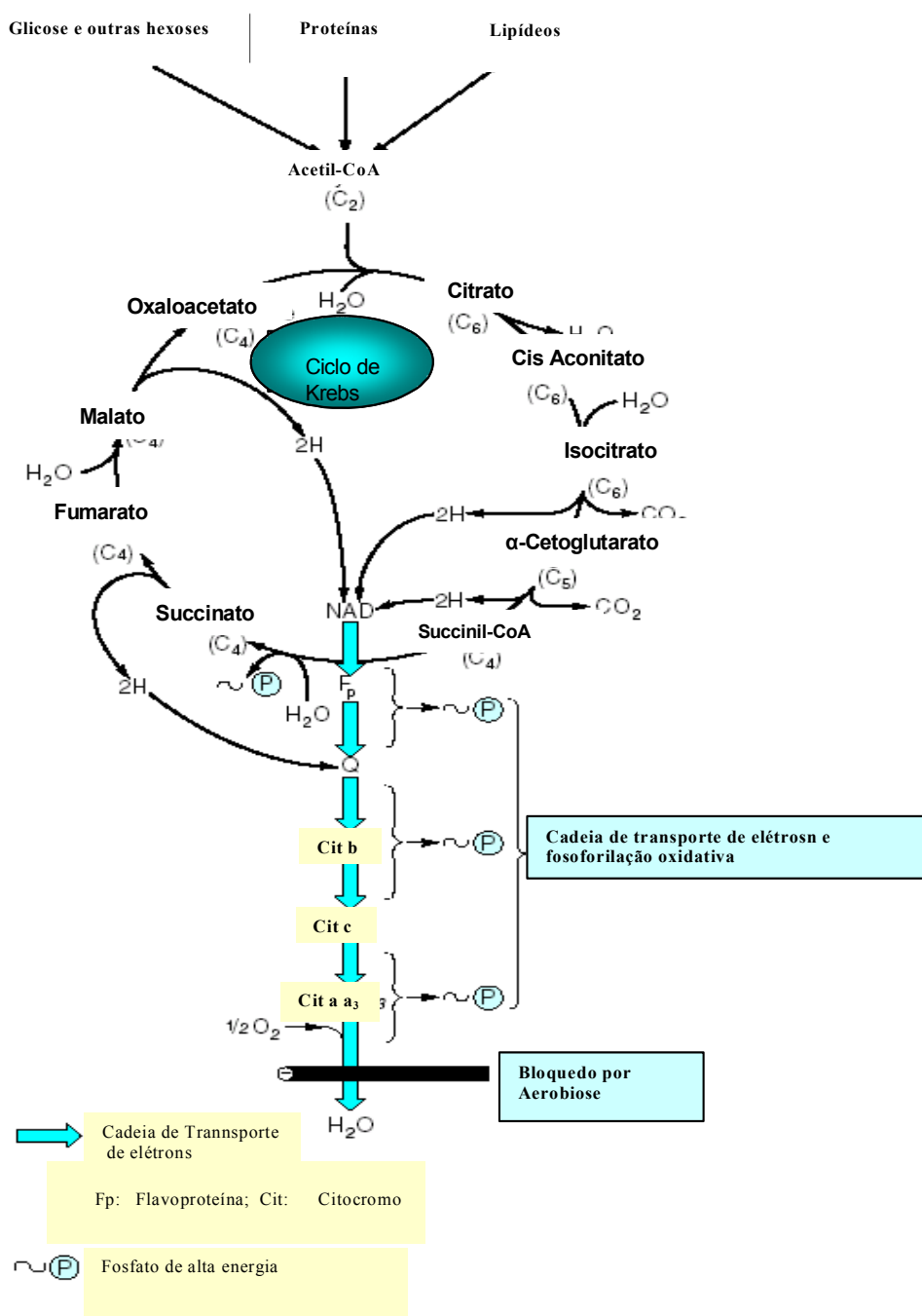
Figura 10 - Compartimentalização mitocondrial onde a parte vermelha representa as porções F1 e F0 da ATP sintetase, ligada na membrana mitocondrial interna.



Creu F. Santos

Todos o elétrons capturados pelo NAD^+ ou pelo FAD^+ no processo de oxidação de macromoléculas como carboidratos, lipídeos e proteínas são levados por essas mesmas moléculas nas formas reduzidas, $\text{NADH} + \text{H}^+$ e FADH_2 , para serem transportados com ajuda de outros pares redox na cadeia de transporte de elétrons (**Figura11**).

Figura 11. Esquema representativo do ciclo de Krebs e componentes da cadeia de transporte de elétrons.



Creu F. Santos

2. PARES REDOXES CONSTITUINTES DA CADEIA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS

Os elétrons passam através de uma série de pares redoxes pelos quais os elétrons são transportados até $\frac{1}{2}\text{O}_2$ que é reduzido em H_2O .

Partindo do complexo 1, esses pares são:

$\text{NADH} + \text{H}^+ / \text{NAD}$, Fe-S, $\text{CoQ} / \text{CoQH}_2$, $\text{citb}^{2+} / \text{citb}$, $\text{citic}^{2+} / \text{citic}$, $\text{citic1}^{2+} / \text{citic1}$, $\text{cita3}^{2+} / \text{cita3}$, $\frac{1}{2}\text{O}_2 / \text{H}_2\text{O}$

Onde a razão entre o número de moléculas de ATP sintetizadas por $\frac{1}{2}\text{O}_2$ reduzida em H_2O (a razão P/O) é de aproximadamente 2,5 (rende 2,5ATP) ou, partindo do complexo 2 são:

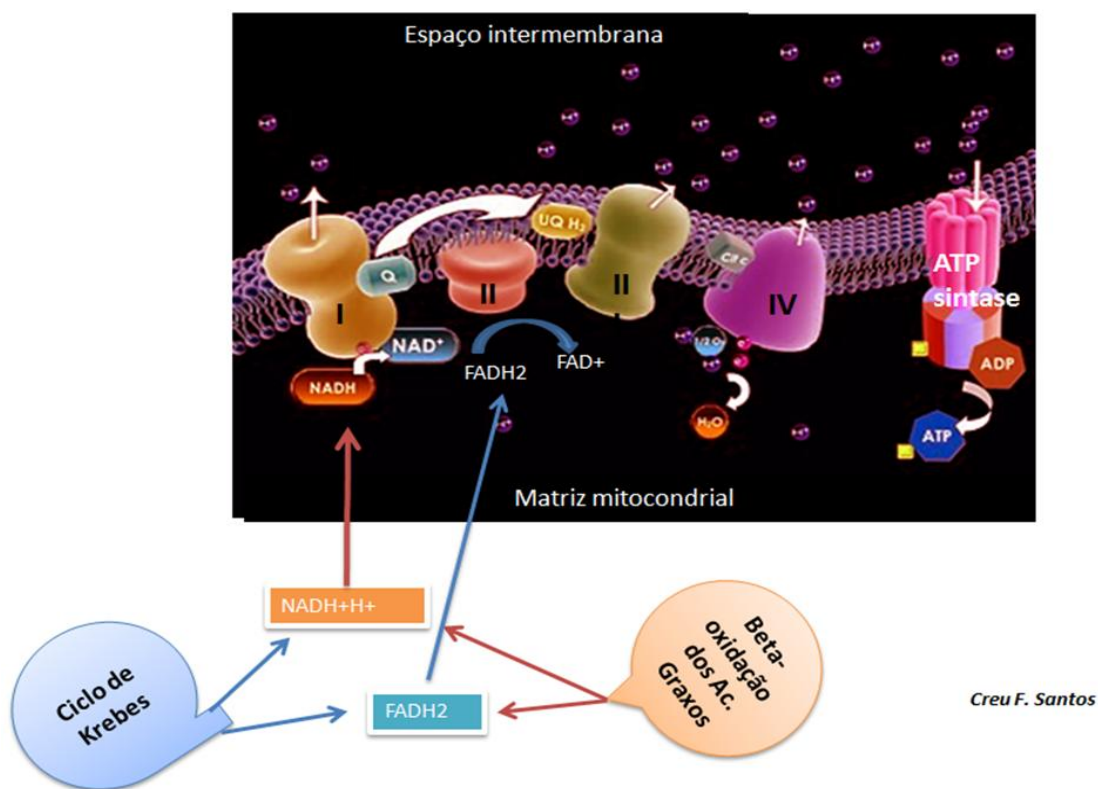
FADH_2/FAD , Fe-S, CoQ/CoQH_2 , $\text{citb}^{2+}/\text{citb}$, $\text{citc}^{2+}/\text{citc}$, $\text{citc1}^{2+}/\text{citc1}$, $\text{cita3}^{2+}/\text{cita3}$, $\frac{1}{2}\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$

Nesse caminho eles se conectam na CoQ onde a razão entre o número de moléculas de ATP sintetizadas por $\frac{1}{2}\text{O}_2$ reduzida em H_2O (a razão P/O) é de aproximadamente 1,5 (rende 1,5ATP).

O transporte de elétrons é favorecido pela força protomotriz proveniente do transporte de íons H^+ da matriz para o espaço intermembrana, pelos complexos I, III e IV, invertendo assim, a diferença de gradiente de pH inicial onde a matriz se encontrava mais rica em H^+ . O complexo 2 não faz parte desse transporte por não atravessar totalmente a membrana, encontrando-se deslocado para a matriz. A necessidade do equilíbrio de íons H^+ entre a matriz mitocondrial e o espaço intermembranas redireciona a passagem do H^+ para a matriz através da proteína ATP sintase o que induz à fosforilação do ADP pelo P_i dando o ATP.

A fosforilação oxidativa é a etapa onde $\text{ADP} + \text{P}_i$ se transformam em ATP. Assim, a energia liberada pelos elétrons de alta energia a partir de glicose, pode formar ATP e o processo de fosforilação está sempre acoplado ao transporte de elétrons (**Figura 12**).

Figura 12. Transporte de elétrons e fosforilação oxidativa.



Na figura 12 é possível perceber ainda, uma representação da cadeia de transporte de elétrons com seus complexos até a formação de H_2O através dos complexos 1, 2, 3 e 4 e a síntese de ATP pela ATP sintetase representado por A.

O transporte de elétrons pode ser inibido por algumas substâncias em pontos específicos (**Tab. 04**).

Tabela. 4. Pares redoxes da cadeia de transporte de elétrons e inibidores.

| Complexo | Pares redox | Complexo enzimático | Inibidores |
|----------|---|---|----------------------------|
| 1 | NADH+ H ⁺ /FAD ⁺ | NADH+ H ⁺ / CoQ oxirredutase | Barbituratos |
| 2 | FADH ₂ /FAD ⁺ | FADH ₂ / CoQ oxirredutase | Carboxina |
| 3 | CoQH ₂ /CoQ | CoQH/Citc oxirredutase | Antimicina A |
| 4 | Cit aa ₃ ⁺⁺ /Cit aa ₃ ⁺⁺⁺ | Cita oxidase | Azida, Monóxido de Carbono |
| A | H ⁺⁺ O ₂ +ADP /H ₂ O+ATP | Proteína ATP sintase | Oligomicina |

A ATP sintetase é uma estrutura protéica composta da interação de diferentes unidades. Através desse fluxo de prótons que atravessam o eixo central, a unidade Fo (γ) faz com que haja uma interação com a unidade F1 (α e β). Isso induz à uma forma conformacional favorecendo a ligação e o ciclo de formação do ATP através do ADP + Pi. A formação do ATP na superfície da enzima requer pouca energia; o papel da força próto-motiva é deslocar o ATP do seu sítio de ligação na sintase.

3. RENDIMENTO ENERGÉTICO A PARTIR DA OXIDAÇÃO COMPLETA DE UMA MOLÉCULA DE GLICOSE

Para a contagem de energia produzida deve ser levado em conta que uma molécula de NADH+H⁺ corresponda a 2,5 ATPs e a molécula de FADH₂ a 1,5 ATPs pela razão P/O; assim como a duplicidade de todo o processo a partir do gliceraldeído 3-P. A glicólise no citosol gera 7 ATPs quando o NADH+H⁺ proveniente dessa via é transportado nessa mesma forma para a matriz mitocondrial e faz parte da cadeia de transporte. Na reação de piruvato a partir do acetil-CoA é produzida uma molécula de NADH + H⁺. Das reações do Ciclo de Krebs são produzidos 3 NADH + H⁺, um FADH₂ e um GTP. Então, o rendimento total a partir de 1 glicose é de 32 ATPs.

4. REAÇÕES DE TRANSFERÊNCIA DE ELÉTRONS NAS MITOCÔNDRIAS

A teoria quimiosmótica fornece dados para a compreensão de muitas transformações biológicas da energia, incluindo-se nelas a fotoforilação oxidativa e a fotofosforilação. O mecanismo de acoplamento de energia é similar em ambos os casos: a energia liberada pelo fluxo de elétrons é conservada pelo bombeamento concomitante de prótons através de uma membrana, isto produz um gradiente eletroquímico: a força protomotriz ou protomotiva.

Na mitocôndria, os íons hidreto são removidos dos substratos para a desidrogenases que operam com o NAD e doam elétrons para a cadeia respiratória ou de transferência de elétrons, onde são transportados até o oxigênio molecular, que é reduzido com a formação de água.

Sistemas de transporte conduzem os equivalentes redutores de NADH citosólico para o NADH mitocondrial. Os equivalentes redutores oriundos de todas as desidrogenases ligadas ao NAD são transferidos para a NADH desidrogenase mitocondrial (complexo 1). Os equivalentes redutores são então passados para as ubiquinonas através de uma série de centros Fe-S, a ubiquinona transfere os elétrons para o citocromo *b*, o primeiro transportador do complexo 3. Nesse complexo, os elétrons tomam duas vias separadas através de dois citocromos, do tipo *b* e do tipo *c1*, até um centro de Fe-S. Esse centro passa os elétrons, um de cada vez, através do citocromo *c* e para o interior do complexo 4, a citocromo oxidase. Essa enzima, que cobre também os citocromos *a* e *a₃*, acumula os elétrons e, então, os transfere para o O₂, reduzindo-o em H₂O.

Alguns elétrons entram nessa cadeia de transportadores através de vias alternativas. O succinato é oxidado pela succinato desidrogenase (complexo 2), a qual contém uma flavoproteína que passa os elétrons para a ubiquinona através de vários centros Fe-S. Os elétrons provenientes da oxidação dos ácidos graxos também passam para a ubiquinona através de uma flavoproteína transferidora de elétrons.

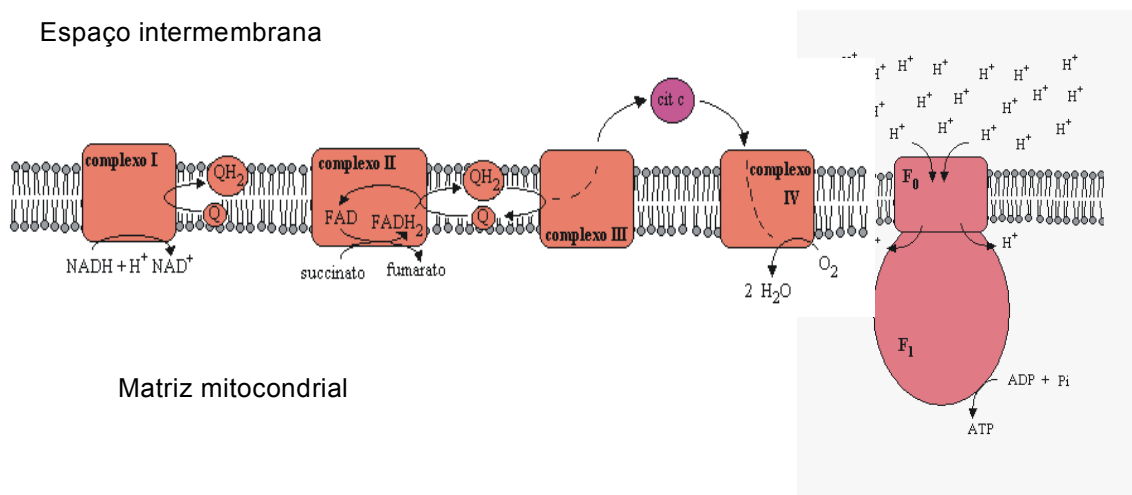
As plantas possuem uma via alternativa de oxidação do NADH, que é resistente à inibição pelo cianeto.

5. SÍNTESE DO ATP

O fluxo de elétrons através dos complexos 1, 3 e 4 resulta no bombeamento de prótons através da membrana mitocondrial interna, isso torna a matriz alcalina em relação ao espaço intermembrana. Este gradiente de prótons fornece a energia conhecida como força protomotiva. O acoplamento do transporte de elétrons com fosforilação oxidativa requer uma enzima com multissubunidades ligadas à membrana, a ATP sintase. Essa enzima tem um canal para que os prótons fluam do espaço intermembrana para a matriz mitocondrial. O fluxo de elétrons está acoplado à produção de ATP em um processo que parece envolver a alteração conformacional da enzima. A ATP sintase executa a “catálise rotativa” nela, ocorre o fluxo de prótons através da Fo, fazendo com que cada um dos três sítios de ligação em F1 execute um ciclo entre a conformação de ATP pela ligação do ADP + Pi. A formação do ATP na superfície da enzima requer pouca energia; o papel da força protomotiva é deslocar o ATP do seu sítio de ligação na sintase (**Figura 13**).

A razão entre o número de moléculas de ATP sintetizadas por $\frac{1}{2}$ O₂ reduzida em H₂O (a razão P/O) é de aproximadamente 2,5 quando os elétrons entram na cadeia respiratória através do complexo I, e 1,5 quando eles são provenientes do complexo 2 e entram na coenzima Q.

Figura 13 - Fluxo de H^+ através da ATP sintetase e formação de ATP.



Creu F. Santos

A energia conservada no gradiente de prótons pode potencializar o transporte de solutos através de membrana no sentido ascendente.

A membrana mitocondrial interna é impermeável ao $NADH + H^+$ e ao NAD^+ , mas equivalentes de $NADH$ citosólico são movidos para a matriz mitocondrial por um ou dois sistemas de lançadeira. Os equivalentes de $NADH$ transportados pela lançadeira malato-aspartato entram na cadeia respiratória pelo complexo I e tem uma razão P/O de 2,5 ATPs; os equivalentes transportados pela lançadeira do glicerol 3-fosfato entram através da coenzima Q e têm uma razão P/O de 1,5 ATPs.

6. REGULAÇÃO DA FOSFORILAÇÃO

A fosforilação é regulada pelas necessidades de energia da célula. A $[ADP]$ intracelular e a razão de ação das massas $[ATP]/[ADP][P_i]$ são parâmetros do estado de energia da célula.

Nas células em privação parcial ou total de oxigênio como os tecidos isêmicos, um inibidor protéico bloqueia a hidrólise do ATP pela operação da ATP sintetase em sentido invertido, impedindo uma queda drástica na $[ATP]$.

No tecido adiposo marrom especializado na produção de calor metabólico, a transferência de elétrons é desacoplada da síntese de ATP e a energia de oxidação dos ácidos graxos é dissipada como calor.

As concentrações de ATP e ADP estabelecem a velocidade de transferência de elétrons através da cadeia respiratória por meio de uma série de controles interligados agindo na respiração, na glicólise e no ciclo do ácido cítrico.

Exercícios

1. Em qual compartimento celular, ocorrem a glicólise e o ciclo de Krebs?

2. Qual o número de ATPs formado por molécula de glicose oxidada anaerobicamente?
3. Faça uma comparação entre todas as reações irreversíveis da glicólise e do ciclo de Krebs, com nome do substrato, do produto e da enzima onde ocorrem produção ou gasto de ATP (ou GTP).
4. Calcule o balanço energético em cada uma das vias citadas na questão anterior.
5. Explique como a concentração de ADP (alta, baixa) controla as velocidades da fosforilação oxidativa, do fluxo de elétrons na cadeia de transporte de elétrons e da oxidação de coenzimas reduzidas.
6. Como o ciclo de Krebs e a cadeia de transporte de elétrons são controlados?

Discussão

Fosforilação ao nível de substrato.

UNIDADE 5 NEOGLICOGÊNESE

1. CONCEITO

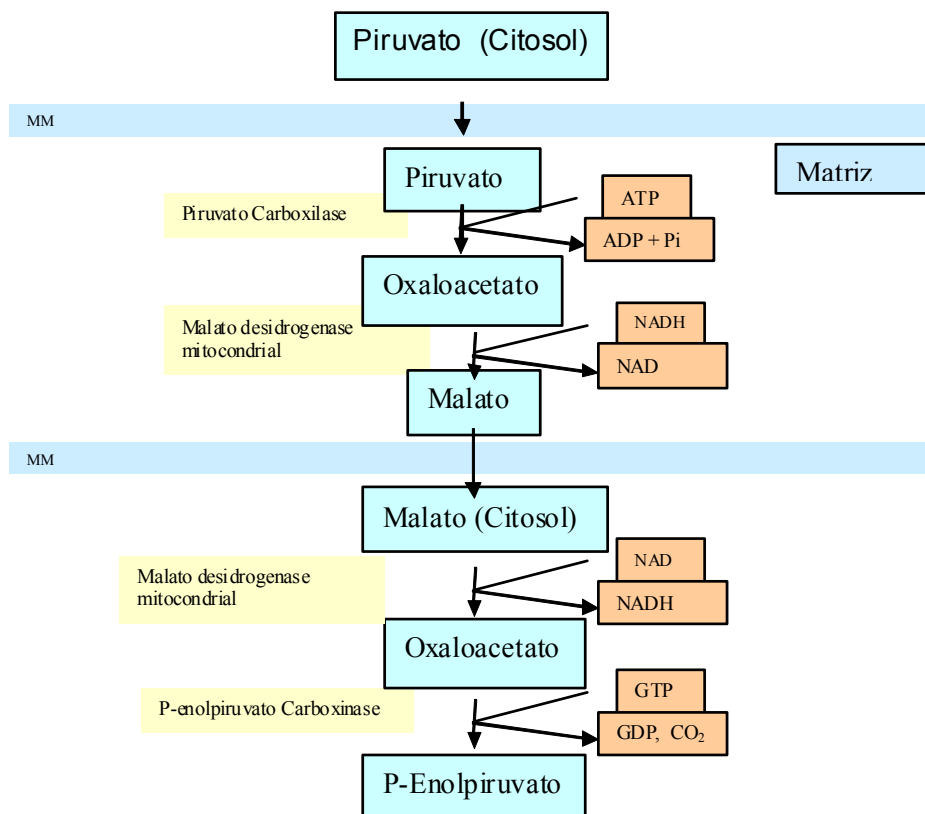
É um processo que só ocorre no fígado, pelo qual o organismo sintetiza glicose a partir de moléculas não glicolíticas, para utilização principalmente pelos órgãos glicodependentes como o cérebro e miocárdio. Esse processo ocorre quando há necessidade de manutenção de energia pela falta de glicose intracelular. Ocorre quando o organismo está em estado de fome prolongada ou fome celular como na patologia diabetes.

As reações irreversíveis da via neoglicogênese e na via glicolítica são localizadas nas mesmas posições. Isso serve como artifício para que a neoglicogênese só ocorra quando necessária e não seja anulada pela via glicolítica. A via glicolítica é controlada negativamente nesses pontos no momento em que a neoglicogênese esteja ocorrendo. Se a neoglicogênese ocorresse ao mesmo tempo da via glicolítica ambas as vias seriam anuladas.

5.2 Neoglicogênese a partir do Piruvato

Nesse processo, o piruvato não pode dar origem ao piruvato e por isso entra na mitocôndria onde é carboxilada a oxaloacetato e sai na forma de malato que retorna ao oxaloacetato no citosol. O oxaloacetato citosólico é transformado em P-enolpiruvato pela P-enolpiruvato carboxinase (**Figura 14**).

Figura 14 - Neoglicogênese a partir do piruvato.

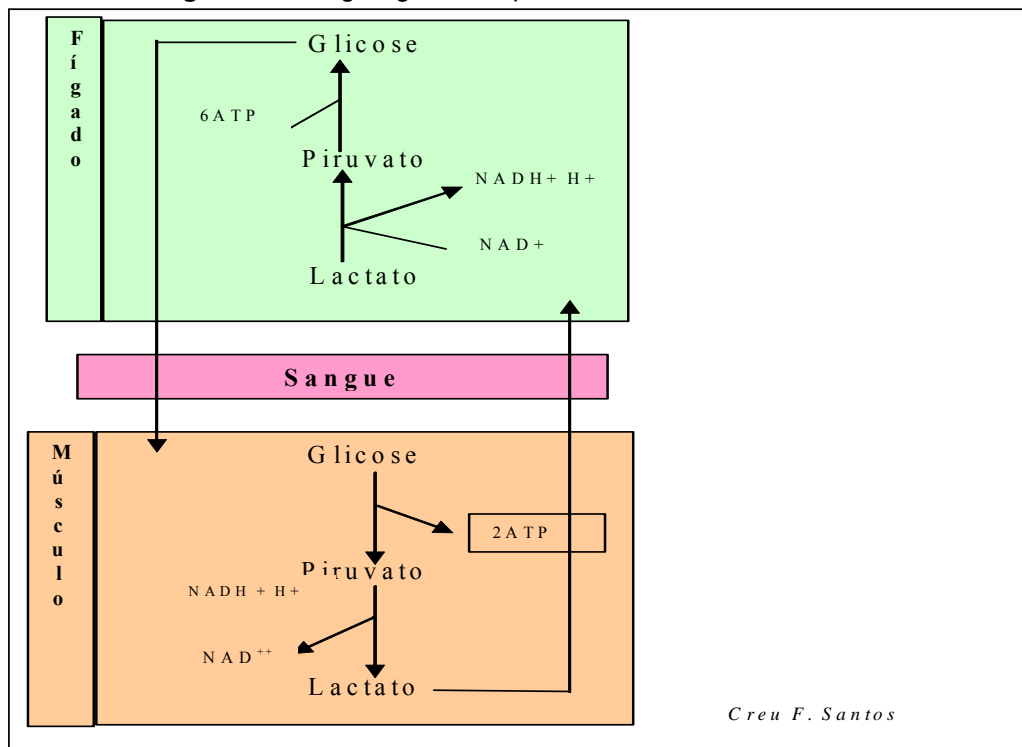


Creu F. Santos

2. NEOGLICOGÊNESE A PARTIR DO LACTATO MUSCULAR

O lactato formado no músculo é transportado para o fígado onde é convertido em piruvato e entra no processo da neoglicogênese pela mesma via da neoglicogênese a partir do piruvato. Na formação do lactato há produção de energia, e na utilização do piruvato para dar a glicose há gasto de energia (**Figura 15**). O mesmo caminho é utilizado pela alanina muscular quando a dieta anterior tenha sido hiperproteica.

Figura 15. Neoglicogênese a partir do lactato.



Creu F. Santos

O lactato acumula-se no tecido muscular e difunde-se posteriormente para a corrente sanguínea. Quando o esforço físico termina, o lactato é convertido à glicose através da neoglicogênese, no fígado. O indivíduo continua a ter uma respiração acelerada por algum tempo: o O₂ extraconsumido neste período promove a fosforilação oxidativa no fígado e, conseqüentemente, uma produção elevada de ATP que é necessário para a neoglicogênese, formando-se então a glicose a partir do lactato, e esta glicose é transportada de volta aos músculos para armazenamento, sob a forma de glicogênio.

Enzimas que fazem parte das etapas irreversíveis envolvidas na diferença da via glicolítica.

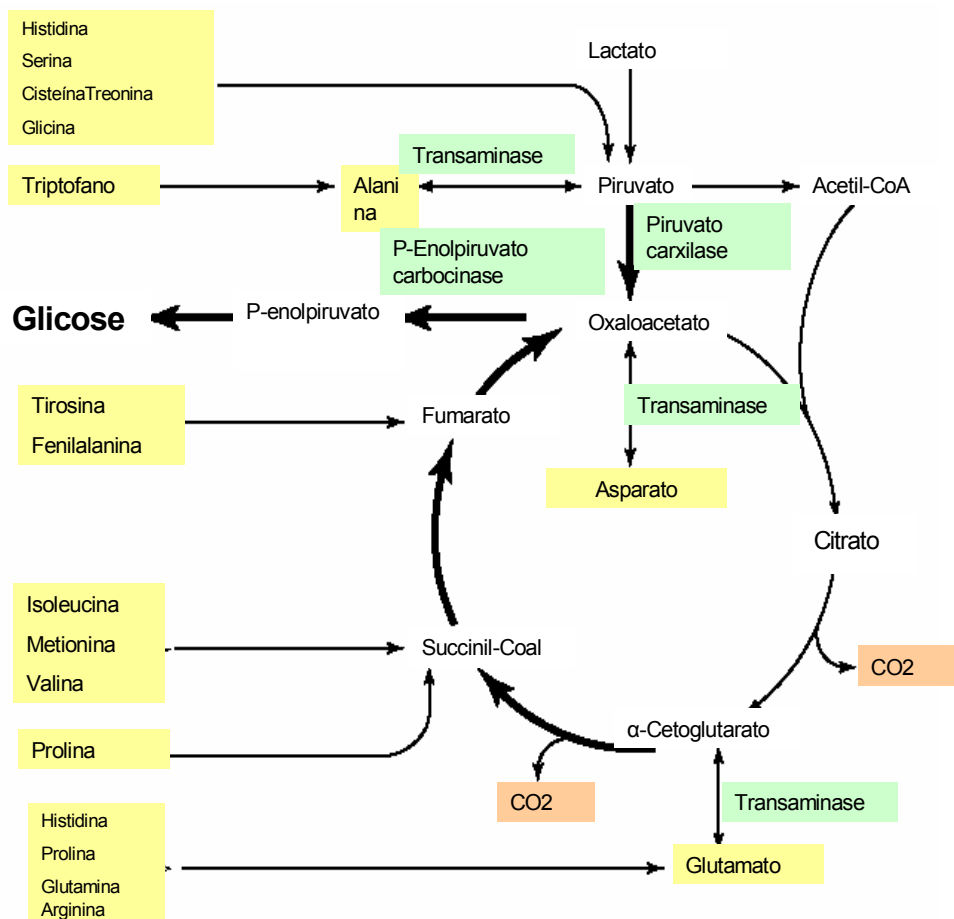
- Enzimas que fazem parte das etapas em geral envolvidas também na via glicolítica.

O lactato é proveniente do piruvato muscular. Esse piruvato pode dar origem à alanina por transaminação, a partir de dieta hiperproteica. O lactato e a alanina armazenados no músculo são transportados para a mitocôndria hepática e daí são transformados novamente em piruvato o qual toma um caminho paralelo no sentido inverso da glicólise para originar a glicose (neoglicogênese). A glicose formada, não fosforilada, navega até os órgãos carentes de energia, principalmente os glicodependentes como o cérebro, miocárdio e os glóbulos vermelhos.

3. NEOGLICOGÊNESE A PARTIR DE PROTEÍNAS E AMINOÁCIDOS

As proteínas endógenas são hidrolisadas através de proteases específicas originando os aminoácidos. Esses aminoácidos são hidrolisados em grupo amino e radical carbônico. O grupo amino é reaproveitado e o excesso é eliminado na forma de uréia ou amônia. O radical carbônico entra no processo de neoglicogênese (**Figura 16**).

Figura 16. Neoglicogênese a partir de aminoácidos.



Creu F. Santos

O radical carbônico dos aminoácidos de origem protéica, entra na neoglicogênese através do piruvato ou intermediários do ciclo de Krebs, na mitocôndria. Esses tomam destino ao oxaloacetato que saem da mitocôndria por meio do malato ou de fosfoenolpiruvato. O malato citosólico se transforma em oxalacetato citosólico. O oxalacetato toma a via da neoglicogênese. Nesse processo, as enzimas transaminases estão sempre presentes, transformando os aminoácidos em cetoácidos que, em sua maioria, são componentes do ciclo de Krebs.

Assim, os aminoácidos podem ser biossintetizados a partir dos cetoácidos, também por transaminação. Portanto, uma série de enzimas está envolvida nas diferentes reações do processo da neoglicogênese (**Tabela 5**).

Tabela 5. Enzimas envolvidas nas reações da neoglicogênese.

| Número da reação | Nome das enzimas envolvidas na neoglicogênese |
|------------------|--|
| 1 | *Piruvato carboxilase (piruvato dando oxaloacetato mitocondrial) |
| 2 | *Malato desidrogenase mitocondrial (oxaloacetato dando malato) |
| 3 | *Malato desidrogenase citosólica (Malato dando oxaloacetato) |
| 4 | Fosfoenol piruvato carboxinase mitocondrial (Oxaloacetato dando Fosfoenolpiruvato) |
| 5 | *Fosfoenolpiruvato carboxinase citosólica (Oxaloacetato dando Fosfoenolpiruvato) |
| 6 | Enolase |
| 7 | 3P-glicerato mutase |
| 8 | 1,3 biP-glicerato quinase |
| 9 | Gliceraldeído-3P desidrogenase |
| 10 | Aldolase |
| 11 | *Frutose 1,6-bifosfatase |
| 12 | Glicose 6-P mutase |
| 13 | *Glicose 6-Fosfatase |
| 14 | Lactato desidrogenase (a partir do lactato), dando piruvato hepático |
| 15 | Aminotransferase (a partir da alanina), dando piruvato hepático. |

4. REGULAÇÃO DA NEOGLICOGÊNESE

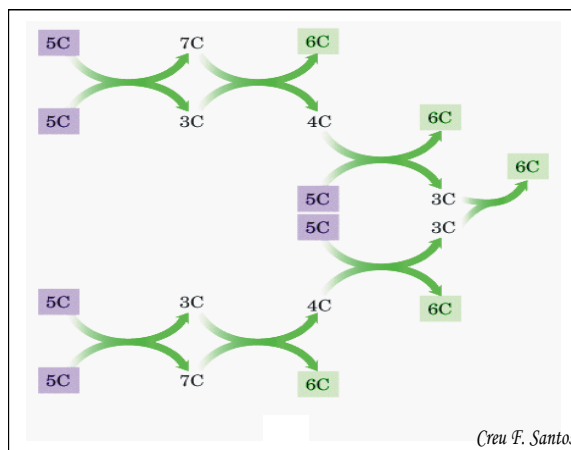
O fluxo é regulado nas reações características da gliconeogênese. Assim, a piruvato carboxilase é ativada por acetil-CoA, que sinaliza a abundância de intermediários do ciclo de Krebs, ou seja, diminuição da necessidade de glicose.

5. VIA DAS PENTOSSES- FOSFATO

Esta via alternativa de oxidação das hexoses, independente da glicólise, está presente em muitos organismos e em mamíferos, especialmente no fígado. No músculo, onde os carboidratos são utilizados quase que exclusivamente na geração de energia, as enzimas necessárias não são encontradas. As funções principais são: produção de NADPH e ribose-5-P.

A via inicia-se a partir da oxidação da glicose-6-P a CO_2 a um açúcar-P de 5 carbonos. Os carbonos das pentoses são então distribuídos em várias vias por duas enzimas que catalisam a transferência de pedaços de 2 e 3 carbonos entre as moléculas. Os produtos finais podem conter de 3 a 7 átomos de carbono (**Figura 17**).

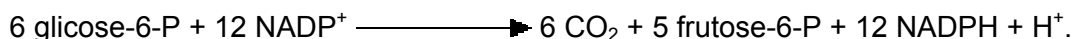
Figura 17. Transferência de unidade 2C e 3C entre as aldoses e cetoses na via das pentoses.



A via pode ser assim dividida em duas etapas:

Primeiramente ocorre a formação de ribulose-5-P que, entretanto, não possui a configuração certa para servir de substrato às enzimas-chave da próxima etapa: *transaldolase* e *translocase*. Ambas requerem uma cetose como doador e uma aldose como receptor. A conversão da ribulose-5-P à ribose-5-P é uma simples isomerização cetose-aldose. Já a conversão a xilulose-5-P envolve uma epimerização.

Uma vez que tenha sido formada uma molécula doadora (xilulose-5-P) e uma receptora (ribose-5-P), várias vias são possíveis e, provavelmente, ocorrem simultaneamente. A reação abaixo é a que caracteriza o ciclo de formação de NADPH + H⁺:



O NADPH + H⁺ é utilizado nas vias biossintéticas.

Outros dos produtos formados na via das pentose e de grande importância biológica são:

- triose-P - que pode alimentar a via glicolítica;
- eritrose-4-P - utilizada na síntese de muitos aminoácidos;
- ribose-5-P - requerido na síntese de nucleotídeos;

Pode ainda haver regeneração das hexoses. As vias sempre serão direcionadas de acordo com a necessidade da célula. Em divisão por exemplo, a síntese de nucleotídeos exige grande produção de riboses, enquanto que o gasto de energia demanda maior produção de hexoses. Quando há necessidade de NADPH, também há reciclagem das pentoses a glicose-6-P, pois é este caminho que conduz à formação desta molécula.

Exercícios

1. Conceitue e indique onde ocorre a neoglicogênese?
2. Como é possível a síntese de glicose a partir do glicerol obtido da quebra das reservas de triacilglicerídeos? Há gasto de ATP para entrada dos carbonos na glicólise?
3. Cite três importâncias da via das pentoses para os processos metabólicos.

Tema para Discussão

Comparação entre a glicogenólise e a neoglicogênese.

UNIDADE 6

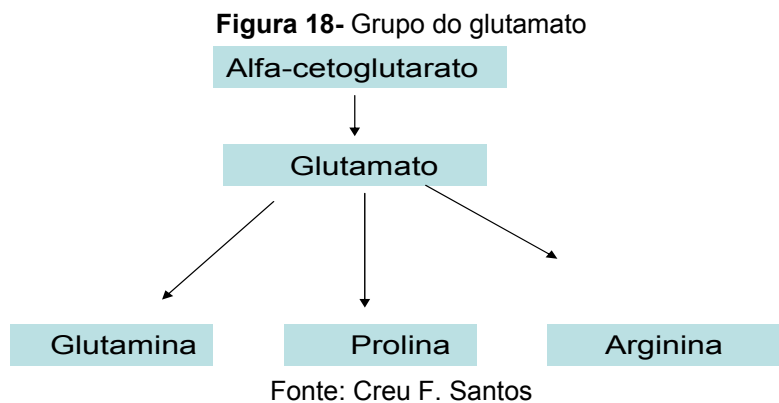
METABOLISMO DOS AMINOÁCIDOS E GRUPO AMINO DOS COMPOSTOS NITROGENADOS

1. BIOSÍNTESE DOS AMINOÁCIDOS

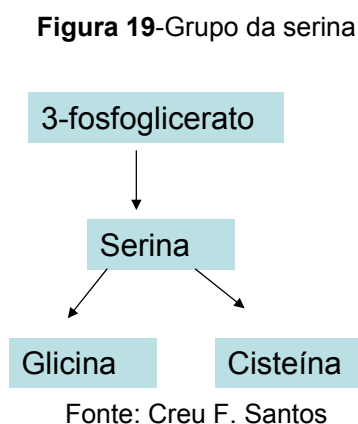
Nos sistemas vivos, o nitrogênio reduzido é incorporado primeiro nos aminoácidos, e depois em uma variedade de outras biomoléculas, incluindo os nucleotídeos. O ponto chave de entrada é o glutamato. O glutamato e a glutamina são os doadores de nitrogênio em uma larga variedade de reações biossintéticas. A glutamina sintetase, que catalisa a formação da glutamina a partir do glutamato, é uma importante enzima reguladora do metabolismo do nitrogênio.

As plantas e as bactérias sintetizam todos os 20 aminoácidos comuns. Os mamíferos podem sintetizar apenas a metade; outra metade deles, que são os aminoácidos essenciais, precisa estar presente na alimentação que são os aminoácidos essenciais.

Entre os aminoácidos não essenciais, o glutamato é formado por aminação redutiva do α -cetoglutarato e serve como precursor da glutamina, prolina e arginina. O alfa-cetoglutarato origina o glutamato, a glutamina, prolina e arginina (**Figura 18**).



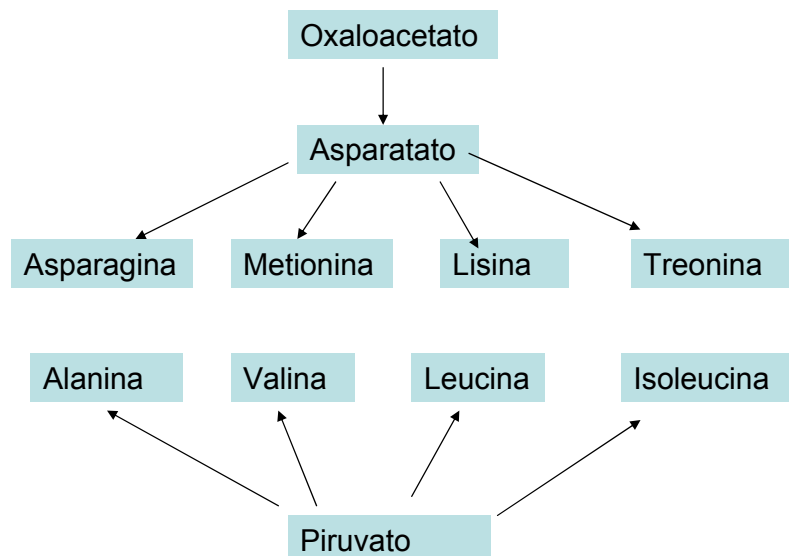
A serina, glicina e cisteína são derivados do 3-fosfoglicerato (**Figura 19**).



A alanina, o aspartato e também a asparagina são formados por transaminação do piruvato e do oxaloacetato, respectivamente. A cadeia carbônica da serina é derivada do 3-fosfoglicerato. A serina é precursora da glicina, onde um carbono da serina é transferido para o

tetraidrofolato. Nos microrganismos, a cisteína é produzida da serina e do sulfeto produzido pela redução do sulfato presente no meio ambiente. Os mamíferos produzem cisteína a partir da metionina e da serina através de uma série de reações que necessitam de S-adenosilmetionina e cistationina. Três aminoácidos não essenciais e seis essenciais são sintetizados do oxaloacetato e do piruvato (**Figura 20**).

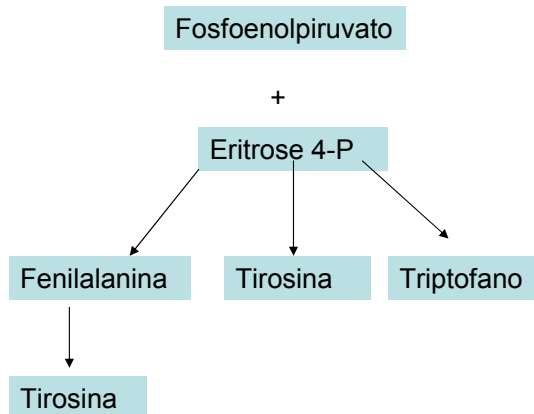
Figura 20-Grupo do Aspartato e do Pirivato



Fonte: Creu F. Santos

Entre os aminoácidos essenciais, os aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) formam-se através de uma via na qual o corismato ocupa um ponto de ramificação importante (**Figura 21**). O fosforribosil pirofosfato é o precursor do triptofano e da histidina. O corismato é um intermediário chave na síntese do triptofano, da fenilalanina e da tirosina.

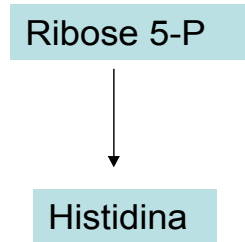
Figura 21-Grupo dos Aromáticos



Fonte: Creu F. Santos

A via que leva à formação da histidina (**Figura 22**) está interconectada com a via de síntese das purinas. A tirosina também pode ser formada pela hidroxilação da fenilalanina por isso é considerada condicionalmente essencial.

Figura 22 - Grupo da Histidina



Fonte: Creu F. Santos

2. REGULAÇÃO DA BIOSÍNTESE DE AMINOÁCIDOS

As vias de biossíntese dos aminoácidos são submetidas à inibição alostérica pelo produto final da via; a enzima reguladora é, em geral, a primeira da via considerada. A regulação das várias vias biossintéticas é coordenada.

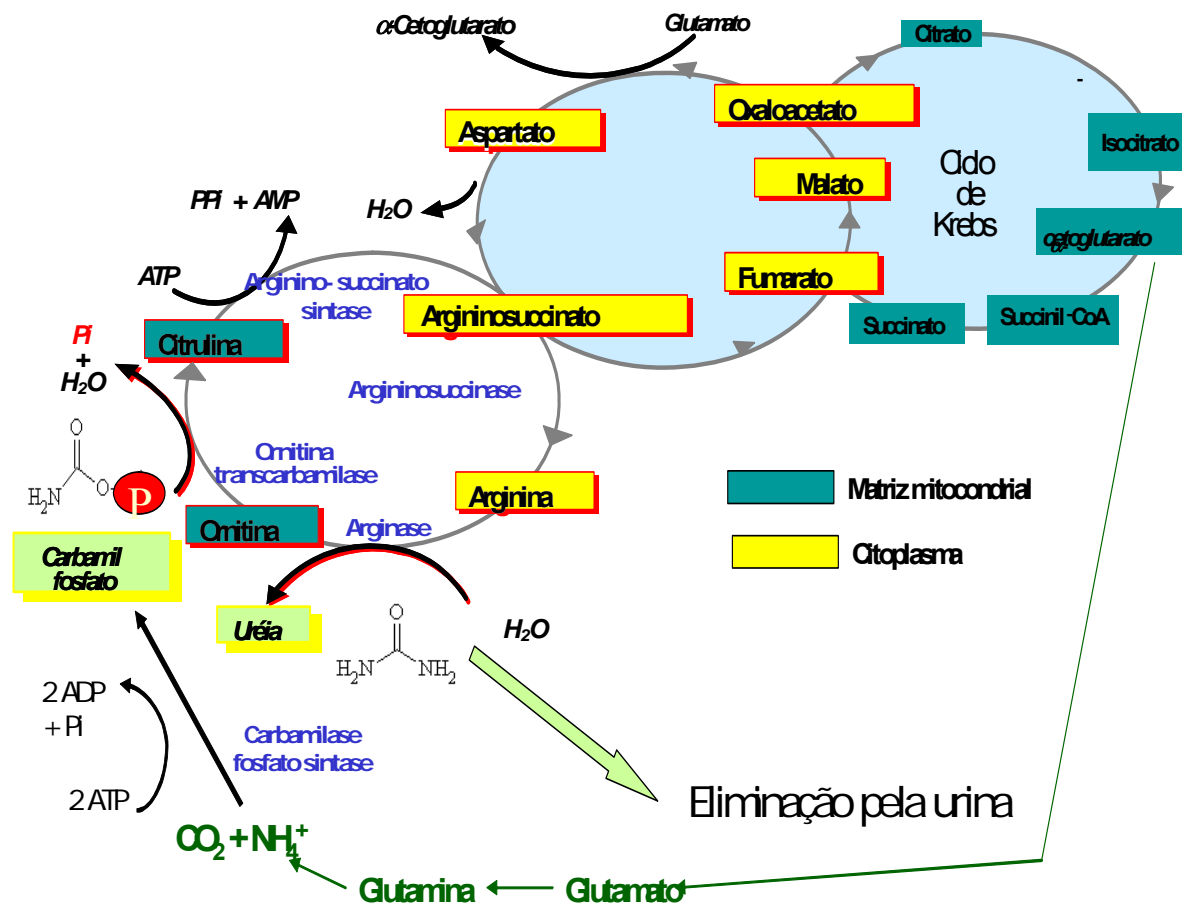
3. METABOLISMO DE AMINOÁCIDOS E CICLO DA URÉIA

O ciclo da uréia tem uma função central no metabolismo do nitrogênio. Ele está envolvido no anabolismo e no catabolismo de aminoácidos e apresenta elos com o ciclo de Krebs (**Figura 23**). Além de serem constituintes das proteínas, os aminoácidos podem ser usados como precursores de moléculas biológicas nitrogenadas como hemes, nucleotídeos e glutatona.

O excesso de aminoácidos da dieta não é armazenado nem excretado, é convertido em piruvato, oxaloacetato, α -cetoglutaratato e outros. Consequentemente, os aminoácidos são também precursores de glicose, ácidos graxos e corpos cetônicos. Podem, portanto, serem usados também para produção de energia.

O processo envolve a eliminação do grupo amina ou desaminação, envolve a incorporação do amônio assim produzido em uréia, para posteriormente ser excretado e convertido em esqueleto carbônico e em intermediários metabólicos.

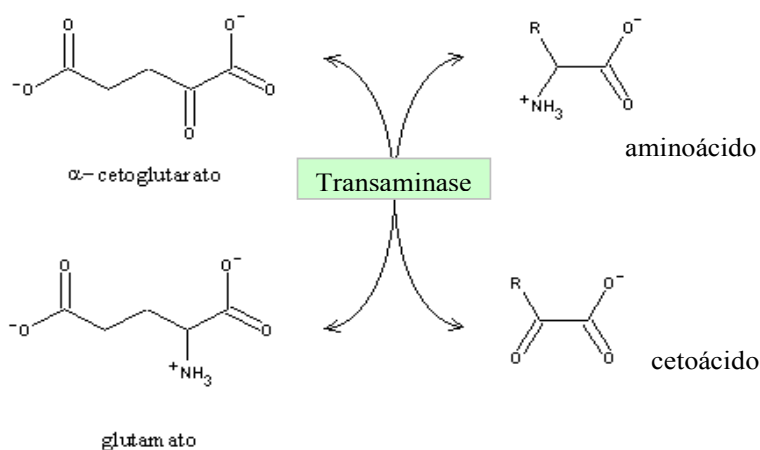
Figura 23. Integração do ciclo de Krebs com o ciclo da uréia.



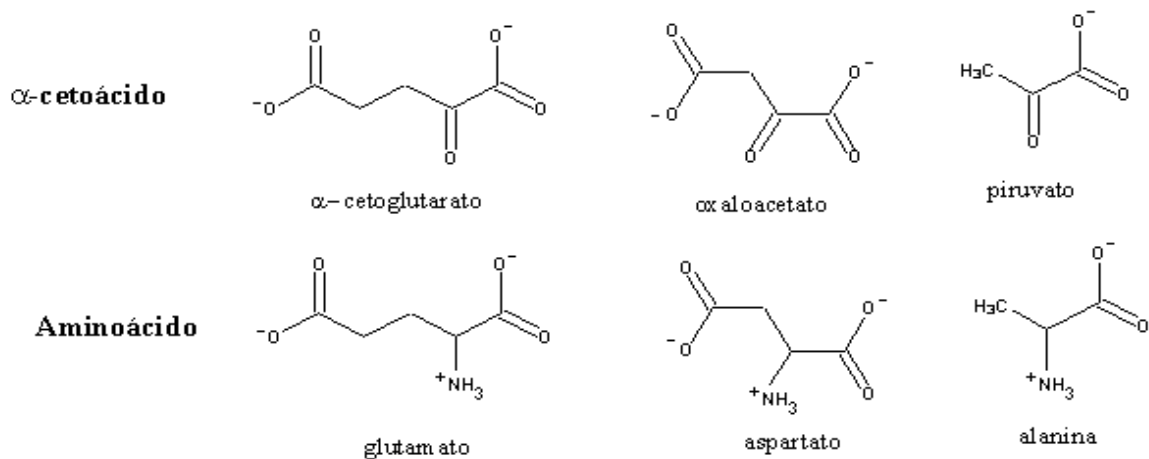
Geu F. Santos

A desaminação da maioria dos aminoácidos envolve uma **transaminação** prévia, que consiste na transferência do seu grupo amina para um α-cetoácido, produzindo o aminoácido correspondente ao α-cetoácido e o α-cetoácido correspondente ao aminoácido original. Geralmente o receptor do grupo amina é o α-cetoglutarato, que é convertido em glutamato, glutamina e daí ao carbamílfosfato, composto importante para realização do ciclo da uréia como também para a formação das bases nitrogenadas.

A formação do glutamato ocorre da transaminação de um aminoácido com o α-cetoglutarato componente do Ciclo de Krebs, vista na reação abaixo.

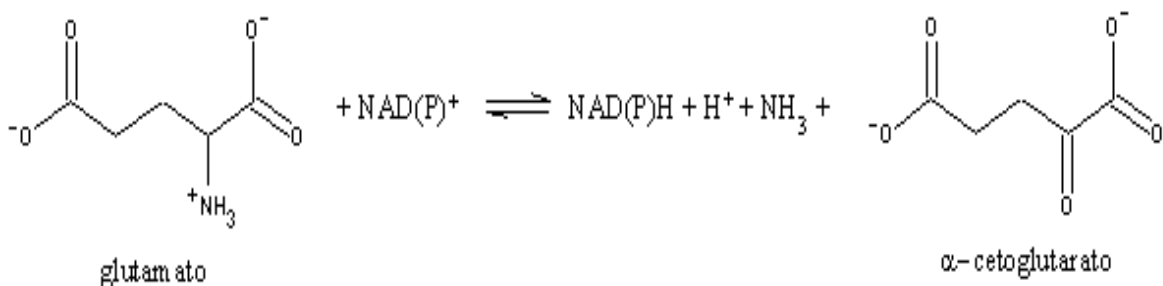


As trasaminases ou aminotransferases usam piridoxal-5'-fosfato, um derivado da vitamina B₆. O piridoxal está também envolvido em reações de descarboxilação de aminoácidos, e de eliminação das suas cadeias laterais. É também o cofator envolvido na reação da glicogênio fosforilase, embora neste caso, o mecanismo de atuação seja diferente. As transaminases são específicas para cada tipo de aminoácido, produzindo os α-cetoácidos correspondentes. No entanto, a maioria só aceita α-cetoglutarato ou oxaloacetato, em menor frequência, como receptor de grupo amina, produzindo assim o glutamato ou aspartato, respectivamente. Por conseguinte, os grupos amina da maioria dos aminoácidos são utilizados para produzir glutamato ou aspartato, que por sua vez, podem ser interconvertidos pela glutamato-aspartato aminotransferase. No processo de transaminação um cetoácido dá origem a um aminoácido com o mesmo número de carbono e o inverso é verdadeiro, ver reações abaixo.



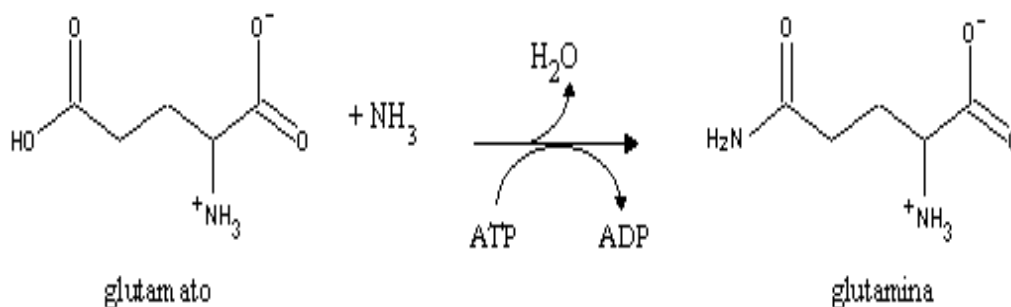
Há um grupo de trasaminases musculares que usa piruvato como α-cetoácido receptor de amina. O aminoácido produzido a partir dessa reação é a alanina, a qual é lançada para a corrente sanguínea e absorvida pelo fígado, onde é transaminada a piruvato, que será usado na gliconeogênese hepática. A glicose assim produzida é depois oxidada a piruvato pelo músculo, completando o **ciclo da alanina**. O grupo amina é depois utilizado para a síntese da uréia. O resultado do ciclo da alanina é o transporte de amônio do músculo para o fígado. A transaminação conserva os grupos amina.

A **desaminação** ocorre principalmente com o glutamato pela glutamato desidrogenase, uma enzima mitocondrial que usa quer NAD⁺ quer NADP⁺ pelo processo desaminação oxidativa, como na reação seguinte:



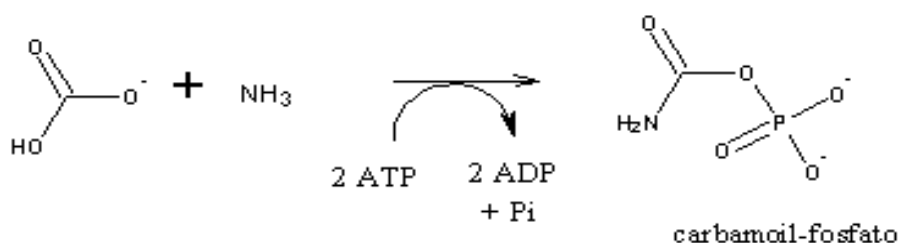
O grupo nitrogenado libertado na forma de amoníaco nesta reação deve ser excretado. Muitos animais aquáticos o excretam simplesmente sob a forma de amônio. Outros animais, que não têm tanta água à sua disposição, convertem o amônio em produtos menos tóxicos, que não precisam de tanta água para ser excretados, onde um desses produtos é a **uréia**.

A toxicidade do grupo amônio ainda requer estudos mais aprofundados, porém se sabe que quando a concentração de amônio se apresenta muito alta, este reage com o glutamato para formar glutamina, numa reação catalisada pela glutamina sintase, veja a reação a seguir:

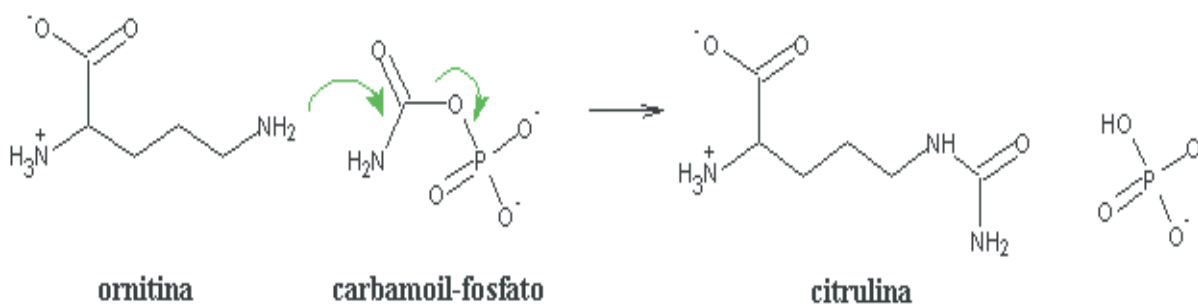


A reposição dos níveis de glutamato ocorre através da reação de outros aminoácidos com o α -cetoglutarato por transaminação. O resultado é direcionado a um progressivo esgotamento das reservas de α -cetoglutarato e glutamato, causando lesões principalmente a nível do cérebro.

A síntese da uréia ocorre no fígado, e é secretada na corrente sanguínea e em seguida excretada pelo rim. O ciclo da uréia apresenta a sequência de reação em seguida: o passo inicial é a formação de carbamioil-fosfato, a partir do α -cetoglutarato dando glutamato, glutamina e daí o carbamílfosfato.

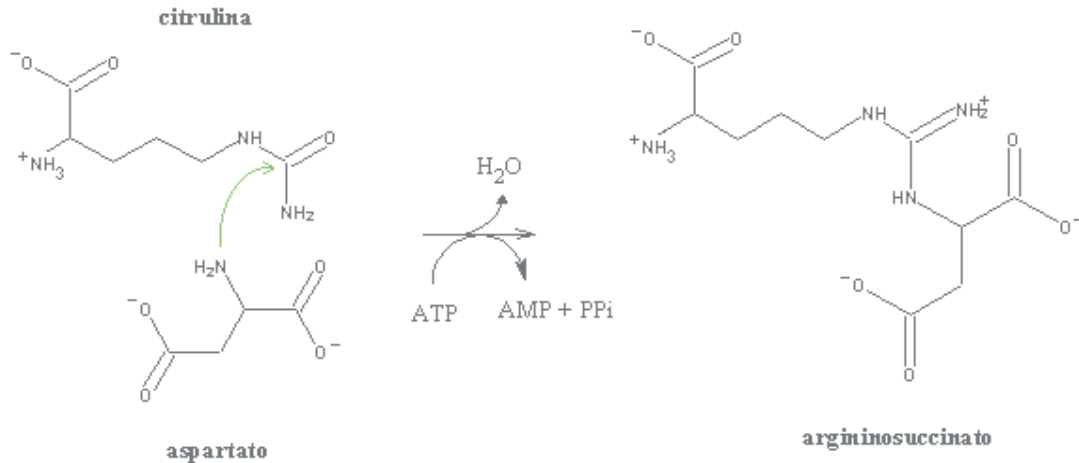


A molécula de carbamioil-fosfato reage com a ornitina para produzir citrulina, moléculas de aminoácidos que não fazem parte da formação de proteínas.

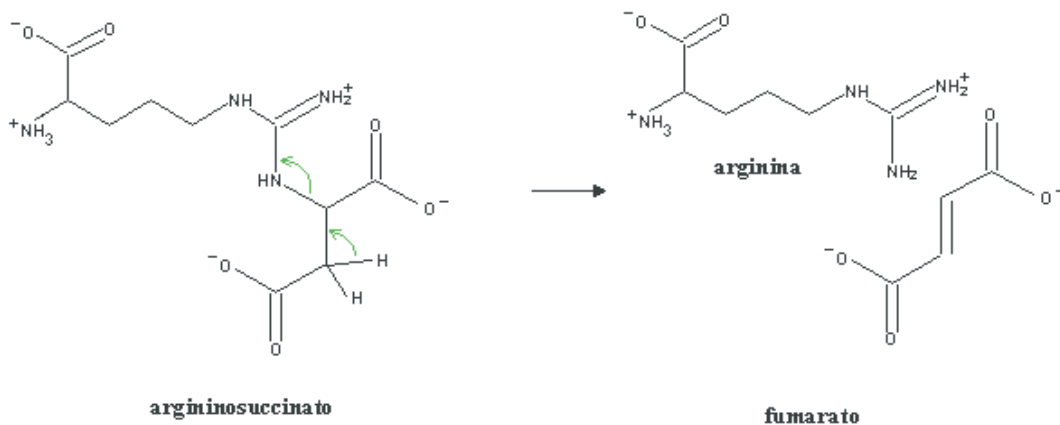


Essa reação como mostra na Figura 23 ocorre na mitocôndria e a citrulina formada é transferida para o citosol, para dar sequência ao ciclo.

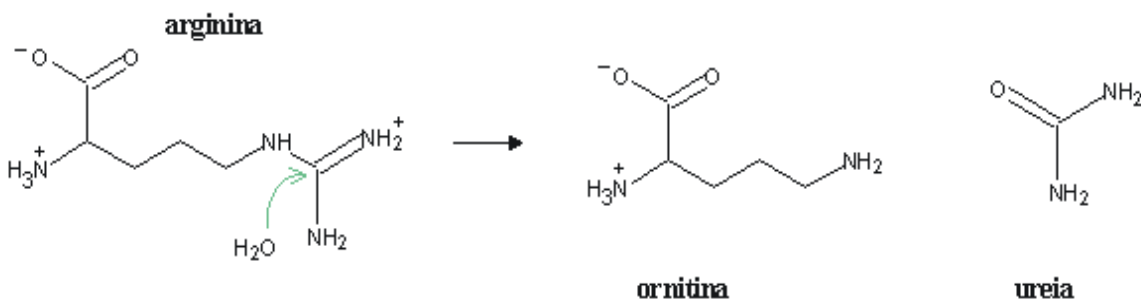
O outro grupo aminado na molécula de uréia é originado do aspartato da reação com a citrulina. A reação da citrulina com o aspartato resulta na argininosuccinato, utilizando o ATP como fonte de energia o qual hidrolizado a AMP e PPi. Esse processo é correspondente a 2 ATP, pois há quebra de duas ligações fosfato por ser o PPi instável em meio aquoso e facilmente hidrolizado a 2Pi.



O produto da reação acima é, em seguida, clivado em fumarato e arginina. O fumarato pode fazer parte do ciclo de Krebs e produzir oxaloacetato e NADH. Esse oxaloacetato pode ser reconvertido em aspartato por transaminação.



Através da hidrólise da arginina, há formação da molécula de uréia e ornitina. A ornitina é reutilizada na mitocôndria para recomençar outro ciclo e a uréia é eliminada.



Esse ciclo apresenta um custo energético muito alto, o que corresponde à hidrólise de 4 ATP dando 4 ADP. Essa energia gasta é restituída na fosforilação oxidativa acoplada à cadeia transportadora de elétrons na mitocôndria. Essa restituição ocorre a partir do momento em que um NADH é produzido na desaminação do glutamato e outro na oxidação do fumarato a oxaloacetato correspondendo a 5 ATP.

Exercícios

1. Na oxidação de aminoácidos, qual o destino final do grupo amino?
2. Que tipo de composto pode receber o grupo amino transferido de um aminoácido? Cite exemplos através de uma reação.
3. Como se dá o nome as transaminases? Quais os produtos da aspartato transaminase e da alanina transaminase?
4. Arginina é um aminoácido essencial? Explique.

Tema para Discussão

- a. Três possíveis destinos da cadeia carbônica na oxidação de aminoácidos.
- b. Formas de diagnóstico das doenças metabólicas na degradação de aminoácidos.

UNIDADE 7

FOTOFOSFORILAÇÃO OXIDATIVA

1. CONCEITOS BÁSICOS

Enquanto a cadeia de transporte de elétrons ocorre na mitocôndria, a fotofosforilação ocorre nos tilacoides ao nível de cloroplastos. Os mais importantes pigmentos que absorvem luz nas membranas tilacoides são as clorofilas com a ajuda dos pigmentos acessórios que ampliam o intervalo de absorção da luz. A formação de energia na cadeia de transporte de elétrons ocorre na matriz mitocondrial, e na fotossíntese ocorre no estroma, fora dos tilacoides, porém ambos os processos requerem um sistema membranar intacto.

A fotofosforilação nos cloroplastos das plantas verdes e das cianobactérias envolvem o fluxo de elétrons através de uma série de transportadores ligados à membrana. A luz impulsiona o fluxo de elétrons nos cloroplastos até a produção de ATP.

2. CARACTERÍSTICAS GERAIS DA FOTOFOSFORILAÇÃO

As reações luminosas da fotossíntese são aquelas que dependem diretamente da absorção de luz; a espécie fotoquímica resultante retira elétrons da H_2O e os direciona através de uma série de transportadores ligados à membrana, produzindo NADPH e ATP.

As reações de assimilação do carbono da fotossíntese promovem a redução de CO_2 com elétrons cedidos pelo NADPH e com energia cedida pelo ATP.

As clorofilas, os mais importantes pigmentos que absorvem luz nas membranas tilacoides, com a ajuda de pigmentos acessórios, absorvem energia luminosa para a fotossíntese.

O NADPH e o ATP gerados fornecem hidrogênios e energia para a produção de glicídios a partir do CO_2 .

As reações dependentes de luz e dependentes das clorofilas, da fotólise da água e da produção de ATP ocorrem nas lamelas e nos granas, que são membranas doadoras de clorofila. Já as reações mais complexas, sem dependência da luz têm lugar exclusivamente no estroma, desprovido de pigmento. Uma vez fabricada, a glicose pode sair do cloroplasto e ser utilizada nas mitocôndrias por respiração ou, ainda, servir para produção de celulose, componente da parede vegetal, ou amido, polissacarídeo de reserva energética. A glicose e os O_2 produzidos por esse processo podem ser utilizados pelos animais.

3. ABSORÇÃO DE LUZ

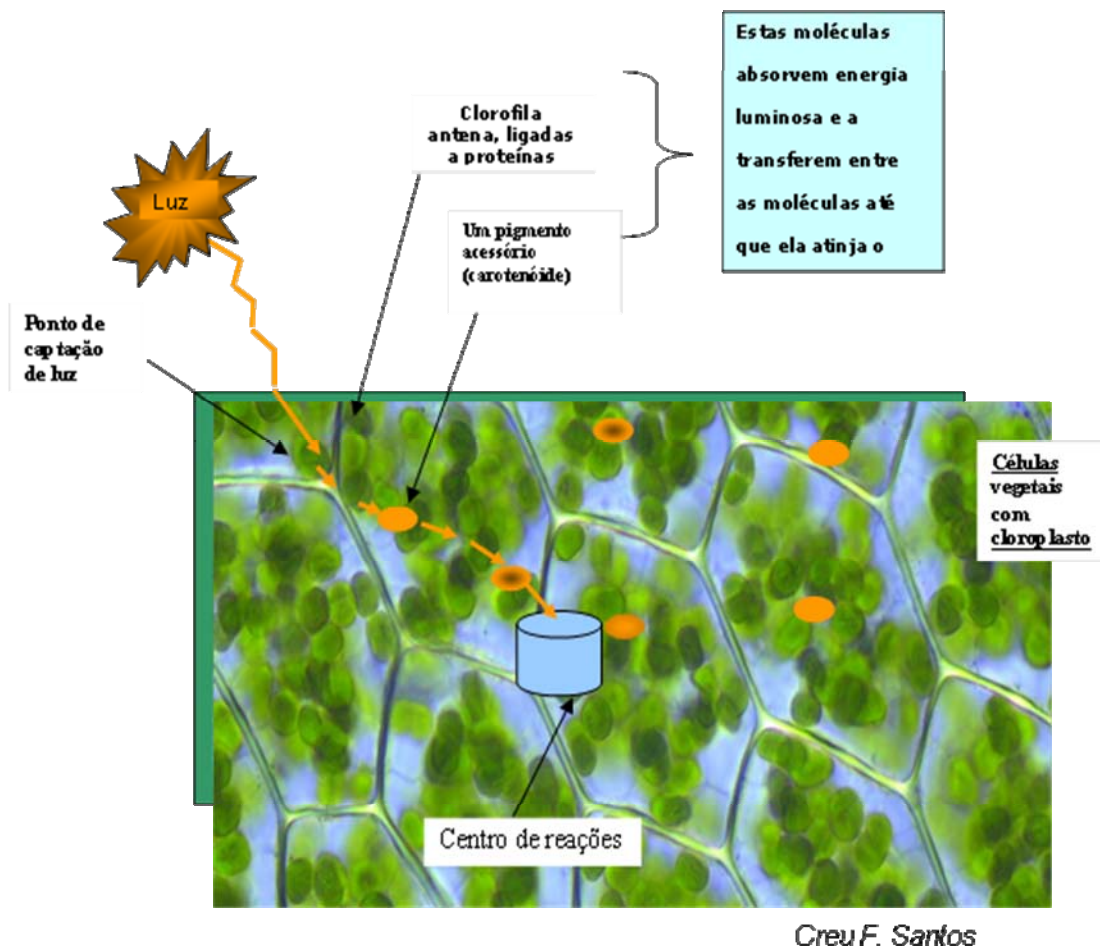
A fotofosforilação nos cloroplastos das plantas verdes e das cianobactérias envolvem o fluxo de elétrons através de uma série de transportadores ligados à membrana dos tilacoides.

A clorofila canaliza a energia absorvida para os centros de reações através da transferência de fótons de luz (**Figura 24**).

A clorofila excitada recupera seus elétrons, retirando-os da H_2O . A energia é transferida do **complexo antena** por ressonância induzida **para o centro de reação** que doa o elétron para um aceptor

Q. Nos **centros de reação**, a **fotoexcitação** resulta na presença de **cargas elétricas** que **produz um doador de elétrons potente** (agente redutor) e também em um potente **receptor de elétrons**.

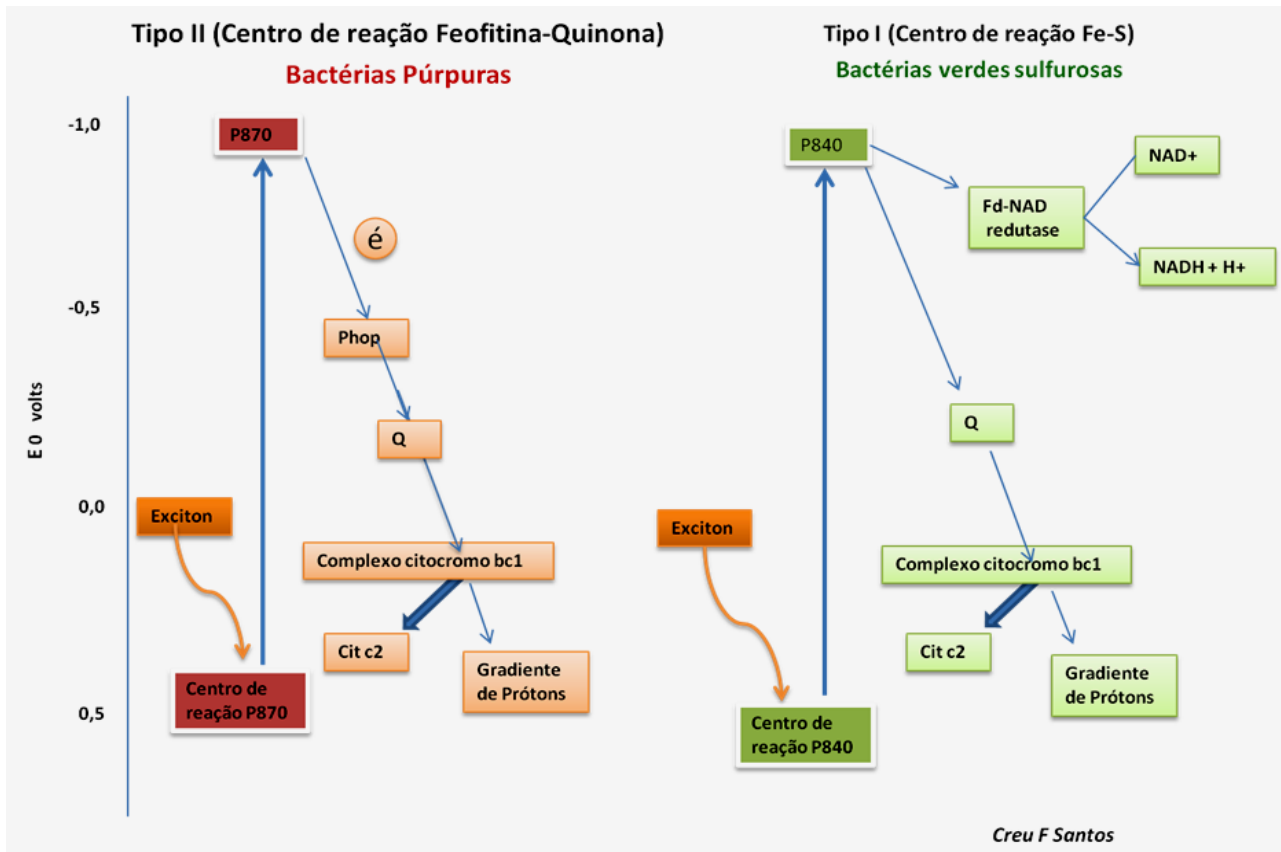
Figura 24. Captação de fóton luminoso pelo sistema antena e transporte de energia entre moléculas de clorofila e acessórias até o centro de reações



As cianobactérias e as plantas possuem centros fotorreativos diferentes e arranjados um atrás do outro.

As bactérias possuem um dos dois tipos de centros de reações fotoquímicos (**Figura 25**). Nas bactérias púrpuras, os elétrons passam das quinonas para o complexo do citocromo *bc1* e retornam para o centro fotorreativo. Nas bactérias verde-sulfurosas, uma via alternativa envia os elétrons reduzidos pelas quinonas para o NAD^+ .

Figura 25-Captação de energia luminosa pelas bactérias



4. CAPTAÇÃO DE ENERGIA LUMINOSA PELAS PLANTAS

Nas plantas, dois centros de reação atuam em sequência na forma de Z (**Figura 26 e 27**).

4.1. FOTOFOSFORILAÇÃO ACÍCLICA: ENVOLVE OS FOTOSSISTEMAS I E II:

Como observado na **Figura 26**

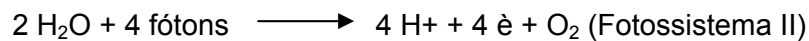
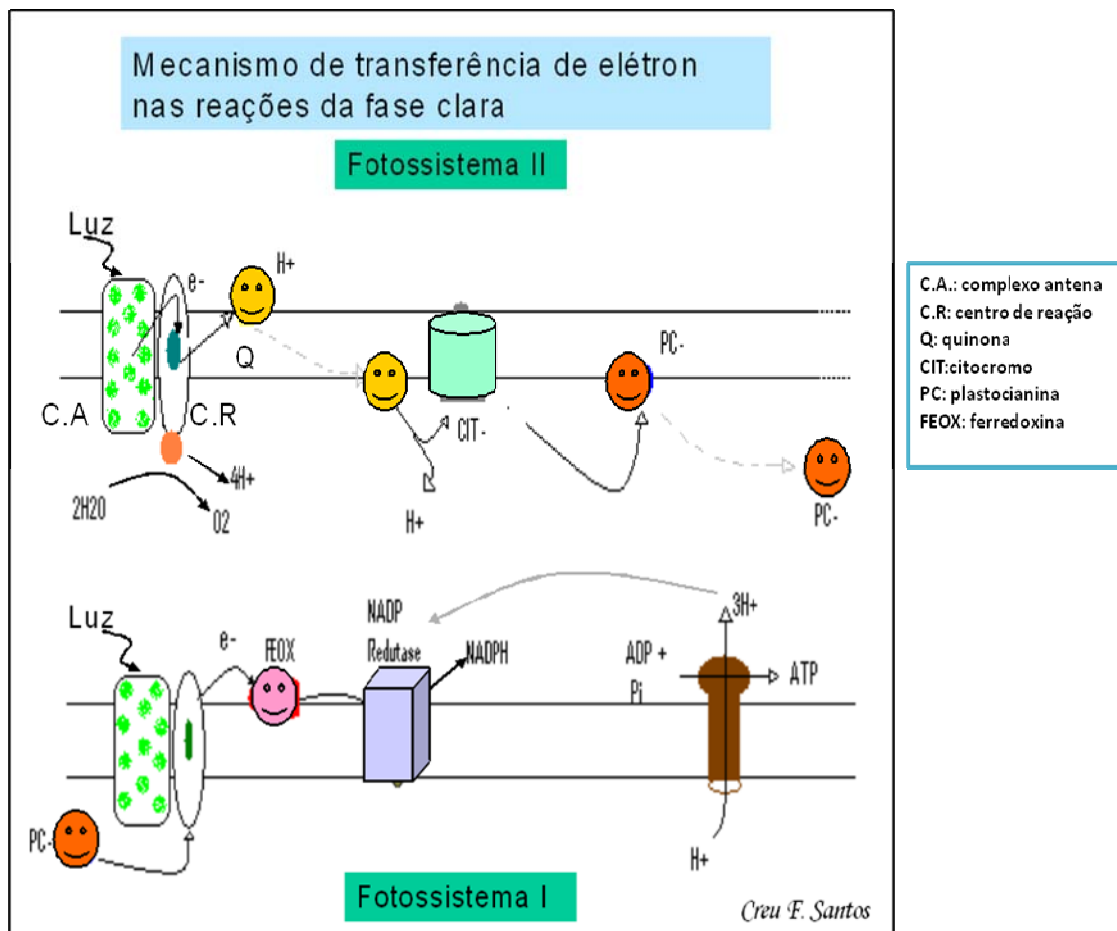


Figura 27-Captação de energia pelas plantas



4.2. FOTOFOSFORILAÇÃO CÍCLICA: ENVOLVE SOMENTE O FOTOSISTEMA I:

Produce ATP, sem formação de NADPH e O_2 .

As atividades relativas dos fluxos cíclico e acíclico de elétrons podem ser reguladas pela célula para determinar a quantidade de energia luminosa que é convertida em força redutora (NADPH) e a quantidade que é convertida em altas energias das ligações fosfato (ATP).

A fotossíntese I passa os elétrons vindos do seu centro de reação oxidado, P700, através de uma série de transportadores para a ferredoxina (Fd) e esta reduz o $NADP^+$ para $NADPH + H^+$. Sistema cíclico: Forma NADPH, mas o movimento cíclico dos elétrons é desacoplado da formação de NADPH. O centro de reação fotossistema II, P680, passa os elétrons para a plastoquinona (Pq), e os elétrons perdidos pelo P680 são repostos pelos elétrons provenientes da água (em outros organismos, podem ser empregados doadores de elétrons diferentes da água). Sistema acíclico: os elétrons da H_2O vão para o $NADP^+$ (Figura 27).

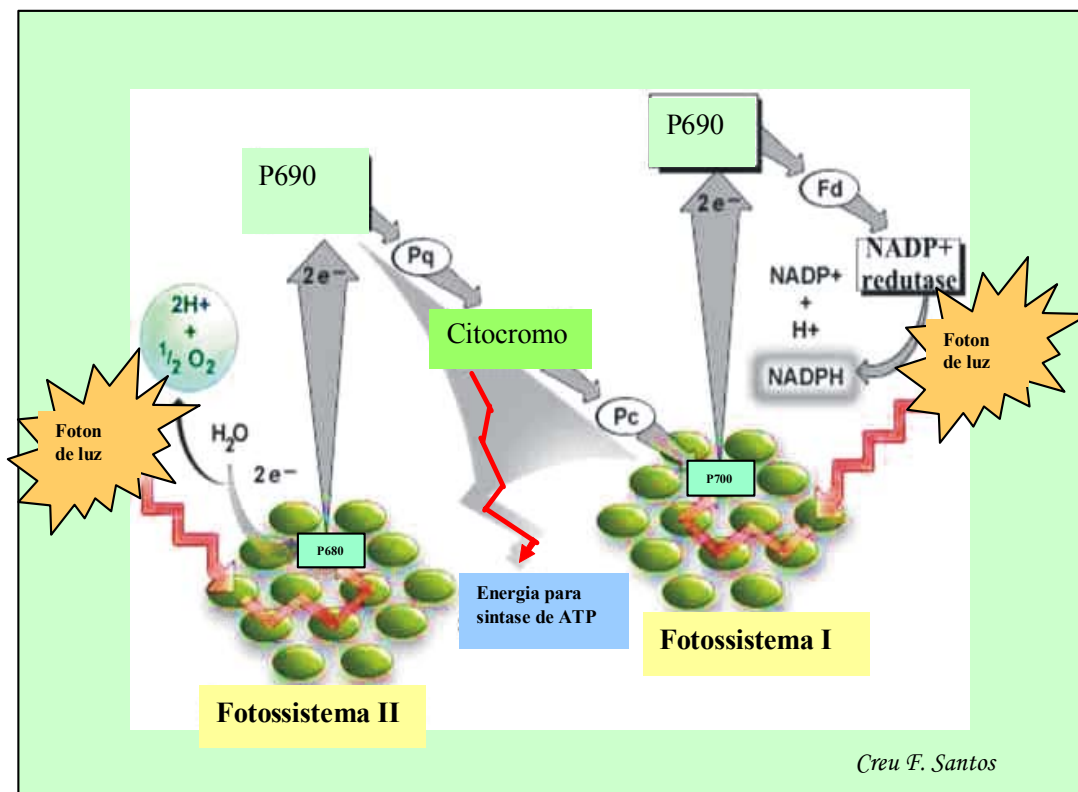
A plastoquinona reduzida transporta os elétrons para o complexo do citocromo b_6f , daqui eles passam para uma plastocianina e então, para o P700, para repor aqueles perdidos durante sua excitação pela luz.

Os elétrons da água são transportados por uma cadeia de quinonas reduzidas para citocromo, concomitantemente há um traslado de prótons para dentro do lúmen dos tilacoides. O citocromo passa os seus elétrons para plastocianina (Pq) que atinge p700 no Fotossistema I e gera

um forte agente redutor. O elétron arrancado do p700 é transportado por uma cadeia de transportadores (ferredoxinas) até reduzir NADP^+ a NADPH (rota não-cíclica).

Na fotofosforilação cíclica: só o fotossistema I produz ATP, sem formação de NADPH e O_2 . O elétron emitido pela P700 é captado pelo aceptor ferredoxina e transferido a cadeia de elétron em vez de ser transferido para o NADP^+ . O aceptor final de elétron é a plastocianina, onde dela o elétron retorna à P700.

Figura 27. Forma cíclica e acíclica (em Z) de captação de energia pelos vegetais, através dos fotossistemas I e II.

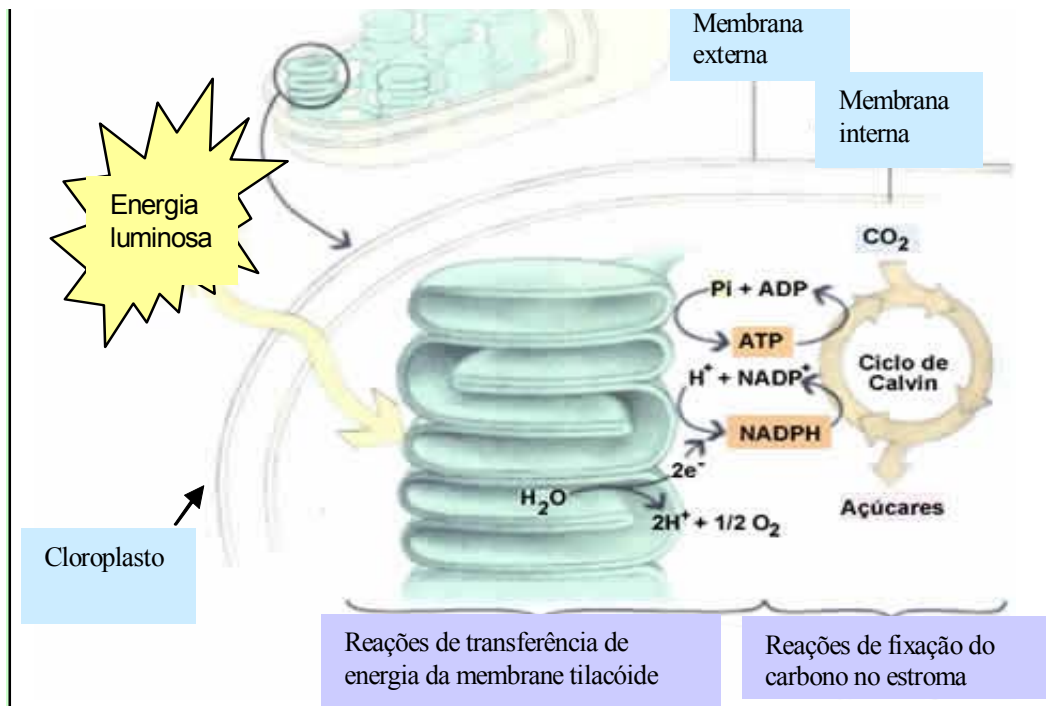


5. PRODUÇÃO DE ATP

5.1. FOTOFOSFORILAÇÃO

A energia liberada pelos elétrons em sua passagem pela cadeia é utilizada para “forçar” a passagem de prótons (H^+) através da membrana tilacóide. Devido à alta $[\text{H}^+]$ no lúmen, os íons H^+ tendem a se difundir de volta ao estroma, somente através da sintetase de ATP presentes na membrana tilacoide (**Figura28**).

Figura 28. Compactação de energia pelos cloroplastos e fixação do carbono



Creu F. Santos

UNIDADE 8 METABOLISMO DO GLICOGÊNIO

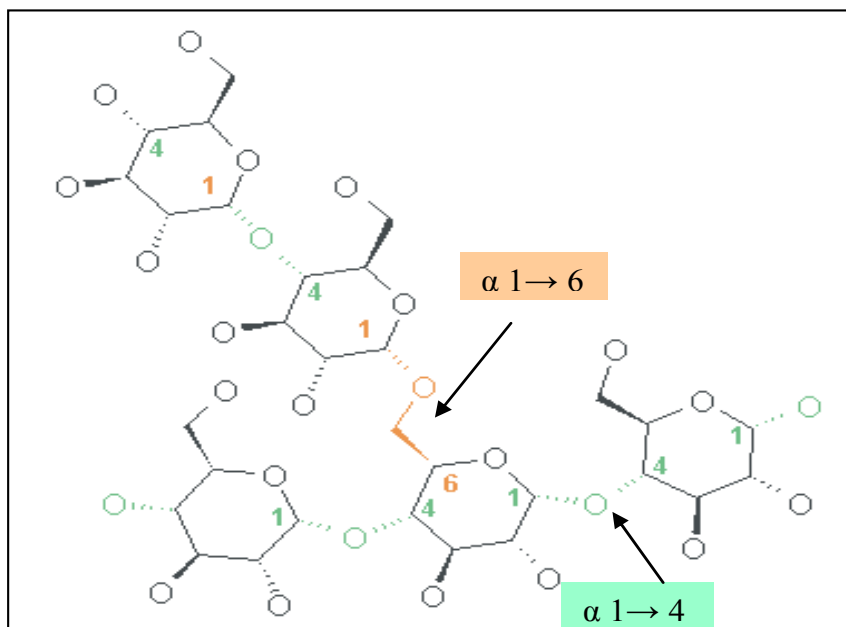
O glicogênio é a reserva disponível de glicose para suprir os tecidos com uma fonte de energia oxidável e é encontrado principalmente no fígado, este é considerado fonte de glicose que pode ser utilizada por todo o organismo. Uma segunda maior fonte de glicose é o glicogênio do músculo esquelético. Contudo, o glicogênio muscular não é disponível para outros tecidos, é conhecido como reserva particular, uma vez que o músculo não possui a enzima glicose-6-fosfatase, responsável pela liberação da glicose livre com capacidade de circulação por todo organismo.

O principal local de consumo de glicose diário é o cérebro, através da via aeróbica. A maior parte da energia restante é utilizada por eritrócitos, músculos esquelético e cardíaco. O corpo obtém glicose através da dieta ou da via da gliconeogênese. A glicose obtida a partir destas duas fontes primárias permanece solúvel nos fluidos do corpo ou é estocado na forma polimérica denominada glicogênio. O glicogênio é considerado a principal forma de depósito de glicose e é encontrado, principalmente, no fígado e músculo e, secundariamente, nos rins e intestinos.

O músculo tem menor quantidade de glicogênio por unidade de massa de tecido, mas, considerando-se que a massa do músculo é muito maior do que a do fígado, o glicogênio total do músculo é cerca de duas vezes maior que a do fígado. O estoque de glicogênio no fígado é considerado o principal tampão de níveis de glicose no sangue.

A molécula de glicogênio apresenta ligações glicosídica α 1-4 na cadeia linear e α 1-6 nos pontos de ramificações (**Figura 29**).

Figura 29. Estrutura do glicogênio.



Creu F. Santos

1. BIOSÍNTESE DO GLICOGÊNIO

A síntese do glicogênio a partir da glicose é executada pela glicogênio sintetase. Esta enzima utiliza UDP-glicose como um substrato e o estado final não-reduzido do glicogênio como

outro substrato. A ativação de glicose para ser usada pela síntese de glicogênio é executada pela UDP-glicose pirofosforilase, enzima que troca o fosfato do C-1 da glicose-1-fosfato por UDP (**Figura 30**). A energia da ligação fosfoglicosil da UDP-glicose é utilizada pela enzima glicogênio-sintetase para catalisar a incorporação de glicose em uma molécula pré-existente do glicogênio; UDP é subsequentemente liberado da enzima.

Para o início da síntese do glicogênio é necessário o prime (iniciador) (**Figura 31**). Esse iniciador é uma proteína conhecida como glicogenina e está localizada no centro da molécula de glicogênio. A glicogenina tem uma propriedade incomum de catalisar a sua própria glicosilação, fixando o C-1 da UDP-glicose por um resíduo de tirosina na enzima. A glicose fixada pode servir como um primer requerido pela glicogênio sintetase.

As ramificações α -(1,6) na cadeia α -1,4 glicose são formadas pela ação da amilo-(1,4-1,6)-transglicosilase ou enzima de ramificação. Esta, transfere um fragmento terminal dos resíduos 6-7 da glicose (de um polímero de no mínimo 10 resíduos de glicose), da extremidade não redutora para um resíduo interno na posição C-6 no meio da cadeia (**Figura32**).

A adição da glicose ligada à UDP continua pela enzima glicogênio-sintetase até a preparação para novas ramificações (**Figura 33**).

Figura 30. Formação e atuação da UDP-Glicose pela ação da pirofosforilase

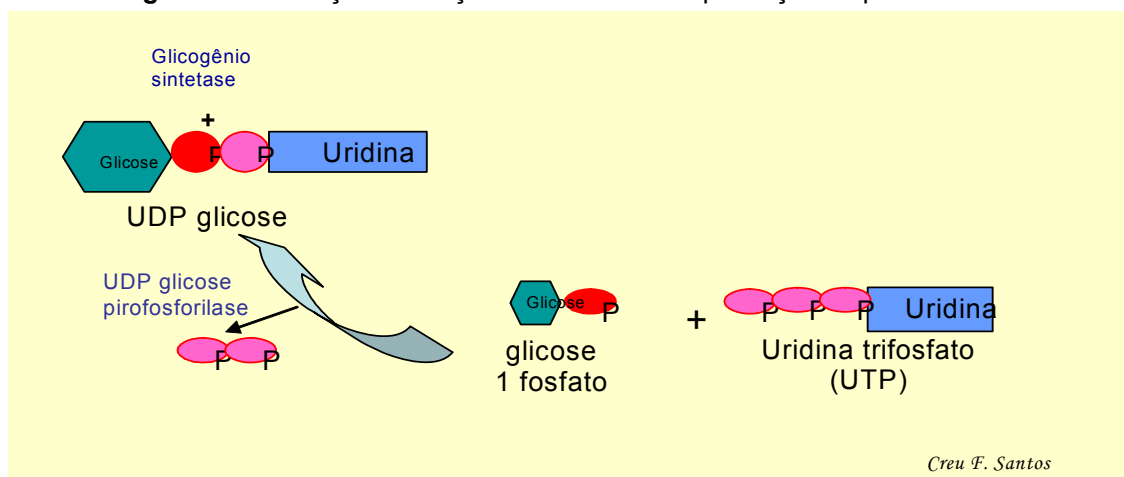


Figura 31-Atuação da glicogenina na biossíntese do glicogênio

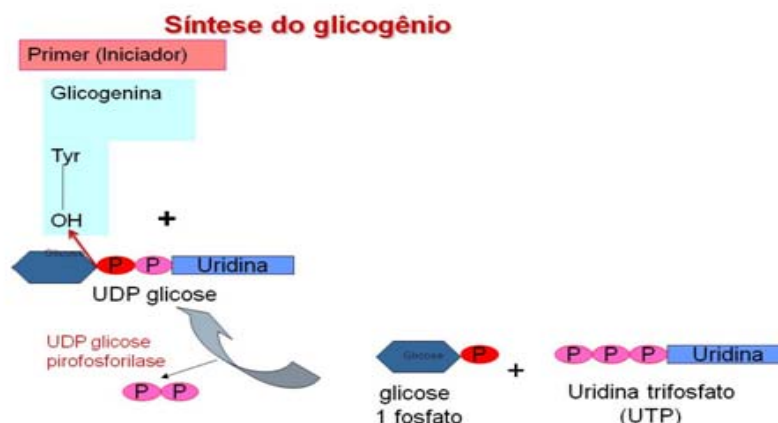


Figura32. Ramificações α -(1,6) inseridas na cadeia α 1,4 de glicose, formadas pela ação da amilo-(1,4-1,6)-transglicosilase (enzima de ramificação).

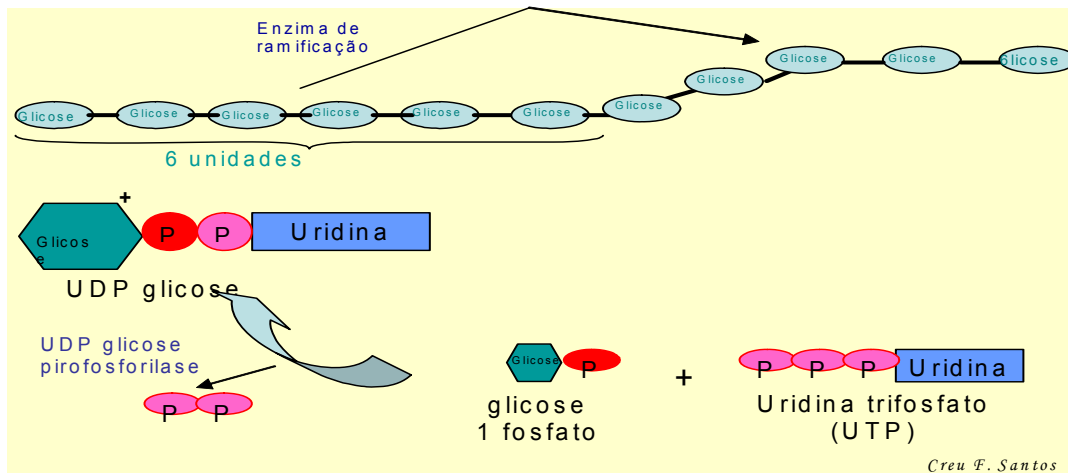
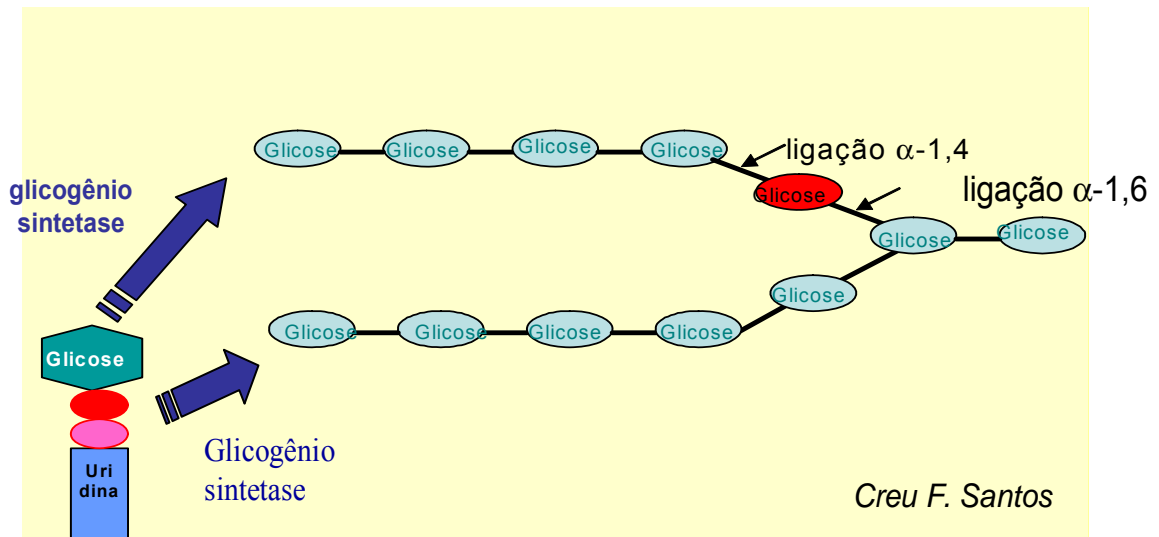


Figura 33. Continuação da ação da glicogênio sintetase.



2. REGULAÇÃO DA BIOSÍNTESE DO GLICOGÊNIO

A glicogênio sintase é uma enzima tetramérica consistindo de 4 subunidades idênticas. A atividade desta enzima é regulada por fosforilação de resíduos de serina nas subunidades protéicas. A fosforilação da enzima reduz a atividade "favorável" da UDP-glicose. Quando no estado não fosforilado, a glicogênio sintase não requer glicose-6-P como um ativador alostérico; quando fosforilada, ela requer. As duas formas da glicogênio sintetase são identificadas pela mesma nomenclatura como usadas para a glicogênio fosforilase. A forma não-fosforilada e mais ativa é a sintase, e a fosforilada e dependente da glicose-6-fosfato fosforilada, é a b-sintetase.

3. GLICOGENÓLISE

É um processo de degradação do glicogênio o qual se inicia pela necessidade de glicose intracelular ou pelo organismo. Esse processo ocorre nas 36 primeiras horas de fome para sustentar o período em que a glicose está sendo formada pelo processo da neoglicogênese.

A degradação dos estoques de glicogênio ocorre através da ação da enzima glicogênio fosforilase. A ação desta enzima é remover resíduos de glicose-1 P a partir da quebra de ligações α -(1,4) da molécula de glicogênio. Essa reação apresenta duas vantagens para o organismo:

- A glicose é removida do glicogênio em um estado ativado (fosforilada) e isto ocorre sem hidrólise de ATP.
- A concentração P_i nas células é alta o suficiente para dirigir o equilíbrio da reação no sentido favorável.

A glicose-1-fosfato produzida pela ação da fosforilase é convertida em glicose-6-fosfato por uma fosfoglicomutase. A enzima desramificadora entra quando há poucas unidades de glicose para chegar na ligação α 1-6, transferindo unidade de glicose de uma extremidade não redutora para outra não redutora dando oportunidade para a continuação da glicogênio fosforilase (**Figuras 34 e 35**).

Daí a conversão de glicose-6-fosfato para glicose, que ocorre no fígado, rim e intestinos, pela ação da glicose-6-fosfatase. No fígado, a ação desta enzima conduz a glicogenólise para geração de glicose livre e à manutenção da concentração desta no sangue.

A enzima fosforilase não remove resíduos de glicose a partir das ligações α (1,6) ou extremidade redutora 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 conhecida também por transferase que contém duas atividades. A transferase ou desramificadora remove um bloco de três glicoses de uma ramificação para outra (**Figura 35**).

Em seguida, a glicose em uma ligação α (1,6) da ramificação é removida pela ação da 1,6-glicosidase. No fígado, parte da glicose-6-P entra na via glicolítica e parte é defosforilada pela glicose-fosfatase. Essa

glicose defosforilada juntamente com a originada da ação da enzima 1,6- glicosidase, caem na corrente sanguínea para serem distribuídas para órgãos glicodependentes. A glicose de origem do glicogênio hepático pode ser utilizada no fígado ou por tecidos extra hepáticos. (**Figura 36**).

A defosforilação da glicose-6 fosfato não ocorre no músculo esquelético devido à falta da enzima glicose- fosfatase. Teoricamente, a glicogenólise ocorre no músculo esquelético e pode gerar alguma glicose livre para entrar na corrente sanguínea. No entanto, a atividade da hexoquinase no músculo é alta e a glicose livre é imediatamente fosforilada e entra na via glicolítica.

Já no músculo, a glicose livre liberada pela 1,6 glicosidase é fosforilada pela hexoquinase, em glicose-6P. E, portanto, todas as moléculas de glicose-6-P provenientes da glicogenólise, pela hexoquinase e pela fosfatase são destinadas para a via glicolítica muscular (**Figura 37**).

Figura 34 - Ação das enzimas glicogênio fosforilase, da desramificadora e da fosfoglicomutase no fígado

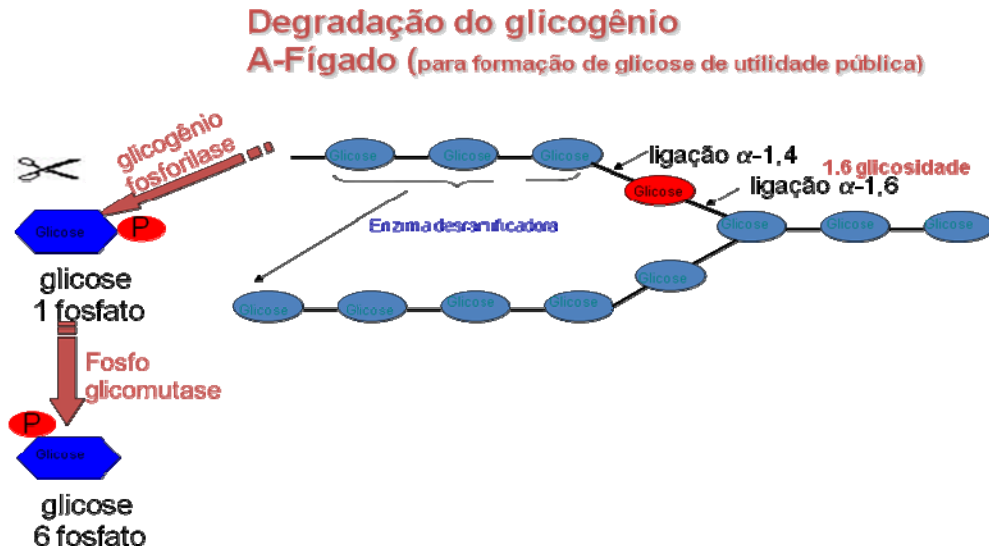


Figura 35-Continuação do glicogênio fosforilase na cadeia linearizada pela desramificadora



Figura 36- Ação da enzima glicose fosfatase e da 1,6- nglicosidase libera glicose livre que no fígado pode ser distribuída pela corrente sanguínea.

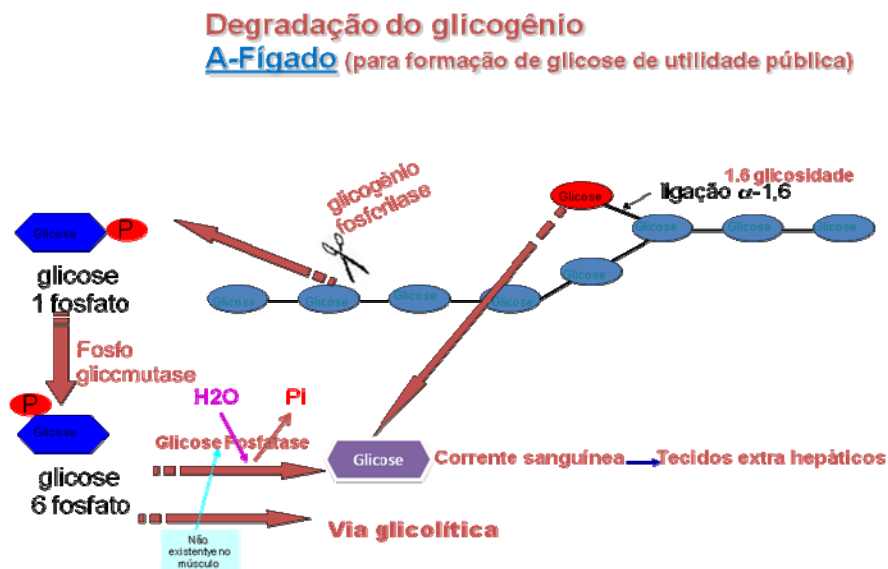
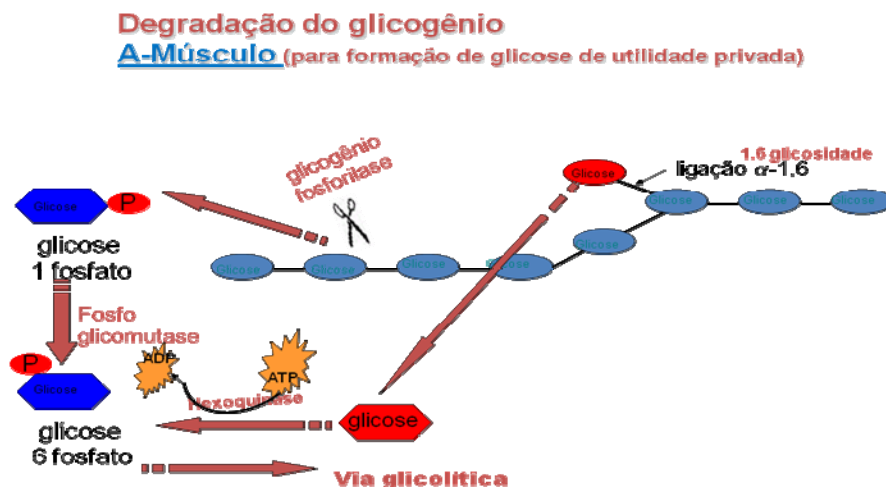


Figura 37- A enzima 1,6- glicosidase libera glicose livre que no músculo vai ser fosforilada pela hexoquinase em glicose -6-P a qual entra na via glicolítica local



4. REGULAÇÃO GERAL DO METABOLISMO DO GLICOGÊNIO

O fígado possui uma hexoquinase com pouca afinidade para a glicose e que não é inibida por glicose-6-P. Portanto, a glicose só é fosforilada no fígado quando existe no sangue em concentrações muito elevadas (i.e. depois das refeições). Assim, quando a concentração de glicose no sangue é baixa, o fígado não compete com os outros tecidos, e quando os níveis de glicose são elevados o excesso de glicose é convertido pelo fígado em glicogênio.

Exercícios

1. Por que não se estoca glicose na forma livre ao invés de polimerizada?
2. Qual a função do glicogênio hepático? E do muscular?
3. Qual o papel da fosforilase do glicogênio?
4. Na biossíntese do glicogênio, quais as enzimas?

Tema para Discussão

Sobre a síndrome de Andersen.

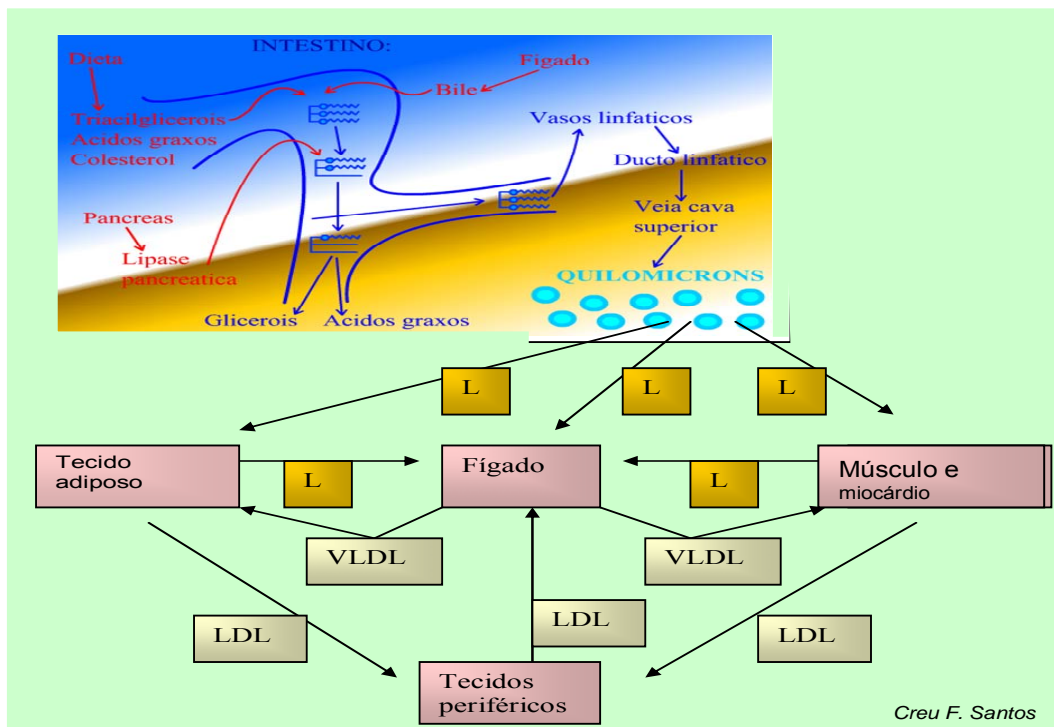
UNIDADE 9 METABOLISMO DOS LIPÍDEOS

1. MOBILIZAÇÃO E BIOSÍNTESE DOS LIPÍDEOS

Os ácidos graxos são uma forma importante de armazenamento de energia para o nosso corpo. Possui maior rendimento energético do que os glicídios, pois se apresenta na forma reduzida e anidra. Além do valor energético, os lipídeos são componentes de fosfolipídios e glicolipídios, modificadores lipófilos¹ de proteínas e hormônios. São armazenados na forma de triacilglicerídeos.

Quando há necessidade de sua mobilização (para uma posterior geração de energia), as triglicérides são hidrolisadas por lipases pancreáticas à ácidos graxos livres e monoacilgliceróis. Os lipídeos ingeridos são emulsionados pelos sais biliares para que sejam transportados e mais facilmente degradados. Ao chegar à parede da mucosa, os ácidos graxos e monoacilglicerol são reconvertidos a triglicerídeos para serem transportados daí em diante na forma de quilomícrons. Ao serem absorvidos pelas células intestinais são envolvidos por lipoproteínas que irão formar a estrutura estável do quilomícrons para ser encaminhado ao sistema linfático e deste, para o sangue (**Figura 38**).

Figura 38 - Mobilização dos lipídeos no organismo.

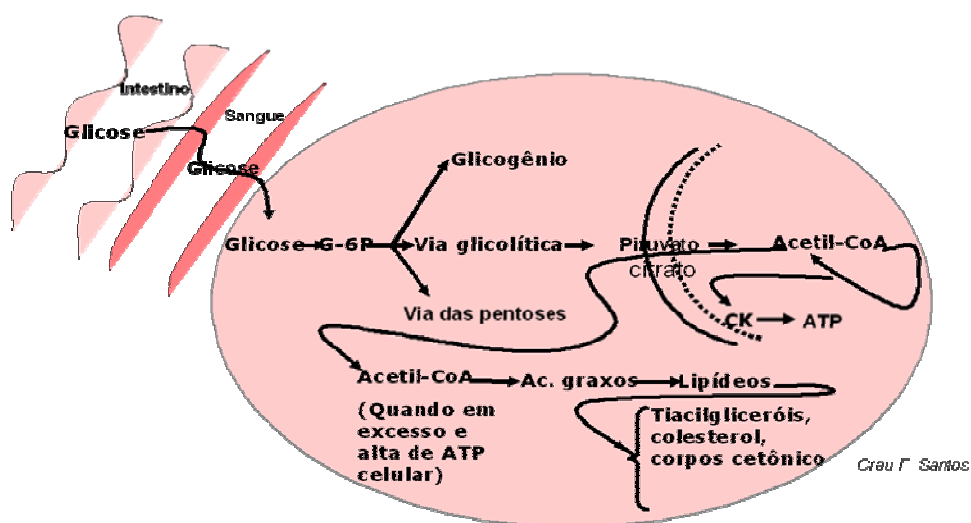


L= lipídeo

Os ácidos graxos são sintetizados no citosol e a unidade de formação dessas moléculas é a acetil-CoA quando em excesso e não utilizadas no ciclo de Krebs. Como a molécula de acetil-CoA é formada somente na mitocôndria essa deve ser transportada para o citosol. Como a acetil-CoA é impermeável à membrana mitocondrial, essa é condensada com o oxaloacetato se transformando

em citrato o qual sai da mitocôndria e é quebrado novamente em oxaloacetato e acetil-CoA citosólico a qual é utilizada para síntese dos ácidos graxos (**Figura 39**)

Figura 39- Formação de gorduras a partir do excesso de Acetil-CoA



Os lipídeos para serem degradados, com o objetivo de gerar energia, devem antes ser mobilizados por influência de sinais hormonais. Isso ocorre quando hormônios como a epinefrina, glucagon e ACTH ativam as lipases que os quebram em ácidos graxos livres e gliceróis. Estes são incorporados em albumina para serem transportados do sangue até as células do tecido que está necessitando.

A célula adiposa é capaz de retirar lipídios circulantes do sangue e armazená-los na forma de depósito de gordura neutra, os triacilgliceróis. A célula adiposa também é capaz de remover glicose da corrente sanguínea, degradá-la até Acetil-coA e no interior de suas mitocôndrias utilizá-las para a síntese de ácidos graxos, e posteriormente triglicérides e fosfolipídios pelo processo denominado lipogênese.

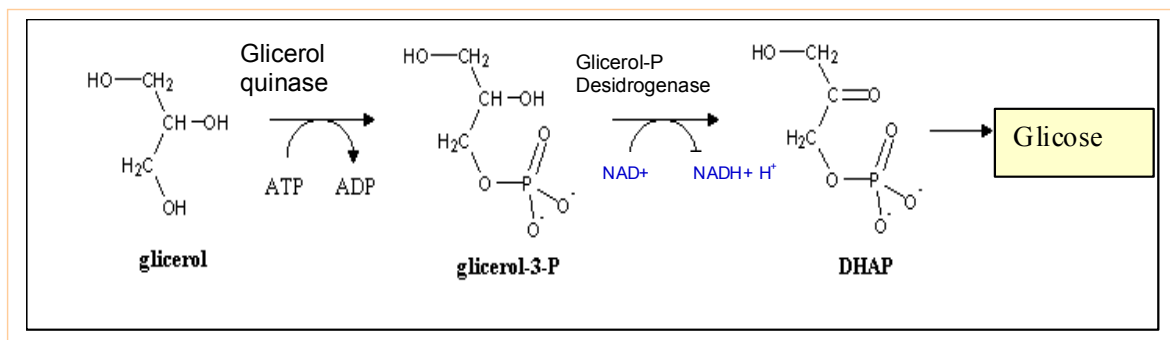
Quando necessário, a gordura armazenada é hidrolisada em glicerol e ácidos graxos que são lançados na corrente sanguínea, podendo ser utilizados pelo fígado e músculos.

Células musculares degradam e queimam ácidos graxos até CO_2 e H_2O , utilizando a energia liberada para a produção de ATP que é utilizada no processo de contração muscular.

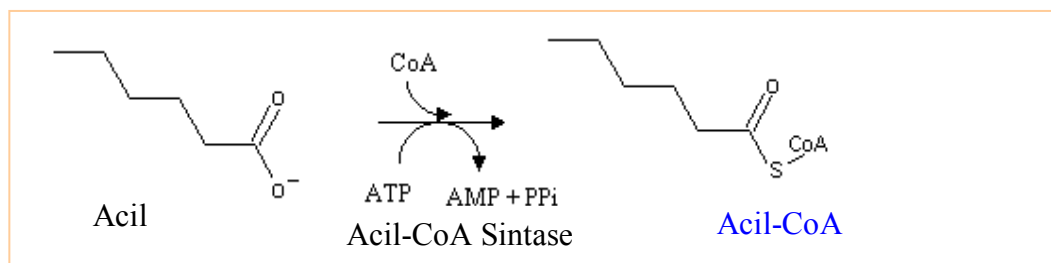
O fígado utiliza ácidos graxos para a produção de triglicéride. O colesterol que é utilizado para a produção de sais biliares, corpos cetônicos que serão lançados para a corrente sanguínea e consumidos pelos músculos, em caso de excesso, excretado pelos pulmões e rins.

A maior parte da reserva energética do organismo encontra-se armazenada sob a forma de triacilglicerídeos. Estes, assim como os ligados em outras moléculas, podem ser hidrolisados por lipases à glicerol e ácidos graxos.

A molécula de glicerol liberada pode seguir para a glicólise depois de oxidado à dihidroxiacetona fosfatada na face externa da membrana interna da mitocôndria. Os dois elétrons libertados nesta oxidação, carregados por $\text{NADH}+\text{H}^+$ são transferidos para a mitocôndria e recebidos pela ubiquinona ou coenzima Q, e esses fazem parte do conjunto de elétrons transferidos pela cadeia de transportes de elétrons acoplada a formação de ATP. A reação abaixo mostra a formação da glicose a partir do glicerol proveniente do triacilgliceróis:



Os ácidos graxos terão um destino diferente: a **β-oxidação**, que ocorre na mitocôndria. Antes de entrarem na mitocôndria, os ácidos graxos são **ativados** na forma de **Acil-CoA** (radical do ácido graxo ligado a CoA). A reação de ativação ocorre no citoplasma, e consiste na sua transformação em Acil-CoA. Nessa etapa, um ATP é hidrolisado à AMP, o equivalente à hidrólise de 2 ATP em 2 ADP.

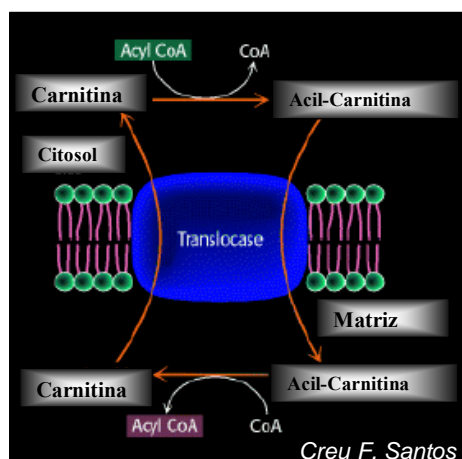


A membrana da mitocôndria interna é impermeável aos acil-CoA. Para que essa molécula passe para a matriz é necessário reagir com uma molécula de **carnitina**, em substituição com a coenzima A. A molécula Acil-Carnitina é transportada para dentro da mitocôndria por uma translocase. Dentro da mitocôndria, a carnitina transfere o grupo acil para uma outra molécula de CoA. A carnitina livre volta então para o citoplasma através da translocase. Neste processo não existe transporte de CoA nem para dentro e nem para fora da mitocôndria, pois as reservas citoplasmática e mitocondrial de CoA são independentes.

2. β- OXIDAÇÃO

Os ácidos graxos presentes no citoplasma da célula devem ser ativados pela adição da coenzima A (CoA) formando uma Acil-CoA. Esta unidade ativada irá entrar para a matriz mitocondrial para iniciar o processo de oxidação. Essa transferência ocorre, contudo, com o auxílio de uma proteína chamada **carnitina** e de uma **translocase** (Figura 40).

Figura 40 - Transporte do Acil-CoA do citosol para a matriz mitocondrial



Na mitocôndria, a Acil CoA irá passar por diversas reações (oxidação, hidratação, oxidação novamente e tiólise) para formar Acetil CoA, Acil CoA, NADH e FADH₂.

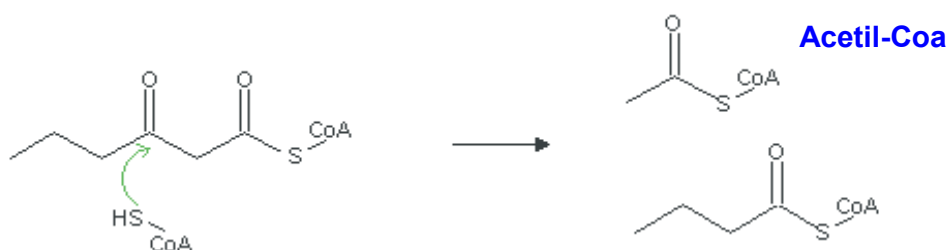
A molécula acetil CoA irá participar do ciclo do ácido cítrico e o NADH e FADH₂ irão entrar no processo de geração de energia pela fosforilação oxidativa.

Os ácidos são degradados a grupos acetil (C2) que na forma de Acetil-CoA suprem o ciclo de Krebs por sua adição a um intermediário C4 (oxaloacetato) produzindo uma molécula C6 (cittrato). Durante o ciclo,

o C2 adicionado é perdido como CO₂ e C4 é produzido. Não ocorre aumento no número de moléculas intermediárias do ciclo. Assim, se ácidos graxos são a única fonte de carbono, nenhum intermediário do ciclo de Krebs pode ser removido sem que o ciclo se interrompa.

A β-oxidação dos ácidos graxos consiste num ciclo de 3 reações sucessivas, idênticas à parte final do ciclo de Krebs: desidrogenação, hidratação da ligação dupla formada e oxidação do álcool a uma cetona.

A liberação de moléculas de Acetil-CoA ocorre por ação da enzima denominada **tiolase**, restando um acil-CoA com menos dois carbonos que o acil-CoA original. Em uma quebra do (Acil-CoA)_n há liberação de um acetil-CoA pela β-oxidação restando (Acil- dando (Acil-CoA)_{n-2}, onde n corresponde ao número de carbonos.

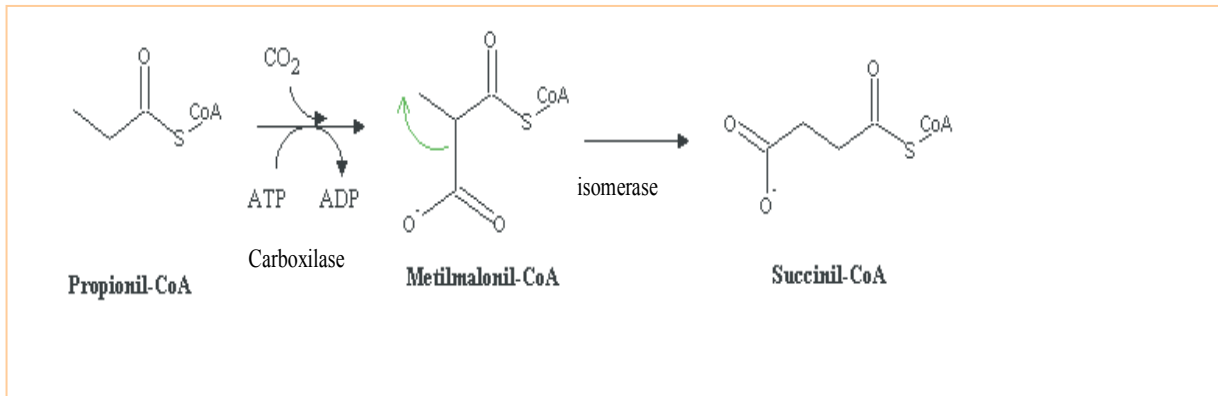


O ciclo de oxidação é repetido e há repetição da formação de **um FADH₂ e um NADH+H⁺ por cada liberação de uma molécula de Acetil-CoA**. Portanto, a repetição do ciclo permite a degradação total de uma molécula de ácido graxo de **cadeia par** liberando somente moléculas de Acetil-CoA. Essas moléculas de Acetil-CoA podem entrar no ciclo de Krebs, onde é perdida completamente no processo de descarboxilação na forma de CO₂. Nesse caso é impossível

utilizar esse Acetil-CoA para dar a volta no ciclo de Krebs até malato o qual sai da mitocôndria (neoglicogênese) para ser transformado em oxaloacetato citosólico e dar origem à glicose.

No processo da neoglicogênese só é aproveitada a unidade C_3 , restante da quebra dos ácidos graxos ímpares.

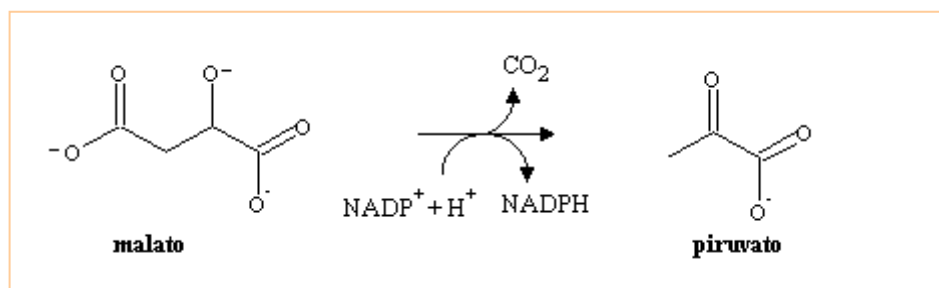
Em um ácido graxo de **cadeia ímpar na penúltima quebra é liberado uma Acetil-CoA e uma unidade com 5 carbonos**. Na última quebra a unidade com 5 carbonos (C_5) dá origem a uma molécula de Acetil-CoA(C_2) e uma de propionil-CoA (C_3). Para que o propionil-CoA possa ser utilizado pelo ciclo de Krebs, esse sofre uma **carboxilação**, dando o metilmalonil-CoA. O metilmalonil-CoA assim formado é então rearranjado a succinil-CoA, numa reação com a ajuda da vitamina B_{12} .



O succinil-CoA, além de ser um intermediário no ciclo de Krebs, é um precursor do grupo heme. Uma deficiência em vitamina B_{12} resulta por isso na dificuldade de sintetizar heme, o que pode provocar o desenvolvimento da **anemia perniciosa**: é uma doença resultante da dificuldade de sequestrar cobalamina em nível do estômago, característica de indivíduos predispostos em idade avançada.

O succinil-CoA é oxidado pelo ciclo de Krebs à malato, que depois de passar para o citoplasma é transformado em oxaloacetato e fosfoenolpiruvato pela neoglicogênese (ver neoglicogênese a partir do piruvato).

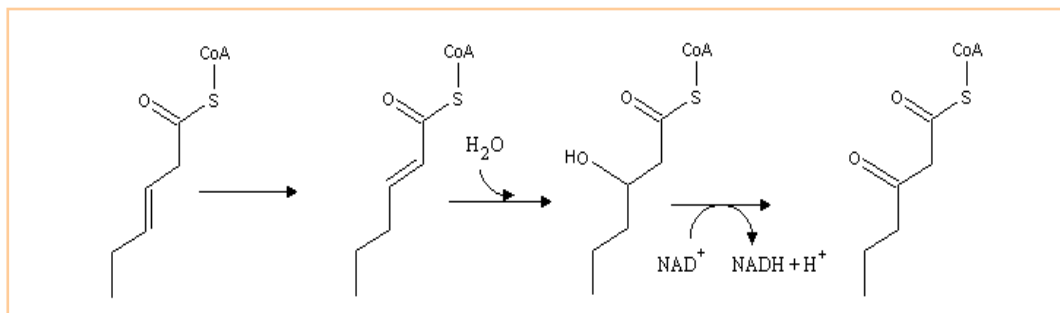
O oxaloacetato citosólico pode também ser descarboxilado à piruvato pela **enzima málica**, com produção simultânea de $NADPH$, molécula utilizada nas reações de biossíntese:



Dessa forma, o piruvato pode entrar na mitocôndria e ser completamente oxidado a CO_2 pelo ciclo de Krebs.

O ciclo de Krebs funciona para produzir energia e compostos de carbono. Contudo, se os intermediários forem removidos para uso em outras vias metabólicas, estes devem ser repostos. O processo de reposição é diferente quando da utilização de açúcares ou ácidos graxos.

A β -oxidação dos ácidos graxos insaturados seguem um percurso semelhante, porém novas enzimas são necessárias para a oxidação na proximidade da ligação insaturada. No caso desta ligação ser formada num carbono ímpar, é necessário a ação da Δ^3 , Δ^2 -enoil-CoA isomerase. Esta enzima transfere a ligação dupla do carbono 3 para o carbono 2, permitindo a continuação da β -oxidação. Neste ciclo de β -oxidação não se forma uma das moléculas de FADH₂.



No caso da ligação dupla se localizar num carbono par, é necessária a ação da 2,4-dienoil-CoA redutase: a presença das ligações duplas conjugadas faz com que a reação de hidratação tenha mais tendência a ocorrer no carbono 4 do que no carbono carreto (2). A 2,4-dienoil-CoA redutase transforma as ligações conjugadas Δ^4 , Δ^2 numa única ligação dupla Δ^3 . Os elétrons necessários para esta conversão provêm do NADPH. O processo continua seguidamente de forma análoga à oxidação de ácidos graxos insaturados em carbono ímpar.

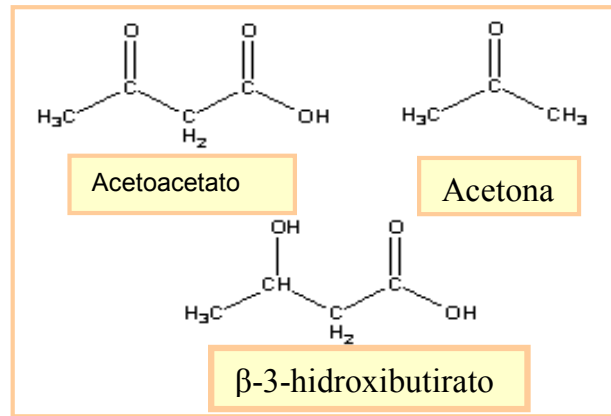
3. REGULAÇÃO DA β -OXIDAÇÃO

Controlar a entrada dos acil-CoA na mitocôndria é um fator crucial na regulação. O malonil-CoA, que se encontra presente no citoplasma em grande quantidade, em situações de abundância de combustíveis metabólicos, inibe a carnitina aciltransferase impedindo que os acil-CoA entrem na mitocôndria para serem degradados. Além disso, a 3-hidroxiacil-CoA desidrogenase é inibida por NADH e a tiolase é inibida por acetil-CoA, o que diminui a degradação de ácidos graxos quando a célula tem energia em abundância.

4. FORMAÇÃO DOS CORPOS CETÔNICOS

Quando a Acetil CoA entra no Ciclo de Krebs, deve se ligar ao oxaloacetato para formar o citrato e continuar na via mas, se a disponibilidade do oxaloacetato estiver baixa (como em estados de jejum ou diabetes) a Acetil CoA, que se torna em excesso pela alta atividade do processo da neoglicogênese, será convertida no fígado em acetoacetil-CoA; este, por sua vez poderá ser convertido em 3-hidroxi, 3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) e daí a acetoacetato, β -3-hidroxi butirato e acetona. Os corpos cetônicos são, portanto, três substâncias solúveis em água, produtos derivados da quebra dos ácidos graxos para fornecer energia no fígado e nos rins. São usados como fonte de energia no coração, e no cérebro são fonte vital de energia durante o jejum.

Os corpos cetônicos são componentes solúveis e são representados pelas 3 estruturas vistas a seguir:



O β-3-hidroxibutirato não é tecnicamente uma cetona (é chamado de corpo cetônico porque ele é derivado de cetonas), é na verdade um ácido carboxílico. <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e0/Ketonkroppar.png>

O primeiro passo para a formação dos corpos cetônicos é a formação de acetoacetil-CoA que pode ocorrer por dois processos: degradação incompleta de ácidos graxos ou pela reversão da reação da tiolase da oxidação dos ácidos graxos. Uma terceira molécula de Acetil-CoA pode combinar-se ao Acetoacetil-CoA para produzir 3-hidroxi, 3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA). Esta enzima, a HMG-CoA sintase, é a etapa limitante da velocidade na síntese de corpos cetônicos, e está presente em quantidade significativa somente no fígado. HMG-CoA é clivado para produzir acetoacetato e acetil-CoA. O acetoacetato pode ser reduzido para formar 3-hidroxibutirato com NADH como doador de hidrogênio, ou ser espontaneamente descarboxilado para formar acetona.

Embora o fígado produza constantemente baixos níveis de corpos cetônicos, sua produção torna-se muito mais significativa durante o jejum, quando os corpos cetônicos são necessários para fornecer energia para os tecidos periféricos. O fígado produz ativamente corpos cetônicos, mas não pode usá-los como combustíveis. Entretanto, os tecidos extrahepáticos, incluído o cérebro e excluindo as células sem mitocôndria (como as hemáceas), oxidam eficientemente o acetato e o 3-hidroxibutirato. O 3-hidroxibutirato é oxidado à acetoacetato pela 3-hidroxibutirato desidrogenase, produzindo NADH. O acetoacetato recebe uma molécula de coenzima A da succinil-CoA. Esta reação é reversível, mas o produto, acetoacetil-CoA, é removido ativamente por sua conversão em dois acetil-CoA. O fígado não possui succinil-CoA: acetoacetato-CoA transferase é incapaz de usar o acetoacetato como combustível.

Os corpos cetônicos, acetoacetato, 3-OH butirato e acetona são formados no fígado e transportados para outros tecidos, onde eles funcionam como moléculas combustíveis, sendo oxidado até acetil-CoA e depois entrando no Ciclo de Krebs. A superpopulação de corpos cetônicos nos diabetes não controlados por tratamento, ou durante o jejum severo, pode levar a cetose e à acidose (cetoacidose).

Essas moléculas têm por função levar unidades acetil para certos tecidos carentes de energia. Isso ocorre, por exemplo, no músculo e no córtex renal. Até o cérebro em estados de carência de glicose pode se adaptar ao uso dos chamados “corpos cetônicos”. Ao chegar ao tecido, esses são reconvertidos a Acetil CoA para entrar na via de geração de energia. Mas a via de degradação pode requerer outras etapas se o ácido graxo em questão apresentar dupla ligação ou número ímpar de carbonos.

Ácidos graxos insaturados (que possuem dupla ligação) necessitam de mais duas enzimas para serem degradados – uma isomerase e uma redutase. Se aqueles possuírem um número ímpar de carbonos irão formar no fim da oxidação (após a reação de tiólise) um propionil-CoA (ao invés de Acetil CoA); essa forma não irá participar do ciclo do ácido cítrico, portanto deve ser convertida em succinil CoA, em uma reação catalisada pela propionil CoA carboxilase.

Enquanto o ciclo de Krebs tem como função a produção de energia, o ciclo do glicoxilato não fornece energia, pois é realizado em falta de nutrientes e serve para formação de biomoléculas a partir de meio pobre onde o acetil-CoA pode ser formado, por exemplo, de acetoacetato do ambiente.

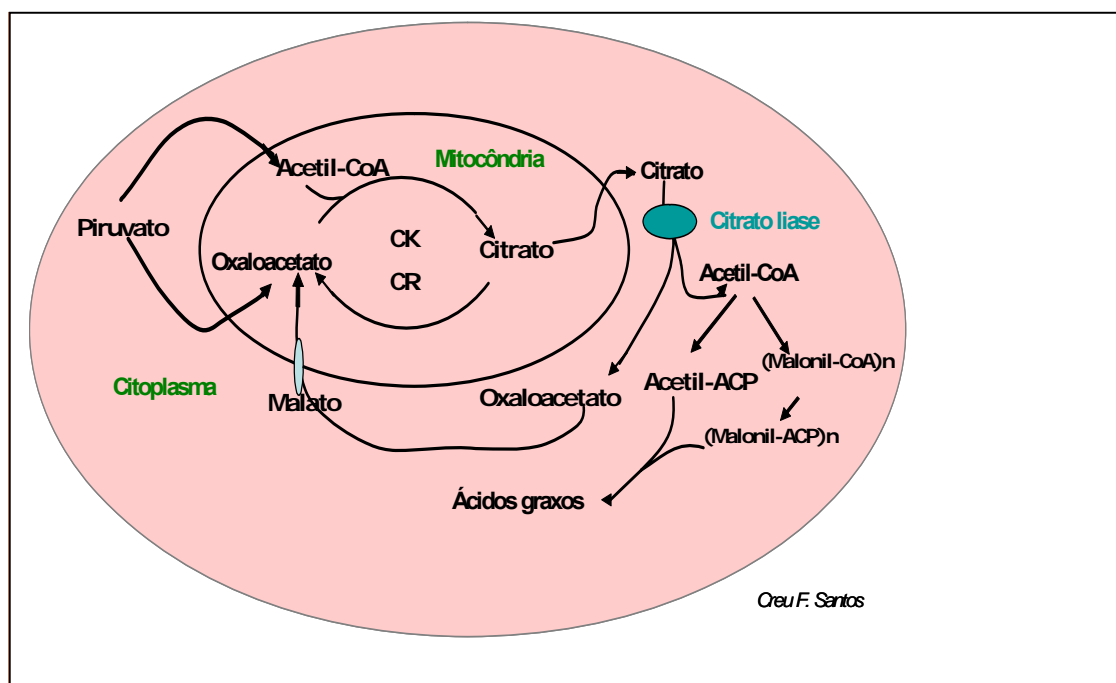
5. BIOSÍNTESE DE LIPÍDEOS

Em situações de abundância de acetil-CoA, o fígado e o tecido adiposo sintetizam ácidos graxos. O processo de síntese apresenta bastante semelhança com o inverso da β -oxidação, mas também tem diferenças importantes:

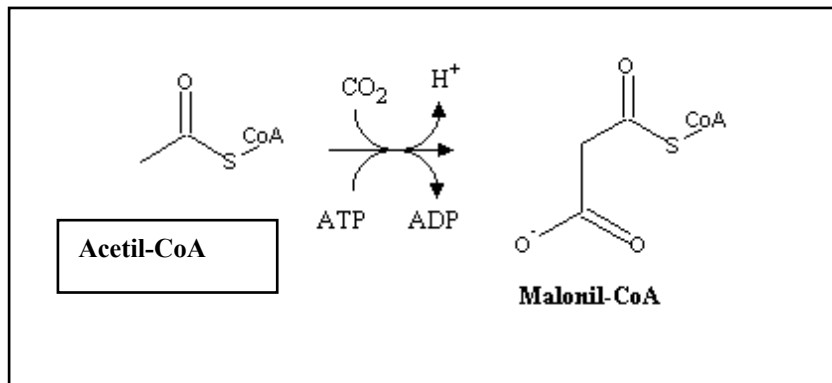
- Ocorre no citoplasma, e não na mitocôndria (β -oxidação);
- Usa NADPH como fonte de elétrons;
- O transportador de grupos acil é a ACP (Acyl Carrier Protein) e não a coenzima A.

A síntese de ácidos graxos é feita a partir de acetil-CoA. No entanto, o processo é endergônico, pelo qual o Acetil-CoA deve ser previamente ativado. A biossíntese de ácidos graxos ocorre no citosol e a degradação, no interior da mitocôndria. Portanto, o Acetil-CoA produzido na mitocôndria deve ser transportado para o citosol. O Acetil-CoA é formado na matriz mitocondrial e como a membrana mitocondrial é impermeável para essa molécula ela usa o artifício de saída na forma de citrato (Figura 41).

Figura 41 - Saída do acetil-CoA mitocondrial por meio do citrato, formação do Malonil-CoA, Acetil-ACP e Malonil-ACP



O processo da biossíntese se inicia com a carboxilação de Acetil CoA citosólico em malonil-CoA com a Acetil CoA carboxilase, enzima que possui a biotina como grupamento prostético. Esta etapa é irreversível e, portanto, é o ponto de regulação da biossíntese. A enzima marcapasso é a acetil-coA carboxilase.

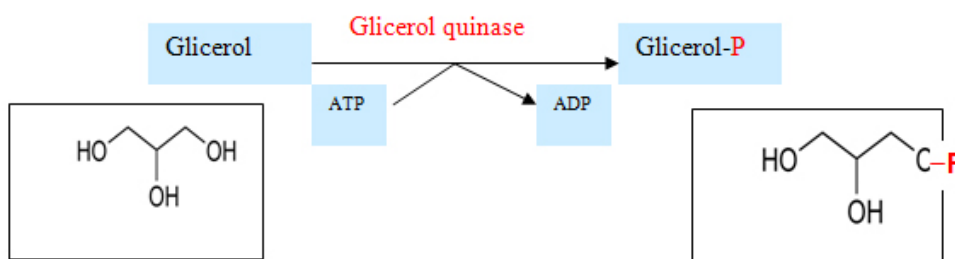


As moléculas de Acetil-CoA e malonil-CoA são transferidas para a proteína transportadora de Acil (ACP), dando a origem a Acetil-ACP e malonil-ACP. O alongamento da cadeia se inicia pela condensação dessas duas moléculas. Daí por diante, há adição consecutiva de moléculas de malonil-CoA para o alongamento da cadeia do ácido graxo (**Figura 40**). De uma condensação entre o acetil ACP e malonil-ACP é formado acetoacetil-ACP. Este, é reduzido à β-3-hidroxiβutiril-ACP, que por sua vez será desidratado a crotonil-ACP para gerar a butiril-ACP por redução. A butiril-ACP formada está pronta para uma segunda volta de alongamento (pois está sendo sintetizada uma cadeia de ácido graxo). Sete voltas de alongamento produzem o palmitoil-ACP, o qual é hidrolisado, liberando o palmitato.

6. BIOSÍNTESE DOS TRIACILGLICERÓIS E DOS FOSFOLIPÍDEOS

Para biossíntese do triacilglicerol, é necessário a fotofosforilação do glicerol em glicerolfosfato para receber os três Acil-CoA (**Figura 42**).

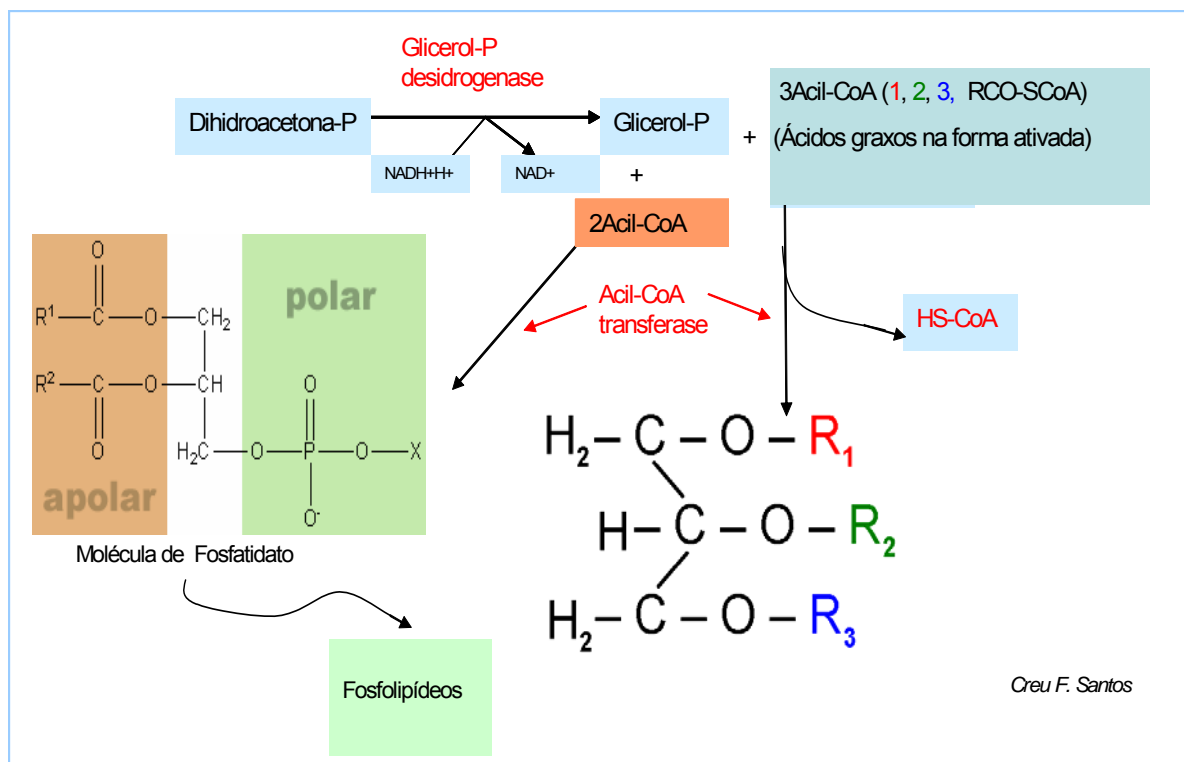
Figura 42. Processo de fosforilação do glicerol em glicero-P.



No tecido adiposo, a síntese de triglicerídeos não ocorre por meio da enzima glicerolquinase que não existe neste tecido. O glicerol fosfato é obtido através da redução da dihidroxiacetonafosfato originada da via glicolítica ou via das pentoses e daí a síntese de triacilglicerol. Esses ácidos graxos também reagem para formar outras moléculas lipídicas.

A molécula de Fosfatidato é originada do Glicerol-P e está envolvida na biossíntese dos fosfolipídeos (**Figura 43**).

Figura 43-Formação do triacilglicerol e dos fosfolipídeos.



7. REGULAÇÃO DA BIOSÍNTESE DOS ÁCIDOS GRAXOS

É feita através de controle hormonal, no ponto de atuação da enzima acetil-CoA carboxilase. Essa etapa é estimulada pela insulina e inibida pelo glucagon e epinefrina. Esses efeitos hormonais são exercidos por alterações nas quantidades da forma ativa (desfosforilada) e da inativa (fosforilada) da enzima. O citrato exerce um estímulo alostérico sobre a enzima acetil CoA carboxilase quando presente em alta concentração.

O glucagon e a epinefrina estimulam a lipase apenas na degradação das triglicérides; a insulina inibe a lipólise. Quando há alta de ATP, o malonil-CoA, produto da etapa reguladora, está em altas concentrações. As altas taxas de malonil-CoA inibem a carnitina-acil-transferase, fazendo com que os ácidos graxos não passem para a matriz mitocondrial, pois não há necessidade de degradar ácidos graxos em estados de saciedade. Os ácidos graxos formados se combinam por esterificação com o glicerol com a finalidade de se produzir triglicérides armazenáveis.

A síntese de glicerolfosfato no tecido hepático, forma ativada para receber os três ácidos graxos na forma Acil-CoA, ocorre por meio da enzima glicerolquinase que é abundante neste tecido. As vias ativadas para a produção de gordura são: via glicolítica, via das pentoses, via síntese de ácido graxo, via síntese de triglicérides e glicogênese.

Exercícios

1. Quais os lipídios mais importantes na dieta e o que representam na forma de armazenamento de todo o excesso de nutrientes?
2. Na oxidação de ácidos graxos, uma alta quantidade de acetil-CoA é formada. Como é aumentada a concentração de oxaloacetato para suprir a demanda aumentada? Que são reações anapleróticas?
3. Em qual compartimento celular, ocorre a oxidação de ácidos graxos?
4. Quantas ligações ricas em energia são gastas para a etapa de ativação do ácido graxo no início do processo de degradação?
5. Quando há 2 ligações duplas no ácido graxo, quantos ATPs a menos são produzidos na β -oxidação?
7. Qual a função dos corpos cetônicos?

Discussão

- a. Sobre parte comum entre as vias de síntese de colesterol e a de corpos cetônicos.
- b. Onde ocorre a síntese de ácidos graxos? Como o NADH alto controla o encaminhamento dos carbonos provenientes de degradação de carboidratos em excesso para a síntese de ácido graxo?
- c. Diferencial entre o controle do ciclo de Krebs e da biossíntese de ácidos graxos.

UNIDADE 10

INFORMAÇÕES IMPORTANTES

O cérebro utiliza normalmente apenas glicose como fonte de energia. Armazena muito pouco glicogênio, pelo que necessita de um fornecimento constante de glicose. Em jejuns prolongados, adapta-se à utilização de corpos cetônicos. É sempre incapaz de utilizar ácidos gordos.

Uma das principais funções do fígado é manter o nível de glicose no sangue, através da gliconeogênese e da síntese e degradação do glicogênio. Realiza a síntese de corpos cetônicos em situações de abundância de acetil-CoA. É responsável também pela síntese da uréia.

O rim pode realizar a gliconeogênese e libertar glicose para a corrente sanguínea. Responsável pela excreção de eletrólitos, uréia, etc. A síntese de uréia, que ocorre no fígado, usa HCO_3^- , o que contribui para a descida do pH sanguíneo. Situações de acidose metabólica poderão, portanto, ser agravadas pela ação do ciclo da uréia. Nestas circunstâncias, o azoto é eliminado pela ação conjunta do fígado e do rim: o excesso de azoto é primeiro incorporado em glutamina pela glutamina sintase. A *glutaminase* renal cliva então a glutamina em glutamato e NH_3 , que excreta imediatamente. Este processo permite a excreção de grupos nitrogenados.

O músculo utiliza glucose, ácidos graxos, corpos cetônicos e aminoácidos como fonte de energia. Possui uma reserva de creatina fosfatada, um composto capaz de fosforilar ADP em ATP e assim produzir energia sem gasto de glucose. A quantidade de creatina presente no músculo é suficiente para cerca de 3-4 hs de atividade. Após este período, realiza a glicólise, primeiro em condições anaeróbicas (por ser bastante mais rápida do que o ciclo de Krebs) e posteriormente em condições aeróbicas (quando o aumento da acidez do meio diminui a atividade da fosfofrutoquinase e o ritmo da glicólise). O tecido adiposo sintetiza ácidos graxos e armazena-os sob a forma de triacilgliceróis. Por ação do glucagon, hidrolisa triacilgliceróis em glicerol e ácidos graxos, que os liberta para a corrente sanguínea em lipoproteínas.

REFERÊNCIAS

- LEHNINGER, A., NELSON, D., COX, 2006. M.M. **Princípios de Bioquímica**. 4ª ed., São Paulo, Servier, 1191p,
- LEHNINGER, A., NELSON, D., COX, M.M, 2004, **Princípios de Bioquímica**. 4ª ed., São Paulo, Servier.
- LEHNINGER, A., NELSON, D., COX, M.M, 2000,. **Princípios de Bioquímica**. 3ª ed., São Paulo, Servier, 847p.
- LEHNINGER, A., NELSON, D., COX, M.M, 1998, **Princípios de Bioquímica**. 2ª ed., São Paulo, Servier, 838p
- VOET, DONALD; VOET, JUDITH; PRATT, CHARLOTTE, 2006, **Fundamentos de Bioquímica**, Porto Alegre, ARTEMED, 931p.
- VOET, DONALD; VOET, JUDITH; PRATT, CHARLOTTE, 2003, **Fundamentos de Bioquímica**, Porto Alegre, ARTEMED, 931p.
- VOET, DONALD; VOET, JUDITH; PRATT, CHARLOTTE, 2000, **Fundamentos de Bioquímica**, Porto Alegre, ARTEMED, 931p.
- VOET, DONALD; VOET, JUDITH, 1995,. **Biochemistre**, 2ª ed., New York: John Wily & Sons, 1360p.
- STRYER, LUMBERT, 2006, **Bioquímica**, 6ª ed., Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan , 1253p
- TRYER, LUMBERT, 2003, **Bioquímica**, 5ª ed., Rio de Janeiro Editora Guanabara Koogan, 1198p
- STRYER, LUMBERT, 1996,. **Bioquímica**, 4ª ed., Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, 1000p.
- CAMPBELL, M. K., 2006, **Bioquímica**, 4a ed, São Paulo, Editora ARTEMED, 732p.
- CAMPBELL, M. K., 2000, **Bioquímica**, 3a ed, São Paulo, Editora ARTEMED,732p



Homenagem ao Pólo de Apoio Presencial de Pombal, Paraíba.