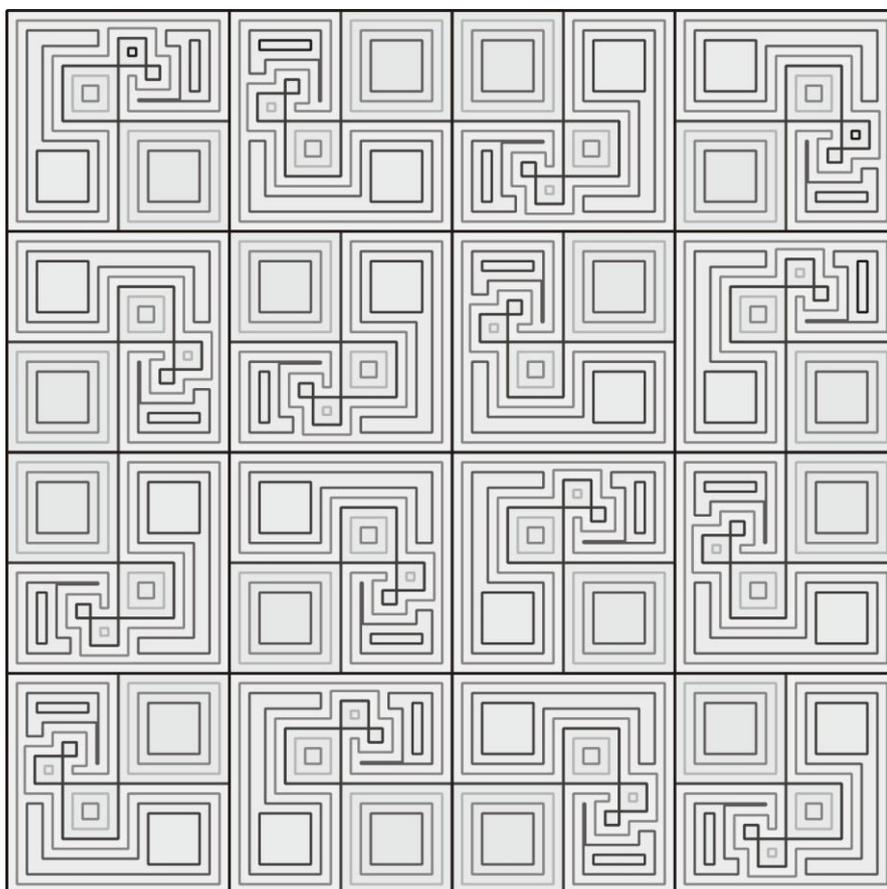


BIOQUÍMICA:

Estrutura de Biomoléculas e Metabolismo

QBQ 0215



Departamento de Bioquímica
IQUSP – 2020

BIOQUÍMICA: Estrutura de Biomoléculas e Metabolismo

QBQ 0215

Departamento de Bioquímica, Instituto de Química – USP

Docentes

Iolanda Midea Cuccovia

Luciana Helena de Souza Fraga Machado

Monitor

Paulo Enrique Cuevas Mestanza

PROGRAMA

1. Estrutura e Comportamento Ácido-básico de Aminoácidos
2. Estrutura de Proteínas
3. Hemoglobina e Tamponamento do Plasma
4. Enzimas
5. O Sentido das Reações
6. Metabolismo
 - 6.1 Glicólise e Gliconeogênese
 - 6.2 Ciclo de Krebs
 - 6.3 Lipídios e Membranas
 - 6.4 Oxidação de Triacilgliceróis
 - 6.5 Corpos cetônicos – Etanol
 - 6.6 Cadeia de Transporte de Elétrons e Fosforilação Oxidativa
 - 6.7 Via das Pentoses Fosfato
 - 6.8 Transdução de Sinal
 - 6.9 Glicogênio
 - 6.10 Síntese de Lipídios
 - 6.11 Aminoácidos
 - 6.12 Problemas de Metabolismo

BIBLIOGRAFIA

- Bioquímica Básica** - A. Marzzoco & B.B. Torres - Ed. Guanabara Koogan – 4ª ed. - 2015.
Princípios de Bioquímica - A.L. Lehninger, D.L. Nelson & M.M. Cox - 6ª ed. - Artmed - 2014.
Bioquímica - J.M. Berg, J.L. Tymoczko & L. Stryer – Guanabara Koogan – 7ª ed. - 2014.
Bioquímica – D. Voet & J.G. Voet – 3ª ed. - Artmed - 2006.
Manual de Bioquímica com correlações clínicas - T.M. Devlin – 7ª ed. Blucher - 2011.

SOFTWARES

Biblioteca Digital de Ciências: <http://www.bdc.ib.unicamp.br>

Mapas Metabólicos - IUBMB.org - <http://www.iubmb-nicholson.org/>

ESTRUTURA DA DISCIPLINA

A estratégia metodológica da disciplina não contempla aulas expositivas. O ensino/aprendizagem é conduzido por Períodos de Estudo e Grupos de Discussão.

PERÍODOS DE ESTUDO (PE)

O estudo é guiado por um roteiro que é uma orientação para o estudo. Nos PEs, os alunos devem reunir-se em grupos de cinco, estudar e discutir os objetivos propostos no roteiro, utilizando livros ou outros materiais. Os docentes e monitores estarão presentes para tirar dúvidas e auxiliar na discussão. O grupo deve chegar a um consenso sobre os itens do roteiro e estar preparado para discuti-los na atividade seguinte. Após o intervalo da aula, as questões do PE serão respondidas com a ajuda dos Professores e monitores.

GRUPOS DE DISCUSSÃO (GD)

Os grupos de discussão são formados por 25-30 alunos. As discussões são conduzidas por questões e finalizadas quando todos se sintam satisfeitos com as respostas encontradas e suas justificativas. Os docentes guiarão a discussão e os alunos devem vir preparados, já tendo lido o conteúdo e discutido os pontos do PE. Os alunos devem participar ativamente do GD, para que a atividade seja produtiva e seja concluída satisfatoriamente no tempo alocado. É responsabilidade de cada um não permitir que o grupo avance na discussão enquanto houver dúvida sobre o item discutido. Ao final da discussão, todos devem saber tudo.

Desenvolver a habilidade de trabalhar em grupo, expondo suas ideias e ouvindo os colegas, argumentando e concluindo, é um dos objetivos da disciplina. É de extrema importância, não só no aprendizado, mas também na vida profissional.

AVALIAÇÃO: A nota final será dada por:

1. Três *Provas* (P1, P2 e P3), compostas de 4 a 6 questões, com pesos 1, 1 e 2, respectivamente, cuja média ponderal comporá 100 % da nota final na disciplina. Horário das provas: 14h – 18h.

As questões de provas não exigirão memorização. Fórmulas e dados necessários à sua resolução serão fornecidos. Durante as provas serão permitidas consultas a livros, apontamentos e internet. Não será permitida consulta aos colegas. Durante as provas não serão respondidas perguntas.

$$\text{Nota Final} = (P1 + P2 + (P3 \times 2))/4$$

A nota mínima para aprovação é 5, valor determinado pela USP. Não será feito qualquer tipo de ajuste na nota final.

$$\text{Nota da Recuperação} = \frac{\text{Nota da disciplina regular} + \text{Nota da prova de recuperação (x2)}}{3}$$

3

PERÍODOS DE ESTUDO (PE)

1. A permanência na sala de aula é facultativa e deve ser utilizada para atividades relacionadas com o estudo.
2. A discussão entre os alunos dos grupos é imprescindível e faz parte da estratégia adotada na disciplina.

GRUPOS DE DISCUSSÃO (GD)

1. As discussões terão início na hora marcada e serão interrompidas para um intervalo das 16h às 16:30h.
2. A consulta aos livros deve limitar-se à leitura dos problemas a serem discutidos. Em casos especiais, por indicação dos docentes, deverão ser consultados textos, gráficos ou tabelas.

CALENDÁRIO

Agosto	18	Apresentação do Curso – PE- Estrutura de aminoácidos – Itens 1 a 6.
	19	PE – Estrutura de Aminoácidos – Objetivo 7: Software Eletroforese.
	20	GD – Estrutura de Aminoácidos – Itens 1 a 6.
	25	PE – Estrutura de Proteínas – Introdução e Objetivos 1 a 6.
	26	PE – Estrutura de Proteínas – Objetivos 7 a 12. Software Proteínas
	27	GD – Estrutura de Proteínas – Itens 1 a 3.
Setembro	01	PE – Hemoglobina – Objetivos 1 a 9.
	02	GD – Hemoglobina – Itens 1 a 4.
	03	PE – Enzimas – Introdução e Objetivos 1 a 12. Software cinética enzimática.
	08	PE – Enzimas – Objetivos 13 a 23.
	09	GD – Enzimas – Itens 1 a 3.
	10	GD – Enzimas – Itens 4.
	15	GD – Enzimas – Item 5 e 6.
	16	PE e GD – O sentido das reações
	17	Prova 1 – Peso 1
	22	PE e GD- Introdução ao metabolismo - Parte A
	23	PE e GD- Introdução ao metabolismo – Partes B e C. Correção da Prova 1.
	24	PE – Glicólise e Gliconeogênese - Estrutura de Carboidratos: Itens 1 a 4. PE e GD – Glicólise: 1 a 13. GD de glicólise itens 1 a 13.
	29	PE – Gliconeogênese - Objetivos 1 a 11. Formação de Acetil-CoA 1 e 2.
30	GD - Gliconeogênese – Itens 1 a 4.	
Outubro	01	PE - Ciclo de Krebs - Objetivos 1 a 9 + GD Ciclo de Krebs - Itens 1 e 2.
	06	PE – Lipídios e Membranas – Objetivos 1 a 9. PE – Oxidação de Triacilgliceróis – Objetivos 1 a 10.
	07	PE – Corpos cetônicos e Etanol – Objetivos 1 a 8.
	08	GD – Oxidação de Triacilgliceróis, Corpos Cetônicos e Etanol – Itens 1 a 3.
	13	PE – Cadeia de transporte de elétrons e fosforilação oxidativa – Objetivos de 1 a 5.
	14	PE - Cadeia de transporte de elétrons e fosforilação oxidativa – Objetivos de 6 a 16.
	15	GD - Cadeia de transporte de elétrons - Itens 1 a 3.
	20	PE - Cadeia de transporte de elétrons e fosforilação oxidativa – Objetivos 17 a 23.
	21	GD - Cadeia de transporte de elétrons – Itens 4 e 5.
	22	PE – Via das pentoses – Objetivos 1 a 7. GD - Via das pentoses – Item 1.
	27	Prova 2 – Peso 1
	28	Feriado
	29	PE Transdução de sinal – Itens 1 a 11. Correção da Prova 2.
Novembro	03	PE Glicogênio – Objetivos 1 a 10.
	04	PE Glicogênio – Objetivos 11 a 17.
	05	GD Glicogênio – Itens 1 e 2.

	10	PE Glicogênio – Objetivos 18 a 24.
	11	GD Glicogênio – Item 3.
	12	PE Síntese de lipídios Objetivos 1 a 7.
	17	PE Síntese de lipídios Objetivos 8 a 14.
	18	GD Síntese de lipídios – Item 1.
	19	PE Metabolismo de aminoácidos – Objetivos 1 a 12.
	24	GD Metabolismo de aminoácidos – Itens 1 a 5.
	25	PE Nutrição – Capítulo 18
	26	PE Diabetes e regulação do metabolismo
Dezembro	01	GD Problemas de metabolismo
	02	GD Problemas de metabolismo
	03	Resolução de dúvidas
	08	Prova 3 - Peso 2
	09	Correção de Prova
	10	
	15	
	16	
	17	
Março	4	Recuperação

1. ESTRUTURA E PROPRIEDADES DE AMINOÁCIDOS

INTRODUÇÃO

A uma solução de um aminoácido com pH próximo de 2 foi adicionada gradativamente uma solução de álcali. Em um gráfico com os dados do experimento, com valores de pH em ordenadas e volume de álcali adicionado em abscissas, observou-se que a elevação de pH ao longo da adição não foi constante, havendo três etapas com variação lenta de pH. O aminoácido titulado é um aminoácido básico, ácido, apolar ou polar sem carga?

OBJETIVOS PARA ESTUDO

Livro Bioquímica Básica- Anita Marzzoco e Bayardo Baptista Torres

Ler as pag. Indicadas abaixo antes de começar a responder as questões de 1 a 6:

Capítulo 1-Sistema Tampão: Pag. 3 a 9; Capítulo 2- Aminoácidos e Proteínas: pag. 11 a 16.

1. O que caracteriza estruturalmente um aminoácido que faz parte de proteínas?
 - 1a. Verificar os grupos funcionais presentes nestes aminoácidos.
 - 1b. Verificar se ornitina e citrulina (fórmulas à p. 221) são aminoácidos, se são α -aminoácidos e se fazem parte de proteínas.
2. Verificar quantos representantes tem cada um dos seguintes grupos de aminoácidos: básicos, polares sem carga, apolares e ácidos.
3. Definir pKa. Calcular a razão das concentrações das espécies protonada e desprotonada de um ácido fraco em pH uma unidade maior e uma unidade menor do que o valor do pKa.
4. Definir ponto isoelétrico (pI) de um aminoácido.
5. Fazer um esquema da variação de pH em função da adição de álcali a uma solução de glicina, de pH = 1 até pH = 13. Escrever as formas iônicas predominantes da glicina e suas cargas líquidas em pH 1; pH 2,35; pH 7,0; pH 9,78 e pH 12. Calcular o ponto isoelétrico (pI) da glicina.
6. Verificar se as afirmações a seguir são verdadeiras ou falsas.
 - 6a. Somente em valores de pH muito altos ou muito baixos a forma não ionizada de um aminoácido pode predominar.
 - 6b. Em pH maior que o pKa de um grupo ionizável, mais da metade do total destes grupos estará dissociada
7. Software *Eletroforese*: <http://www.iq.usp.br/bayardo/softwareseletroforese/simulador.html>

Parte I. Comportamento de ácidos fracos

A. Selecione na lista de compostos o Ácido p-nitro-fenil-propanoico, fixe o pH em 4,48 e faça a simulação da eletroforese. Para a finalidade deste software, o ácido pode ser representado por R-COOH.

1. Qual foi o resultado obtido na eletroforese? Qual foi a velocidade de migração?
2. Qual é a proporção das espécies presentes no início e no final da simulação?
3. Na representação microscópica, observe apenas um ponto. Este ponto, que representa uma molécula, mantém sempre a mesma carga? Por que as espécies mudam seu estado de ionização mesmo sem a aplicação de voltagem?
4. Todas as moléculas do sistema movimentam-se na eletroforese?

5. A proporção das espécies do sistema será mudada se houver alteração do pH do meio. Verdadeiro ou Falso?
6. A resposta à questão anterior tem confirmação pela Equação de Henderson-Hasselbalch?

B. Reinicie o experimento e interrompa-o quando a mancha estiver aproximadamente na metade do caminho.

7. Uma vez que a corrida foi interrompida, é possível retomá-la? Qual é a velocidade em relação ao início do experimento?
8. Houve mudança no comportamento microscópico e macroscópico da amostra na situação atual em relação ao experimento anterior?
9. Qual a proporção de espécies no pH em que foi realizado o experimento? Escreva as estruturas dessas espécies.
10. Por que aparece apenas uma mancha na eletroforese se há duas espécies diferentes, uma com carga elétrica e outra sem carga?
11. É possível separar as duas espécies?

C. Altere o pH do meio para 5,48 e faça a simulação da eletroforese.

12. Qual foi o resultado obtido na eletroforese? Qual foi a velocidade de migração? Compare essa velocidade com a da eletroforese realizada em pH 4,48.
13. Qual é a proporção das espécies presentes no meio no início e no final da simulação? Qual a relação entre as proporções das espécies no pH 4,48 e no pH 5,48 com as velocidades observadas nos dois casos?
14. Verifique as proporções das espécies do sistema em pH 2,48; 3,48; 4,48; 5,48 e 6,48.
15. Que previsão pode ser feita quanto à velocidade de migração em pH 6,48; 8,48 e 10,48?
16. Qual a relação entre a velocidade de migração da amostra e os valores de pH?
17. Em qual(quais) valores de pH o sistema se encontra em equilíbrio?

Parte II. Comportamento de aminoácidos com cadeia lateral não ionizável

A. Na lista de aminoácidos, escolha a Glicina (Gly), ajuste o pH do meio para 2,35 e faça a simulação da eletroforese.

1. Qual foi o resultado obtido na eletroforese? Em direção a que polo a amostra migrou? Qual foi a velocidade de migração?
2. Qual é a proporção das espécies presentes no meio no início e no final da simulação? Escreva as estruturas dessas espécies.
3. Existe algum valor de pH no qual predomine uma espécie sem nenhuma carga?
4. Na representação microscópica, observe apenas um ponto. Este ponto, que representa uma molécula, mantém sempre a mesma carga?

B. Ajuste o pH para 9,78 e faça a simulação da eletroforese.

5. Qual a diferença entre o resultado deste experimento e o do experimento anterior?

C. Repita o experimento em uma faixa de pH com variação de uma unidade de pH.

6. Há algum valor de pH em que não haja nenhuma carga nas espécies?

D. Faça experimentos com o objetivo de determinar um valor de pH no qual não há nenhuma migração.

7. Qual foi o valor encontrado? É possível encontrar esse valor teoricamente?

E. Prepare agora um sistema com a Alanina (Ala), e repita os passos 1, 3, 5 e 6

8. Houve diferenças no comportamento dos sistemas? Quais?

F. Prepare agora um sistema com Alanina (Ala) e Glicina (Gly) e repita os passos 1, 3, 5 e 6.

9. Qual foi o resultado?

G. Prepare novamente o sistema anterior e adicione Glutamato (Glu) à amostra. Repita os passos 1, 3, 5 e 6.

10. O que foi observado agora? Que hipótese pode explicar os resultados observados?

Parte III. Comportamento de aminoácidos com cadeia lateral ionizável

A. Prepare um experimento com o Glutamato (Glu) em pH=2,1

1. Repita os passos da Parte II de A1 até A4.
2. Por que o pI é tão baixo?

B. Prepare um experimento com a Arginina (Arg) em pH=10,74

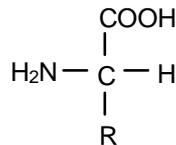
1. Repita os passos da Parte II de A1 até A4.
2. Por que o pI é tão alto?
3. Por que há um pI entre pK_a e pK_R e não na média global dos pK_as, tanto para Glu como para Arg?

C. Prepare um experimento com glicina Gly, glutamato, Glu, e arginina, Arg em pH 2.1; depois em pH 7,0 e em pH 12.

1. Repita os passos da Parte II de A1 até A4. Descreva o resultado.

QUESTÕES PARA DISCUSSÃO

1. A estrutura abaixo aparece em muitos textos como fórmula geral de aminoácidos. Em que valores de pH ela representa a forma predominante?

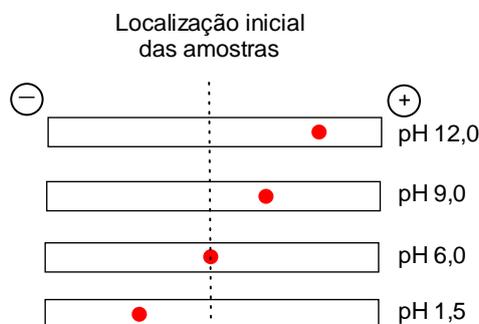


2. Fazer um esquema da variação de pH em função da adição de álcali a uma solução de serina, de pH = 1 até pH = 13.

3. Escrever as formas iônicas predominantes do ácido glutâmico em

- 3a. pH = 1 3b. pH = 4,07 3c. pH = 7 3d. pH = 12. Calcular o pI.

4. Quatro amostras da solução de um aminoácido foram submetidas à eletroforese em diferentes valores de pH, com a mesma voltagem e durante o mesmo tempo. O esquema seguinte mostra a localização do aminoácido no início e ao final da eletroforese nos diferentes valores de pH.



4a. O aminoácido utilizado foi alanina, aspartato ou lisina?

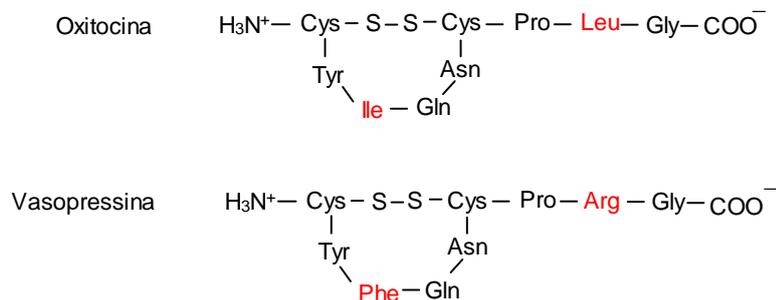
4b. Fazer um esquema do resultado que seria obtido se o experimento houvesse sido feito com os outros dois aminoácidos.

- 4c. Misturar os aminoácidos Ala, Asp e Lys e fazer a eletroforese da mistura em valores de pH iguais a 1,5; 6,0; 9,0 e 12,0. Mostrar a localização dos aminoácidos na fita.
5. Esquematizar o resultado da eletroforese de uma solução de glicina ($pK_1 = 2,35$ e $pK_2 = 9,78$) feita em pH 9,78 e da eletroforese do mesmo aminoácido feita em pH 11,78.
6. Questão da Introdução.

2. ESTRUTURA DE PROTEÍNAS

INTRODUÇÃO

A. Oxitocina e vasopressina, dois peptídios com função hormonal, estão representados a seguir.



A tabela seguinte mostra as atividades relativas dos dois peptídios quanto à lactação e à antidiurese. Mostra também a atividade relativa de peptídios sintéticos, que diferem da oxitocina por substituição da leucina por outros aminoácidos. O tratamento dos peptídios com agentes redutores acarreta sua inativação.

	Oxitocina	Vasopressina	"Oxitocina" com Leu substituída por			
			Ile	Val	Arg	Lys
Lactação	100	-	80	70	46	40
Antidiurese	-	100	-	-	56	6

Listar os conhecimentos necessários para interpretar os dados da tabela.

B. Muitos praticantes de atividade física utilizam dois "suplementos alimentares", *whey protein* (proteína do soro do leite) e BCAA (sigla em inglês de aminoácidos de cadeia ramificada), com o intuito de ganhar massa muscular. Qual é sua opinião sobre esta prática?



OBJETIVOS PARA ESTUDO

Capítulo 2: ler páginas 16 a 31 e depois leia o texto desta apostila (páginas 10 a 12).

1. Os aminoácidos componentes de um tripeptídio têm, quando isolados, um total de oito grupos ionizáveis. Quantos grupos ionizáveis tem o tripeptídio?

2. A cadeia polipeptídica de uma proteína é sempre linear ou pode apresentar ramificações? Duas proteínas diferentes podem ter a mesma estrutura primária?
3. As estruturas regulares secundárias das proteínas globulares – alfa hélice e conformação beta – seriam mantidas em temperaturas incompatíveis com a formação de ligações de hidrogênio?
4. Indicar as interações que mantêm a estrutura terciária das proteínas globulares e dar exemplos de aminoácidos que delas participam.
5. Explicar porque são encontrados quatro grupos α -amino na hemoglobina e apenas um grupo α -amino na mioglobina.
6. Definir *domínio*, quando o termo é aplicado à estrutura de proteínas, estudando o **texto seguinte**:

Propriedades gerais de α -hélices, folhas β -pregueadas e alças.

Diferentes cadeias laterais de aminoácidos têm tendências diferentes em formar α -hélice. Ala, Glu, Leu e Met são bons formadores de α -hélices, enquanto Pro, Gly, Tyr e Ser são maus formadores dessas estruturas.

α -hélices localizam-se preferencialmente na superfície da proteína, com um lado da hélice voltado para a solução e outro para o interior da proteína. α -hélices que cruzam membranas estão em ambientes hidrofóbicos e a maioria das cadeias laterais dos aminoácidos são hidrofóbicas. Pode-se prever com alto grau de segurança que longas regiões com resíduos hidrofóbicos em uma proteína de membrana formam uma hélice que atravessa a membrana.

Na Figura 1 vemos diferentes maneiras das proteínas associarem-se a membranas plasmáticas, algumas através de α -hélice hidrofóbica.

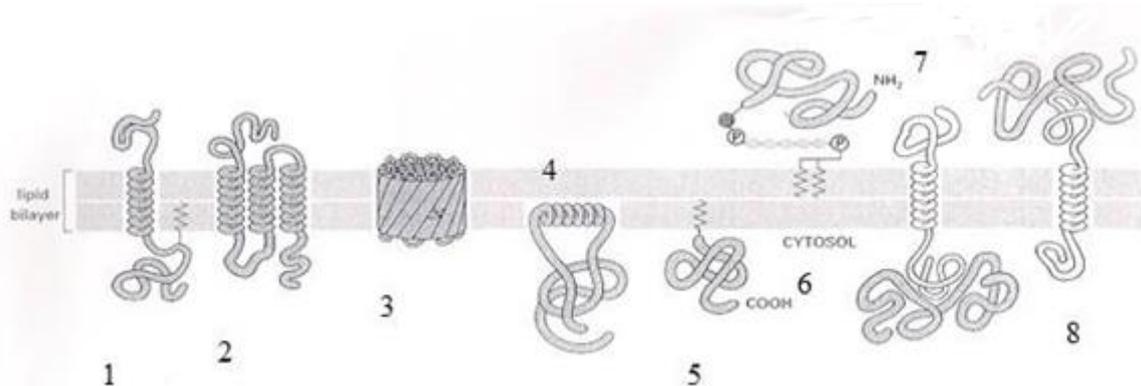


Figura 1 – Vários modos pelos quais as proteínas de membrana associam-se à dupla camada lipídica. Detalhes no texto. As proteínas transmembranares atravessam a dupla camada lipídica como uma única (1) ou múltiplas (2) α -hélices ou ainda como um β -barril (3). As outras proteínas integrantes estão expostas apenas de um lado da membrana, podendo ancorar-se por uma hélice anfipática (4), cadeia de ácido graxo (5) ou via uma cadeia de carboidratos ligada a fosfatidilinositol (âncora glicosil-fosfatidilinositol, ou âncora GPI) (6). Outras proteínas podem se associar a proteínas integrais de membrana (7 e 8). Reproduzido de Alberts et al. (2002).

Cadeias β normalmente têm de 5 a 10 resíduos de aminoácidos no seu comprimento. Elas podem formar folhas β -pregueadas *paralelas*, em que ambas as cadeias vão da região do terminal amino para o terminal carboxila. Alternativamente, as cadeias formam folhas *antiparalelas*, com uma delas orientada do terminal amino para a carboxila e a outra, do carboxila para o amino.

As alças normalmente estão na superfície das proteínas e conectam porções com estrutura secundária (trechos da cadeia em α -hélice ou em folha β) ou domínios (ver adiante). Elas estão expostas ao solvente, sendo ricas em aminoácidos hidrofílicos.

As alças frequentemente participam na formação de sítios de ligação de compostos (por exemplo, o sítio de ligação do antígeno no anticorpo) e de sítios ativos de enzimas. Quando sequências de proteínas homólogas são comparadas, encontram-se inversões (troca de um aminoácido por outro) ou deleções (ausência de um aminoácido na sequência) quase exclusivamente nas alças. O interior da proteína é muito mais estável. Ao contrário do que se poderia supor, conhecendo-se a sequência de aminoácidos, é mais fácil prever regiões de alças do que regiões em α -hélice ou folha β -pregueada. Quando as alças são longas elas são flexíveis e podem adotar diferentes conformações.

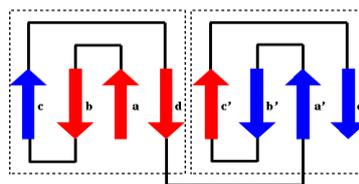
Motivos e domínios

O número de dobramentos possíveis para as proteínas globulares parecia ilimitado. Entretanto, a comparação de várias proteínas com estrutura conhecida mostrou que poucos dobramentos de proteínas são muito peculiares e que várias proteínas não relacionadas podem ter o mesmo dobramento.

Motivos

Motivos são combinações simples de poucos elementos com estrutura secundária (α -hélice e folha β -pregueada), em um arranjo geométrico específico. Eles ocorrem repetidamente como componentes de proteínas globulares, combinam-se de várias maneiras e dão a estrutura terciária de um domínio (porções da cadeia polipeptídica). Alguns motivos têm função específica (tal como ligar DNA), outros não têm função biológica sozinhos, mas são parte de conjuntos maiores e funcionais.

A seguir vemos exemplos de alguns tipos de motivos:



Motivo denominado *chave grega*

Domínios

Proteínas com cerca de 200 aminoácidos ou mais frequentemente se dobram formando dois ou mais domínios, que podem ser funcional e estruturalmente diferentes. Cada domínio tem características iguais às de uma proteína globular. Os domínios são ligados entre si por alças sem estrutura definida. Proteólise limitada (hidrólise de poucas ligações peptídicas da proteína) normalmente libera os domínios ativos.

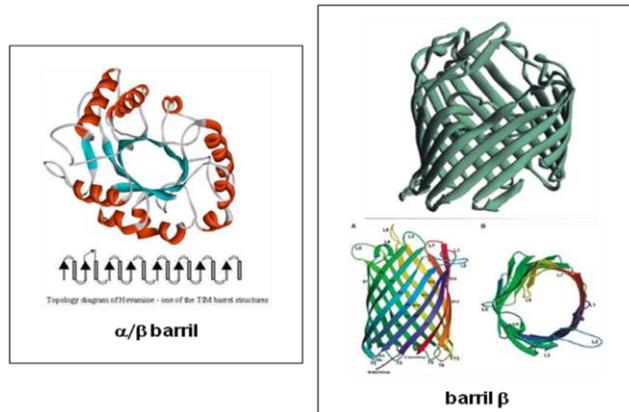
Os domínios são classificados por sua função e por sua estrutura, sendo catalogados mais de 600 domínios diferentes.

Existem domínios α (só contêm α -hélice, como cada subunidade da hemoglobina), domínios que só contêm folhas β -pregueadas (domínios β) e domínios α/β . Os últimos podem ser α/β barris. Cerca de 10% das proteínas com estrutura conhecida têm um α/β barril, sendo esse o domínio

mais comum em enzimas. O sítio ativo das enzimas que têm um α/β barril está quase sempre nos bolsos formados pelas alças que ligam o C-terminal das cadeias β às α -hélices sucessivas, circundando a boca do barril. As folhas β -abertas são a estrutura de domínio mais comum em proteínas globulares. Quase todas são enzimas, muitas ligam mono ou dinucleotídeos.

Com a descoberta da existência de motivos e domínios, a ideia que se tinha sobre a composição de proteínas foi alterada. Na verdade, não há um número imenso de formas proteicas que evoluíram para formar proteínas funcionais. Há “blocos de construção” que podem ser intercambiáveis entre diferentes proteínas.

A seguir, exemplos de alguns tipos de barril.



7. Software: Estrutura de Proteínas.

8. Verificar a posição dos grupos polares e apolares dos aminoácidos de uma proteína em solução aquosa.
9. Três proteínas, A, B e C, têm número e composição de aminoácidos semelhantes, com a exceção seguinte: A é particularmente rica em glutamato, B em arginina e C tem conteúdo igual de glutamato e arginina. Que previsão pode ser feita sobre o valor relativo de seus pontos isoelétricos?
10. A clara do ovo, com alto conteúdo da proteína ovoalbumina, muda de aspecto quando fervida. O leite, que contém a proteína caseína, precipita quando tratado com limão ou vinagre. Que interações são afetadas pelos tratamentos? Suas propriedades nutricionais são afetadas pelos tratamentos?
11. Explicar o princípio da purificação de proteínas por *salting out*.
12. As estruturas das proteínas não enzimáticas, queratinas, sedas e colágeno, estão descritas no **Anexo 1 (página 52)**. A leitura desse Anexo é recomendada.

QUESTÕES PARA DISCUSSÃO

1. Problemas 5 e 6 (p. 333) e 9 a 13 (p. 334).
2. O colágeno possui grande quantidade de hidroxiprolina (Hyp) e hidroxilisina (Hyl). Células alimentadas com Hyp e Hyl marcadas com carbono radioativo (C^{14}) não apresentaram marcação radioativa em proteínas. Entretanto, se alimentadas com Pro e Lys radioativas (C^{14}), o colágeno apresentava a Hyp e Hyl marcadas com C^{14} . Como se explicam estes resultados? Observou-se também que essa incorporação só ocorria na presença de vitamina C. Quais seriam as consequências da deficiência de vitamina C para o homem?
3. Questões da Introdução.

3. HEMOGLOBINA E TAMPONAMENTO DO PLASMA

INTRODUÇÃO

Perto de Nápoles existe uma gruta chamada Gruta do Cão. Nesta gruta os cães não sobrevivem mais do que alguns minutos; os homens, entretanto, não são afetados. A gruta recebe do subsolo um fluxo contínuo de gás de origem vulcânica. Fazer uma hipótese sobre a composição do gás que explique a diferença de efeito da permanência de homens e cães na Gruta do Cão. O que se pode prever sobre o valor do pH plasmático dos cães que permanecem alguns instantes na gruta?

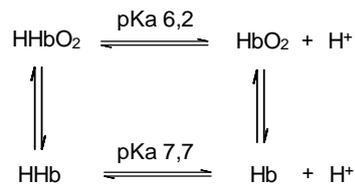
	Densidade (kg.m ⁻³)
Ar	1,27
H ₂	0,08
CO	1,14
N ₂	1,16
O ₂	1,33
CO ₂	1,98

OBJETIVOS PARA ESTUDO

Ler Capítulo 1- Pag. 9 a 10 (Tampões Biológicos) e Capítulo 3- Pag. 37 a 48.

1. Permanecer em um ambiente com uma concentração anormalmente alta de CO₂ afeta o pH plasmático? Que característica torna o tampão bicarbonato (HCO₃⁻/H₂CO₃) mais eficiente do que outros com mesma concentração e mesmo valor de pKa? A retirada de prótons do plasma para manter o pH do estômago em torno de 2 afeta o pH plasmático imediatamente após uma refeição?
2. A hemoglobina liga-se reversivelmente ao oxigênio e nesta propriedade baseia-se uma de suas duas funções fundamentais. O percentual de proteína ligada ao oxigênio depende de algumas variáveis, entre as quais a pressão parcial deste gás (pO₂), como mostra o gráfico da p. 335. O gráfico mostra ainda o percentual de saturação da mioglobina, uma proteína presente na fibra muscular, também capaz de ligar-se ao oxigênio, em função da pO₂.
 - 2a. Uma solução de hemoglobina, mantida sob pO₂ de 30 Torr, apresentava pH=7,4. Em experimentos separados, foram adicionados HCl e NaOH à solução, até que os valores de pH fossem, respectivamente, 7,2 e 7,6. Em qual dos experimentos houve liberação de O₂ pela hemoglobina?
 - 2b. Uma solução de hemoglobina com pH 7,4 estava submetida à pressão de 100 Torr. Que fenômeno deve ocorrer com a hemoglobina se a pO₂ baixar para 40 Torr?
 - 2c. O pH plasmático nos alvéolos pulmonares (pO₂ = 100 Torr) é 7,45 e no interior dos tecidos, (pO₂ = 40 Torr) é 7,35. Que fenômeno deve ocorrer com a hemoglobina proveniente dos tecidos ao chegar aos pulmões? E com a hemoglobina proveniente dos pulmões ao chegar aos tecidos?
 - 2d. A mioglobina doa ou recebe oxigênio da hemoglobina?
3. Que tipos de interações são responsáveis pela associação das cadeias polipeptídicas da hemoglobina? Há duas incorreções na frase seguinte: o íon Fe³⁺ constitui o grupo prostético da hemoglobina. Quais são? Qual é o número máximo de moléculas de oxigênio transportadas pela hemoglobina?
4. O valor do pH tem algum efeito sobre a afinidade da hemoglobina por oxigênio? E o valor da pressão parcial de oxigênio?
5. O que é cooperatividade? Que tipo de organização estrutural é necessário para que uma proteína apresente cooperatividade?
6. Fazer um esquema da curva de saturação de hemoglobina por oxigênio em função da pO₂ na presença e na ausência de 2,3 bisfosfoglicerato (BPG).

7. A hemoglobina fetal (HbF) é diferente da hemoglobina encontrada nos adultos (HbA). Que previsão pode ser feita sobre a curva de saturação por oxigênio da HbF comparada com a da HbA?
8. Como a maioria das células produz CO₂ continuamente, a tendência do valor de pH no nível dos tecidos é diminuir ou aumentar? E no nível dos alvéolos, onde há eliminação de CO₂?
9. A hemoglobina oxigenada pode ser considerada um ácido fraco, com "pKa" = 6,2 e a hemoglobina desoxigenada, um ácido fraco com "pKa" = 7,7. A interconversão das formas HHbO₂ e HbO₂, bem como das formas HHb e Hb, depende da pressão parcial de O₂.



Indicar, entre as quatro formas possíveis da hemoglobina (HHb, Hb, HHbO₂ e HbO₂),

- 9a. a forma que predomina no sangue que deixa os pulmões;
- 9b. a transformação que se processa nesta forma ao atingir os capilares, onde a concentração de CO₂ é maior e o pH e a pO₂ são menores;
- 9c. a forma predominante que chega aos pulmões;
- 9d. a transformação que se processa nesta forma nos pulmões, onde a concentração de CO₂ é maior do que a atmosférica e a pO₂ atmosférica maior do que a plasmática.
- 9e. A hemoglobina capta ou libera prótons nos tecidos? E nos pulmões?

QUESTÕES PARA DISCUSSÃO

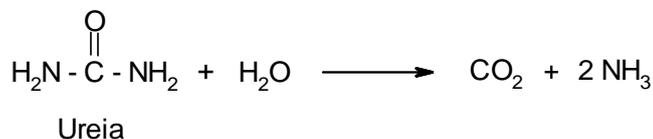
1. Problemas 1 (p. 335) e 3 (p. 336).
2. O monóxido de carbono (CO) é um gás muito tóxico por ligar-se à hemoglobina no mesmo sítio em que se liga o oxigênio. A ocupação de 50% desses sítios da hemoglobina com CO constitui uma intoxicação fatal. Entretanto, indivíduos anêmicos que têm apenas 50% da hemoglobina de um indivíduo normal vivem bem. Para explicar este aparente paradoxo, foram sugeridas algumas hipóteses:
 - A. A ligação do CO à hemoglobina eliminaria o efeito de cooperatividade observado na ligação da hemoglobina ao oxigênio.
 - B. A hemoglobina ligada ao CO teria maior afinidade por oxigênio em altas pO₂.
 - C. Além de poder ocupar o sítio de ligação do oxigênio, o CO teria um efeito semelhante ao do 2,3 bisfosfoglicerato (BPG).

Justifique sua concordância ou discordância com relação às hipóteses A, B e C. Se nenhuma delas for satisfatória, proponha uma nova explicação.
3. A eritropoietina (EPO) é um hormônio produzido no rim, para o qual existem receptores na medula óssea. Sua secreção é estimulada pela baixa da pressão parcial de oxigênio e pela diminuição do número de hemácias (causada por hemorragia, por exemplo). A ligação da EPO ao receptor estimula a produção de glóbulos vermelhos. Por que atletas fundistas treinam em cidades situadas em grandes altitudes? Esta estratégia é eficaz para velocistas também?
4. Questão da Introdução.

4. ENZIMAS

INTRODUÇÃO

1. A hidrólise da ureia é catalisada pela urease, segundo a seguinte reação:



Para estudar a urease, um estudante preparou uma bateria de tubos, incubou-os a 30 °C por 10 minutos e dosou amônia nos tubos. A composição dos tubos (com volume final de 1 mL) e os resultados das dosagens estão na tabela seguinte.

Tubo	Ureia (mM)	Urease (µg)	NH ₃ (µmols)
1	2,5	0,1	0,21
2	5,0	0,1	0,42
3	10	0,1	0,59
4	15	0,1	0,67
5	25	0,1	0,73
6	50	0,1	0,78
7	100	0,1	0,79
8	200	0,1	0,78
9	200	-	0,00

- Por que não houve formação de NH₃ no tubo 9?
- Por que foi preparado um tubo sem enzima?
- Qual foi a velocidade da reação nos tubos 1 e 2? Qual é a relação entre as velocidades de reação nos tubos 1 e 2 e a concentração de ureia?
- Qual foi a velocidade de reação nos tubos 5 a 8? Qual é a relação entre as velocidades de reação nesses tubos e a concentração de ureia?
- De que dependeu a velocidade de reação neste experimento?
- Quais seriam os resultados se as dosagens de amônia fossem feitas após 48 h de incubação?
- Que modificações poderiam ser feitas na composição dos tubos para conseguir velocidades maiores do que as que foram medidas?

OBJETIVOS PARA ESTUDO

Ler Capítulo 5, pag. 59 a 88.

- Fazer o gráfico [Produto] x Tempo para a reação A → B. Definir *velocidade de reação*.
- Escrever a equação de velocidade da reação A → B, em função da concentração de A. Como proceder para medir esta velocidade? Que tempos (iniciais ou finais) devem ser escolhidos para que as medidas de velocidade sejam de fato relacionadas à concentração inicial de A?
- Definir *velocidade inicial de reação*.
- Estudar o **software Cinética Enzimática** e responder as questões 5, 6 e 7.
- Classificar as afirmações abaixo como verdadeiras ou falsas.
 - Sempre que o número de moléculas de substrato é maior que o número de moléculas de enzimas, todas as moléculas de enzimas estão ligadas a moléculas de substrato.
 - A velocidade da reação é proporcional ao tempo da reação.

- 5c. A velocidade da reação é proporcional à concentração de substrato.
- 5d. A velocidade da reação é proporcional concentração de enzima, desde que a concentração de substrato não seja limitante.
- 5e. A velocidade da reação é proporcional à concentração do complexo enzima-substrato.
- 5f. A quantidade de produto formado depende do tempo da reação.
- 5g. Ao final de cada experimento (do software) todo substrato foi convertido em produto.
6. Em um experimento com concentração constante de enzima e substrato obteve-se 0,001 mmols de produto em 20 minutos de reação. A massa de produto formada em 10 minutos de incubação será
- 6a. 0,0005 mmols 6b. 0,0010 mmols 6c. 0,0020 mmols
7. Em um experimento com concentração constante de enzima e substrato obteve-se 0,001 mmols de produto, formados a cada minuto durante 20 minutos de reação. Se o tempo de incubação fosse 10 minutos, a velocidade da reação seria
- 7a. 0,0005 mmols/minuto 7b. 0,0010 mmols/minuto 7c. 0,0020 mmols/minuto
8. Definir *sítio ativo*. Podem pertencer ao sítio ativo de uma enzima cadeias laterais de aminoácidos distantes uns dos outros na estrutura primária?
9. A ligação de uma enzima ao seu substrato é uma reação irreversível?
10. Escrever a equação de velocidade da formação do complexo ES. Escrever a equação da velocidade da formação de P a partir de ES.
11. Verificar as concentrações relativas de enzima e substrato em uma reação enzimática e estabelecer a relação entre as ordens de grandeza das constantes de velocidade k_1 , k_2 e k_3 . Qual é a etapa limitante da velocidade de transformação de S em P?
12. Fazer o gráfico da velocidade da reação $S \rightarrow P$, catalisada enzimaticamente, em função da concentração de S. Descrever os procedimentos experimentais que levariam à obtenção dos dados para a construção do gráfico.
13. Analisando o gráfico do item 12, verificar, em cada trecho da curva, as concentrações de enzima livre, substrato e complexo ES.
14. A constante de Michaelis-Menten (K_M) deve ser expressa em unidades de tempo, de velocidade ou de concentração? Como é feita sua determinação experimental?
15. Pode-se afirmar que, se o valor de K_M para o substrato A é maior do que para o substrato B, a enzima tem maior afinidade por A?
16. Fazer o gráfico da velocidade de uma reação enzimática em função: a) da concentração de enzima; b) da temperatura; c) do pH. Descrever os procedimentos experimentais que levariam à obtenção dos dados para a construção destes gráficos. Justificar a forma dos gráficos.
17. Fazer o gráfico $v_o \times [S]$ para concentrações E e 2E de enzima.
18. Fazer o gráfico $v_o \times [S]$ na ausência de inibidor, na presença de duas concentrações de inibidor competitivo e na presença de duas concentrações de inibidor não competitivo.
19. Definir *constante de inibição* (K_i). O que esta constante mede?
20. Quais seriam os valores de K_M e V_{max} se fosse adicionado inibidor competitivo na concentração de $1 K_i$ à reação? E se fosse adicionado inibidor não competitivo, também na concentração equivalente a $1 K_i$? Considere duas reações separadas para cada inibidor.
21. Mostrar as vantagens da transformação de Lineweaver-Burk para a determinação do K_M de uma enzima. Fazer o gráfico de Lineweaver-Burk na ausência de inibidor, na presença de duas

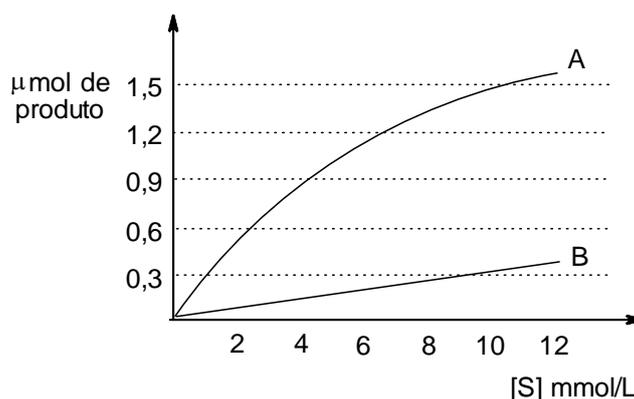
concentrações de inibidor competitivo e na presença de duas concentrações de inibidor não competitivo.

22. Por que a cinética de algumas enzimas alostéricas tem aspecto sigmoidal enquanto as enzimas michaelianas têm cinéticas hiperbólicas? **Ler Regulação alostérica, pag. 258 a 261).**
23. Fazer o gráfico $v_o \times [S]$ para uma reação catalisada por uma enzima alostérica, na ausência de efetadores e na presença de efetadores positivo e negativo, que afetam seu K_m .

Ler o Anexo 2, pag. 54 a 56 (mecanismo de ação de enzimas).

QUESTÕES PARA DISCUSSÃO

1. Por que as moléculas de enzimas são grandes?
2. Um pesquisador preparou duas séries de tubos, usando as mesmas concentrações de substrato. Aos tubos da série A adicionou enzima e aos tubos da série B, não. Após 10 minutos de incubação dos tubos a 30°C mediu a quantidade de produto formado, obtendo os resultados expressos no gráfico seguinte. Quais as velocidades aproximadas da reação catalisada com concentrações do substrato de 4, 8 e 12 mmol/L?



3. Problemas: 5 e 6 (p. 337); 9 e 10 (p. 338).
4. Problemas 11, 13 e 14 (p. 339).
5. Problemas 16 (p. 340) e 17 (p. 340), em cujo esquema, as enzimas 5 e 8 são alostéricas, moduladas por efetadores alostéricos positivo (+) e negativo (-).
6. Questão da Introdução.

5. O SENTIDO DAS REAÇÕES

Ler Capítulo 4- pag. 49 a 56.

INTRODUÇÃO

A reação de oxidação de glicose, mostrada abaixo, é fortemente exergônica:



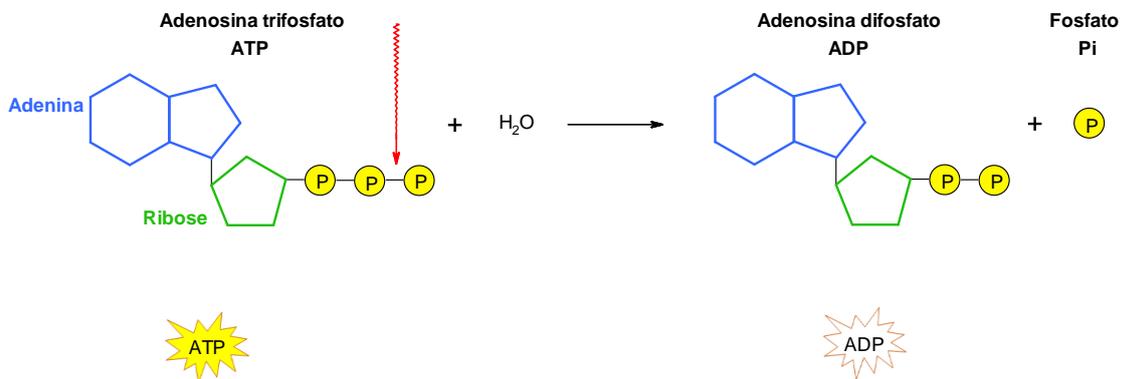
Reação análoga ocorre com a sacarose, o açúcar comum, com valor de ΔG^0 semelhante. Por que o açúcar do açucareiro, que tem contato com o oxigênio do ar, não é convertido em CO_2 e H_2O ?

OBJETIVOS PARA ESTUDO

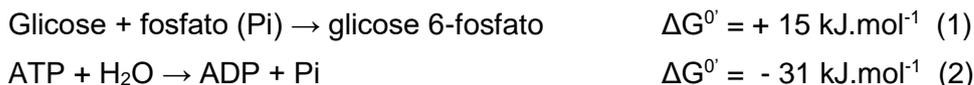
- Responder, individualmente, as questões de 1 a 12.
- Estudar o Capítulo 4, p. 49.
- Responder, em GD, as questões de 1 a 12.

Assinale verdadeiro (V) ou falso (F) para as afirmações abaixo.

- A “quebra” de uma ligação química libera energia.
- Reações não espontâneas em determinadas condições são espontâneas em outras condições.
- Reações que não ocorrem espontaneamente podem ocorrer com a participação do ATP.
- A energia liberada pelo ATP resulta da “quebra” da ligação fosfato, indicada pela seta.



- A energia liberada pela conversão de ATP em ADP + Pi é utilizada para promover outras reações celulares.
- A formação de glicose 6-fosfato pode ser obtida se for associada à hidrólise do ATP



- Reações não espontâneas convertem-se em espontâneas quando associadas à hidrólise do ATP.
- A função celular do ATP é fornecer energia, derivada da sua hidrólise.
- Os processos celulares que requerem energia (síntese de polímeros, transferência de íons e moléculas contra gradiente, etc.) utilizam a energia derivada da hidrólise do ATP.
- A hidrólise do ATP libera energia como calor, que não pode ser utilizado pelas células.
- Assinale a resposta correta.

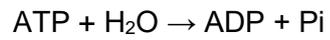
A energia liberada na reação de hidrólise do ATP

 - é derivada da quebra de ligações.
 - é consequência da formação de ligações novas.
 - é o saldo das energias liberadas e consumidas nas quebras e formações de ligações dos componentes da reação.
 - é a soma das energias liberadas nas quebras e formações de ligações.

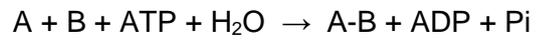
12. Com relação às reações abaixo,



$$\Delta G^{\circ} = + 15 \text{ kJ.mol}^{-1} \quad (1)$$



$$\Delta G^{\circ} = - 31 \text{ kJ.mol}^{-1} \quad (2)$$



$$(3)$$

pode-se afirmar que apenas

- a. a reação (1) ocorre.
- b. a reação (2) ocorre.
- c. a reação (3) ocorre
- d. as reações (2) e (3) ocorrem.
- e. as reações (1) e a (2) ocorrem.

6. METABOLISMO

INTRODUÇÃO

CASO 1 - C.B., 32 anos, trabalhador da construção civil.

Deu entrada no serviço de emergência, trazido por colegas, por volta das 10 horas da manhã, após ter desmaiado no trabalho.

Conta que nos últimos dias alimentou-se mal e, nesta manhã, saiu de casa sem comer nada e iniciou o trabalho. Após 60 minutos, começou a sentir dor de cabeça e tonturas. Os sintomas foram aumentando em intensidade e surgiram uma intensa fraqueza e sudorese fria. Insistindo com a atividade que fazia, a tontura tornou-se muito forte, escureceu-lhe a vista e desmaiou.

No momento do exame, encontra-se pálido, sudoreico, extremidades frias e referindo forte dor de cabeça.

CASO 2 - R.T.P., 27 anos, masculino, analisador de sistemas.

O paciente chegou no dia anterior a La Paz, vindo de Salvador. Relata que logo ao sair do aeroporto, precisou subir um lance de escada e sentiu-se muito cansado. Embora tenha feito refeições corretas, o cansaço persistiu e agravava-se com atividades físicas que, até a véspera, fazia sem dificuldade. No final do terceiro dia, tendo tido necessidade de um esforço intenso, desmaiou, sendo conduzido ao Pronto Atendimento.

Depois dos exames preliminares, foi introduzida a oxigenoterapia e rapidamente o paciente sentiu-se melhor. Foi dispensado do hospital, com a recomendação de que ingerisse chá ou outra bebida estimulante.

CASO 3 - P.F., 54 anos, masculino, executivo.

Quadro de dor no peito há seis meses, com duração de cinco a dez minutos, no máximo, sempre que fazia algum esforço físico, como subir uma ladeira caminhando ou ao sentir emoções, melhorando com o repouso.

Fazendo exames de avaliação cardíaca, foi constatada obstrução parcial de uma das artérias coronárias. Desde então vinha fazendo uso de remédios que promovem dilatação das coronárias.

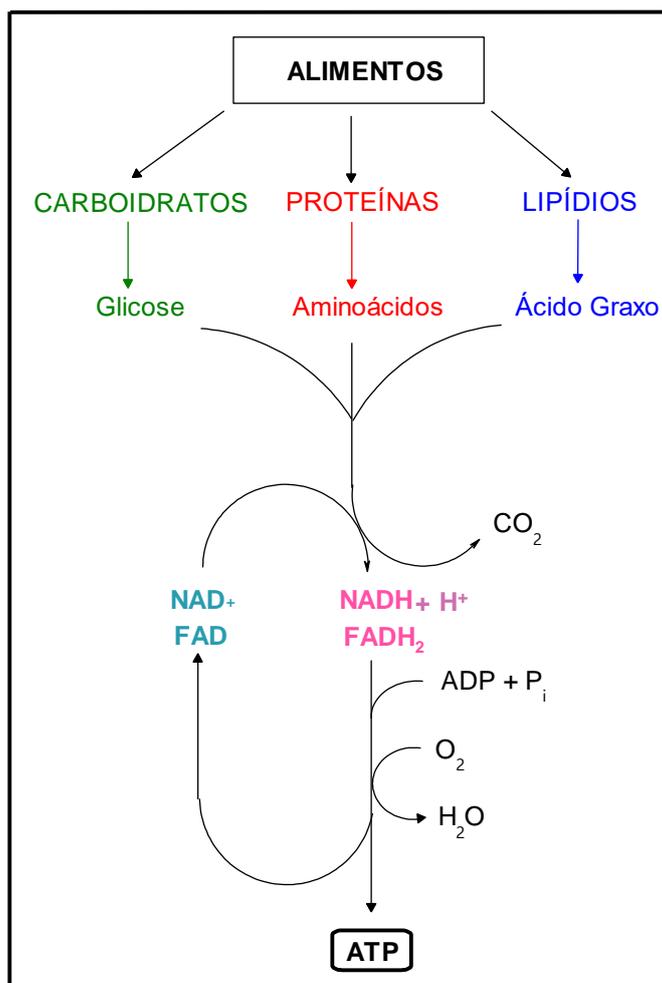
Logo ao sair para o trabalho, sentiu forte dor no peito, de início abrupto. Ficou pálido, começou a suar frio e dentro de poucos minutos perdeu a consciência e caiu. No pronto socorro, embora fossem tentadas todas as manobras e medicações para a reanimação cardíaca, o paciente foi a óbito.

1. Por que os pacientes dos casos 1 e 2 desmaiaram?

2. Por que o paciente do caso 3 foi a óbito?

3. A falta de que composto provocou os sintomas relatados nos três casos?

Para discutir os itens **A** e **B**, utilize apenas os mapas deste roteiro. Não consulte livros ou outros materiais.



A – MAPA I: DEGRADAÇÃO (OXIDAÇÃO) DE ALIMENTOS

1. Qual a finalidade biológica dos processos representados no mapa?
2. Discutir as seguintes afirmações:
 - 2a. Obtém-se energia dos alimentos oxidando-os.
 - 2b. A oxidação biológica consiste na retirada de hidrogênio (2H) do substrato.
 - 2c. Analisar a função das coenzimas e do oxigênio na oxidação dos alimentos.
 - 2d. Uma parte da energia derivada da oxidação dos alimentos é usada para sintetizar um composto rico em energia (ATP).
 - 2e. A única função dos alimentos é fornecer energia.
3. Por que hidrocarbonetos, plásticos e metais não são alimentos para o homem?
4. Qual o destino dos átomos de carbono presentes nos macronutrientes quando eles sofrem metabolismo degradativo?
5. O que restringiu a síntese de ATP em cada um dos casos descritos na Introdução?
6. Resuma: por que é necessário alimentar-se e respirar?

Por que o ATP é imprescindível? Para quê é utilizado?

O ATP tem várias funções importantes: neurotransmissão, modulação de enzimas alostéricas, e atuação em processos que não ocorrem sem sua participação. Esta última função será tratada a seguir.

7. Identificar, entre os processos abaixo, aqueles que só podem ocorrer com a participação do ATP.

7a. Transporte de íons ou moléculas de um compartimento onde estão mais concentrados para outro, com concentração menor.

7b. Manutenção das concentrações intra e extracelulares de íons. [Consultar a tabela seguinte, com valores de concentração em miliequivalentes por litro (mEq/L)]

	Plasma	Intracelular
Sódio (Na ⁺)	142	15
Potássio (K ⁺)	5	150
Magnésio Mg ⁽²⁺⁾	2	27
Cálcio (Ca ²⁺)	5	2
Cloro (Cl ⁻)	105	1
Bicarbonato (HCO ₃ ⁻)	24	10
Fosfato (PO ₄ ⁻³)	2	100
Sulfato (SO ₄ ⁻²)	1	20

7c. Conversão de uma proteína em aminoácidos no trato digestório.

7d. Síntese intracelular de proteínas.

7e. Digestão do amido (polímero de glicose).

7f. Síntese hepática de glicogênio (polímero de glicose).

7g. Contração muscular.

7h. Síntese de glicose, de DNA e RNA.

8. Indicar o sinal de ΔG^0 das transformações seguintes, representadas sem os valores estequiométricos:

8a. Proteína + H₂O → n Aminoácidos ()

8b. n Aminoácidos → Proteína + H₂O ()

8c. n Aminoácidos + ATP → Proteína + ADP + Pi ()

9. Generalizando, qual é a função do ATP nos processos referidos no item 7b?

10. Generalizando, qual é a função do ATP nos processos referidos nos itens 7d, 7f e 7h?

11. Por que as células sem ATP não são viáveis?

B - MAPA II: INTERCONVERSÃO DE MACRONUTRIENTES

Um paciente com sobrepeso foi admitido a um hospital portando uma patologia que o impedia de alimentar-se por via oral. A equipe que o atendeu prescreveu a aplicação intravenosa de soro glicosado durante os dias que durariam seu tratamento. O paciente, que pretendia perder algum peso, solicitou que o soro não fosse aplicado. Para julgar se o pedido do paciente podia ser atendido, resolva as questões de 1 a 4, consultando unicamente o Mapa II, que indica, entre parênteses, o número de átomos de carbono de alguns compostos.

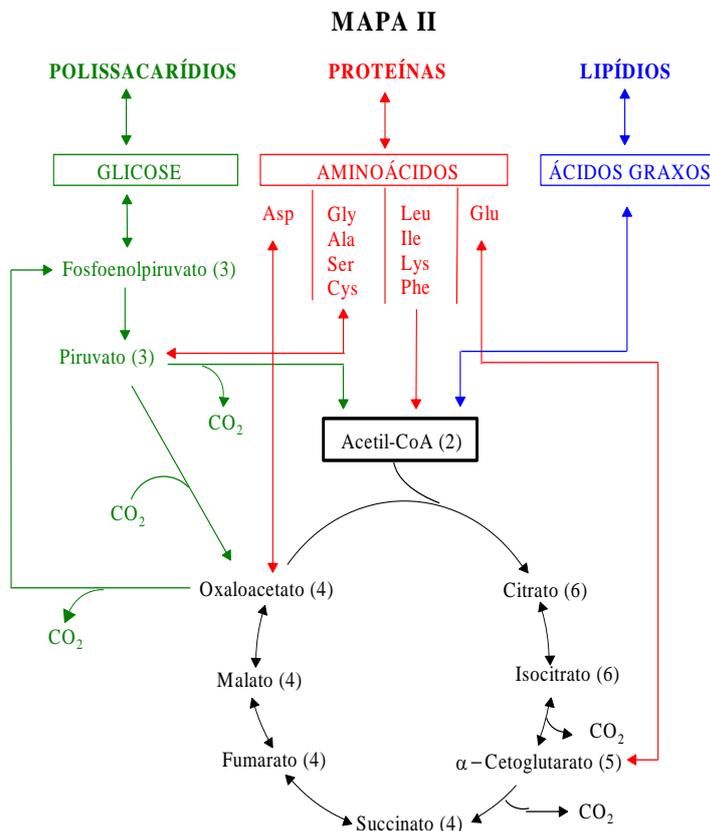
1. Quais são as reações irreversíveis que aparecem no mapa?
2. Qual o primeiro composto comum à degradação de carboidratos, proteínas e lipídios?
3. Animais de laboratório foram submetidos a dietas compostas exclusivamente de carboidratos, ou lipídios ou proteínas. Estes três tipos de compostos são essenciais para a sobrevivência. Não havendo outras restrições na dieta, prever que grupo de animais sobreviveria, verificando se é possível sintetizar:

	S	N		S	N
3a. ácido graxo a partir de glicose			3d. glicose a partir de proteína		
3b. proteína* a partir de glicose			3e. ácido graxo a partir de proteína		
3c. proteína a partir de ácido graxo			3f. glicose a partir de ácido graxo		

*Para sintetizar uma proteína são necessários todos os aminoácidos.

Indicar no mapa a via utilizada para cada conversão.

4. Alguns tecidos (nervoso) e células (hemácias) obtêm ATP exclusivamente a partir de glicose. Como é possível garantir sua sobrevivência quando as reservas de glicogênio tornam-se insuficientes para manter a glicemia?



C - METABOLISMO ENERGÉTICO NO ESFORÇO MUSCULAR E NO JEJUM.

Há três processos para obtenção de ATP em mamíferos, um aeróbio (1) e dois anaeróbios (2, 3):

1. fosforilação de ADP acoplada à oxidação de nutrientes por O₂ (Mapa I);
2. fosforilação de ADP por fosfocreatina (ver reação à p. 310);
3. fosforilação de ADP associada à conversão de glicose a lactato, sem utilização de O₂.

OBJETIVOS PARA ESTUDO

1. Estudar o **software contração Muscular** e identificar a fonte primária de energia e o processo principal de produção de ATP nas seguintes condições:
(a) salto; (b) corrida de 400 m; (c) maratona; (d) jejum curto; (e) jejum prolongado.
2. A velocidade de um corredor de 400 m é muito superior à de um maratonista. Usando as observações obtidas na execução do **software Metabolismo** e as Tabelas 1 e 2, propor uma explicação para as diferenças de velocidade entre os dois tipos de corrida.

Tabela 1. Fontes de energia para a contração muscular

Fonte	Velocidade de produção de ATP (mmol/s)	Total de ligações fosfato disponíveis (mmol)
ATP muscular		223
Creatina fosfato	73,3	446
Conversão glicogênio muscular em lactato	39,1	6.700
Conversão glicogênio muscular em CO ₂	16,7	84.000
Conversão de ácido graxo em CO ₂	6,7	4.000.000

3. O cérebro não possui reservas energéticas relevantes (Tabela 2) e usa glicose como combustível, o que exige a manutenção constante da glicemia (concentração de glicose no sangue).
 - 3a. Qual é a fonte de reposição da glicose sanguínea durante jejum curto e jejum prolongado?
 - 3b. A sua conclusão está de acordo com a discussão referente ao Mapa II?
 - 3c. Proponha uma explicação para o fato de hipoglicemia acentuada levar ao coma.

Tabela 2. Reservas energéticas de um homem típico de 70 Kg.

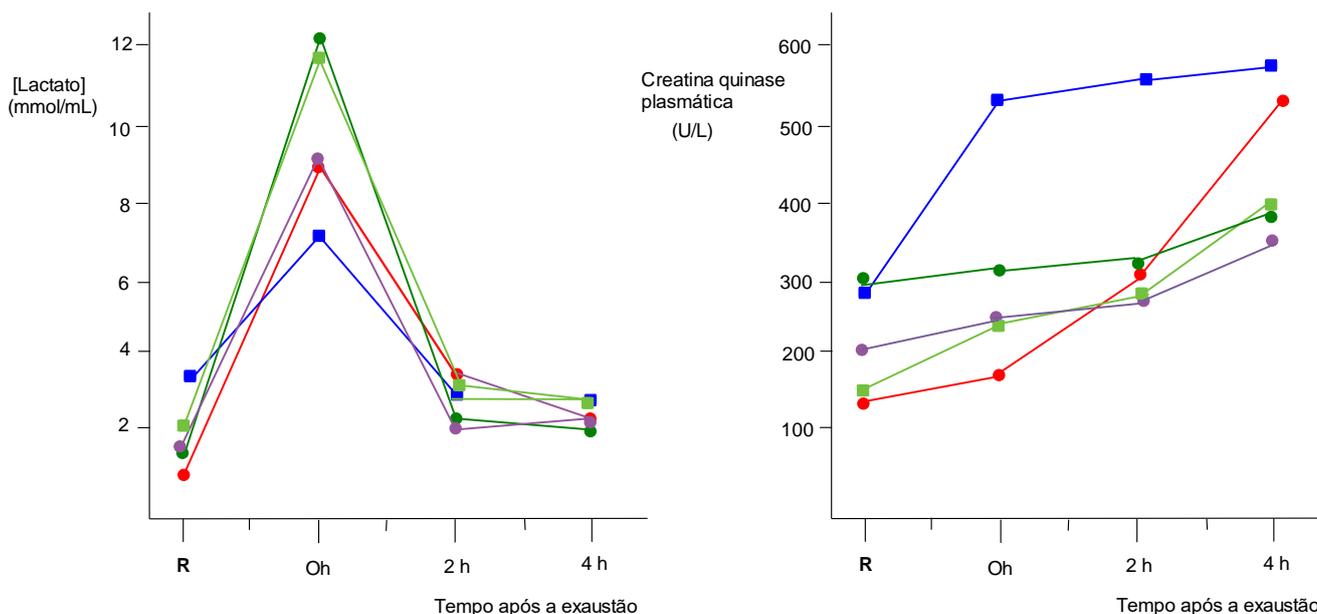
	Energia disponível (kcal)		
	Glicose ou Glicogênio	Triacilgliceróis	Proteínas mobilizáveis
Sangue	60	45	0
Fígado	480	450	400
Cérebro	8	0	0
Músculo	1.200	450	24.000
Tecido Adiposo	80	135.000	40

Nas unidades subsequentes, serão estudados: (1) o mecanismo detalhado de geração de ATP em condições anaeróbias e aeróbias; (2) a regulação da produção de ATP; (3) a sinalização que indica o uso das reservas nos tecidos majoritários e o acúmulo de reservas após a alimentação.

6.1 GLICÓLISE E GLICONEOGÊNESE

INTRODUÇÃO

Em estudos sobre o condicionamento físico de cinco voluntários foram medidas as concentrações plasmáticas de lactato e creatina quinase no repouso (R). Os voluntários fizeram, a seguir, um exercício exaustivo. No término deste exercício (0 h) e após duas e quatro horas novas medidas foram feitas. Os resultados estão apresentados nos gráficos seguintes.



Examinando os dados, um estudante ficou intrigado com (1) a relação entre a intensidade do exercício e a concentração de lactato e (2) com o fato de ter sido dosado lactato e não ácido láctico. Também estranhou (3) as concentrações de lactato no repouso e, principalmente, (4) nos tempos 2h e 4h, pois sabia que os voluntários se queixaram de fortes dores musculares no dia seguinte ao exercício. Resultados não expressos no gráfico indicaram que a concentração plasmática de creatina quinase continuou aumentando após 4h do término do exercício. Como estes dados podem ser interpretados?

OBJETIVOS PARA ESTUDO – ESTRUTURA DE CARBOIDRATOS

Ler Capítulo 6- Pag. 91-93

1. Definir carboidratos.
2. Definir aldoses e cetoses.
3. Uma solução de glicose apresenta poder redutor menor do que uma solução de hexanal de igual concentração. Por quê?
4. Mostrar a diferença estrutural entre as formas α e β de um monossacarídeo.

GLICÓLISE- Software IUBMB.

OBJETIVOS PARA ESTUDO e GD dos mesmos objetivos

Os objetivos de números 1 a 13 devem ser respondidos utilizando apenas o mapa da glicólise (p. 27 apostila), sem consulta a livros.

1. Indicar as reações irreversíveis da glicólise.
2. Quantas moléculas de lactato se formam a partir de uma molécula de glicose?
3. Que hexose dá origem a trioses?
4. Indicar as reações de oxidação-redução da glicólise.
5. A concentração de NAD^+ nas hemácias é da ordem de 10^{-5} M. Se a disponibilidade de glicose não for limitante, é possível estimar a quantidade de lactato que pode ser formada?
6. Indicar, entre os compostos da glicólise, aqueles que apresentam ligações do tipo
 - a) fosfoenol;
 - b) anidrido fosfórico;
 - c) anidrido carboxílico-fosfórico;
 - d) éster fosfórico.

A classificação de uma dada ligação química deve ser feita analisando os tipos de compostos (álcool, tioálcool, cetona, ácido) que seriam produzidos se esta ligação fosse hidrolisada. [Ver Tabela sobre compostos ricos em energia à p. 55.].
7. Explicar porque há diferença na reversibilidade das reações catalisadas por quinases.
8. Identificar as reações da glicólise catalisadas pelas seguintes enzimas [A descrição do tipo de reação catalisada por diferentes classes de enzimas está abaixo]:
 - a) quinase b) mutase c) isomerase d) aldolase e) desidrogenase
9. Considerando o número de mols de ATP consumidos e formados, estabelecer o saldo final de ATP obtido pela conversão de um mol de glicose a lactato pela via glicolítica.
10. Qual a quantidade de energia que a célula armazena pela degradação de um mol de glicose pela via glicolítica?
11. O valor da conversão de um mol de glicose a lactato é $\Delta G^{\circ} = - 47.000 \text{ cal/mol}$ (197 kJ/mol). Que porcentual deste valor é armazenado como ATP pelas células ao fazer essa transformação?
12. Citar os compostos que devem ser fornecidos à via glicolítica para:
 - 12a. iniciá-la (haver formação de lactato).
 - 12b. mantê-la em funcionamento.
13. Indicar a função da via glicolítica.

ALGUNS TIPOS DE ENZIMAS

Quinases: Catalisam a transferência de um grupo fosfato de um composto de alta energia (em geral ATP) para um aceptor.

Isomerases: Catalisam reações de isomerização.

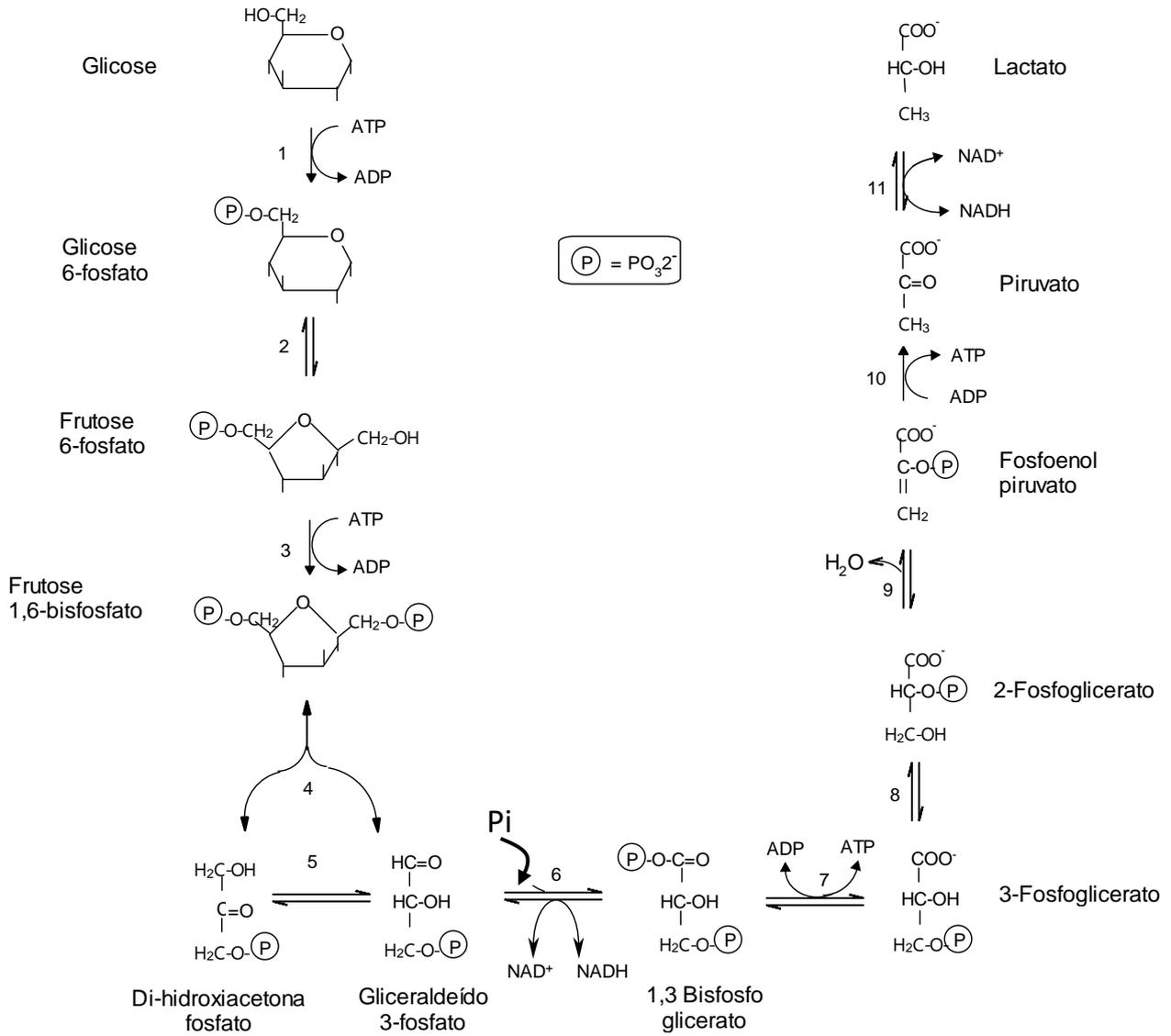
Mutases: Isomerases que catalisam a transferência de grupos fosfatos de baixa energia de uma posição para outra, na mesma molécula.

Desidrogenases: Catalisam reações de oxidação-redução, por transferência de hidrogênio do substrato para uma coenzima, geralmente NAD^+ ou FAD. Estas reações, na maior parte dos casos, são reversíveis.

Aldolases: Cindem açúcares fosforilados, dando origem a di-hidroxiacetona fosfato e a outro açúcar, com três átomos de carbono a menos que o substrato original.

Fosfatases: Catalisam reações de hidrólise de ésteres de fosfato.

GLICÓLISE



	Nome da enzima
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	

GLICONEOGÊNESE

Ler Cap. 9- pag. 119-127, cap. 14-pg 172-175.

OBJETIVOS PARA ESTUDO

1. Que reação a glicose sofre ao entrar em uma célula? Verificar a diferença entre a enzima que catalisa esta reação no fígado e pâncreas e a que catalisa a reação em outros tecidos, quanto à inibição alostérica.
2. Alguns “tecidos” e células só utilizam glicose como fonte de energia: tecido nervoso central (120 g/dia) e hemácia (36 g/dia). Outros tecidos ou células têm poucas mitocôndrias e também dependem de glicose: músculos brancos, medula renal, cristalino, córnea e retina, testículos.
3. É possível converter lactato em glicose por uma via metabólica chamada *gliconeogênese*. Como é possível esta transformação se há reações irreversíveis na glicólise? Todos os tecidos operam esta conversão? Que outros compostos podem ser convertidos em glicose pela gliconeogênese?
4. Mostrar a sequência de reações que permite a conversão de piruvato em glicose. Comparar as reações irreversíveis da glicólise com as reações que as substituem quanto aos reagentes, produtos e enzimas.
5. Qual é o saldo em ATP da conversão de piruvato em glicose? Comparando este saldo com o da conversão de glicose em piruvato, explicar a vantagem do processo.
6. 3-Mercaptopicolinato inibe a conversão de glicose 6-fosfato em glicose, mas não inibe a conversão de glicose em glicose 6-fosfato. Explicar.
7. Mostrar as semelhanças e diferenças entre as reações catalisadas pela fosfofrutoquinase 1 e fosfofrutoquinase 2 e entre as catalisadas por frutose 1,6 bisfosfatase e frutose 2,6 bisfosfatase [Definição de *fosfatase* - página 26].
8. A concentração de frutose 2,6 bisfosfato nos hepatócitos varia com a disponibilidade da glicose: é pequena no jejum e alta após as refeições.
9. Efetadores alostéricos (fígado): **ler pag. 281 a 282.**

	Positivos	Negativos
Fosfofrutoquinase 1	Frutose 2,6 bisfosfato	ATP - Citrato
Frutose 1,6 bisfosfatase		Frutose 2,6 bisfosfato

10. Indicar a localização celular das enzimas da via glicolítica e da gliconeogênese.
11. Citar as vitaminas necessárias para as seguintes conversões:
 - a) glicose → lactato
 - b) lactato → glicose

FORMAÇÃO DE ACETIL-CoA

Ler Cap. 9, pag. 128 a 130.

1. Por que a inibição da piruvato translocase provoca o acúmulo de lactato?
2. Escrever a reação de formação de acetil-CoA a partir de piruvato e indicar:
 - 2a. as 5 coenzimas necessárias;
 - 2b. as vitaminas envolvidas;
 - 2c. a sua localização celular.

QUESTÕES PARA DISCUSSÃO

1. Problemas 1, 4 a 6, (p.341).
2. Problemas 9, 11, 12 e 13 (p.342).
3. Escrever a equação de conversão de glicose a acetil-CoA.
4. Questão da Introdução.

6.2 CICLO DE KREBS- Software IUBMB.

INTRODUÇÃO

Em 2006 ocorreu uma série de mortes de animais no Zoológico de São Paulo. O laudo da polícia civil indicou como causa o envenenamento por monofluoracetato de sódio. Um estudante de Farmácia estranhou a conclusão porque o laudo toxicológico havia indicado a presença de fluorocitrato nos animais mortos. Há contradição entre os dois laudos?

OBJETIVOS PARA ESTUDO. Ler Pag. 131 a 135.

1. Estudar o texto seguinte.

Preparação de uma suspensão de mitocôndrias de fígado de rato

O fígado é uma fonte conveniente para o isolamento de mitocôndrias funcionais por várias razões. Os tecidos animais são mais fáceis de homogeneizar do que os vegetais porque não têm parede celular; o fígado, em particular, é um órgão mole e bastante homogêneo. O metabolismo dos endotermos requer tecidos com grande densidade de mitocôndria, resultando em alto rendimento na preparação. Pode-se obter uma quantidade significativa de mitocôndrias hepáticas em menos de uma hora: o fígado de um rato pesando 200 - 250 g rende até 2 mL de mitocôndrias concentradas, o suficiente para muitos experimentos.

Procedimento:

Sedar os animais com isoflurano (tem ação rápida e não compromete as funções mitocondriais) e decapitá-los. Remover o fígado e mergulhá-lo imediatamente em 100 mL de NaCl 0,85% gelados. Todos os procedimentos seguintes devem ser feitos a 0 °C.

Homogeneizar o órgão em homogeneizador Potter-Elvehjem com pistilo de teflon, usando como meio de homogeneização sacarose 0,25 M, tampão HEPES 5 mM, EDTA 1 mM, pH 7,2.

Centrifugar o homogenato por 10 minutos a 500 x g. O precipitado consistirá de células intactas, fragmentos de tecidos e núcleos e deve ser descartado. O sobrenadante deve ser centrifugado por 10 minutos a 10.000 x g. O precipitado consistirá de mitocôndrias.

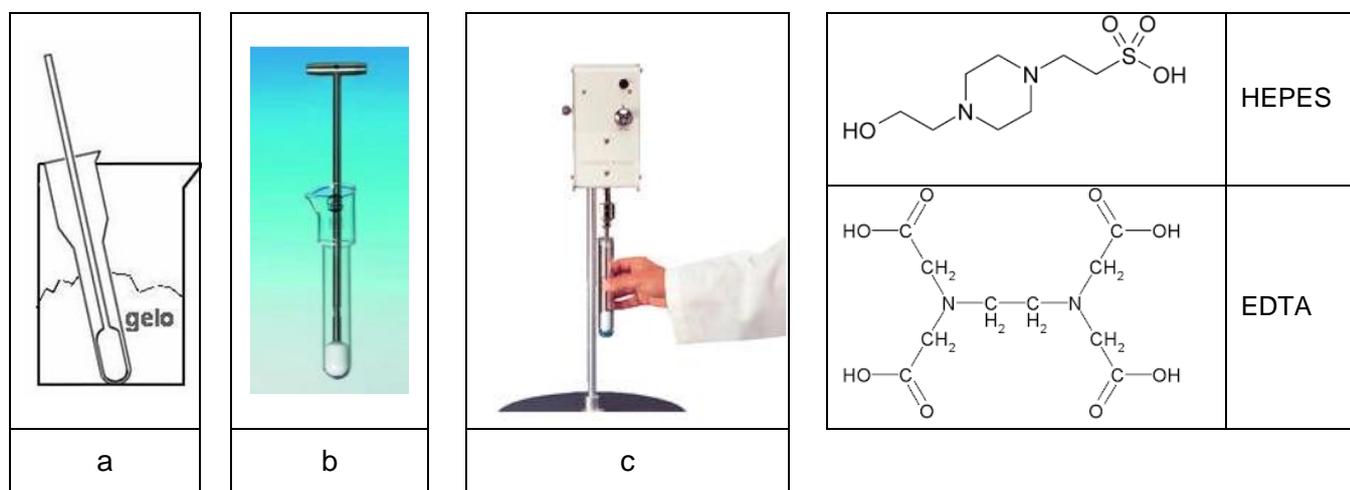


Figura 1 – (a) esquema de um homogeneizador Potter-Elvehjem; (b) foto do mesmo homogeneizador; (c) foto do homogeneizador Potter-Elvehjem sendo usado, acoplado a um motor. Ao lado estão as fórmulas de compostos usados no meio de homogeneização.

2. Verificar se é possível a ocorrência do ciclo de Krebs adicionando-se a um tubo que contém as enzimas e coenzimas das reações do ciclo:
 - 2a. acetil-CoA 2b. oxaloacetato 2c. acetil-CoA + oxaloacetato 2d. acetil-CoA + succinato
 Em cada caso, que porcentual do composto adicionado estará presente no final da reação?
3. Uma suspensão de mitocôndrias, suplementada com acetil-CoA marcada com ^{14}C só produz CO_2 marcado em aerobiose.
 - 3a. Por quê?
 - 3b. Em anaerobiose, há produção de CO_2 marcado se for adicionado azul de metileno. Com esta adição, além da produção de $^{14}\text{CO}_2$, observa-se a descoloração do corante (azul de metileno reduzido é incolor). Explique estes dados.
4. *Escherichia coli*, crescendo em anaerobiose, é desprovida do complexo α -cetoglutarato desidrogenase. Esta bactéria pode obter fumarato a partir de piruvato?
5. Citar os compostos que devem ser fornecidos ao ciclo de Krebs para:
 - 5a. iniciá-lo (repor o oxaloacetato usado na primeira reação).
 - 5b. mantê-lo em funcionamento.
6. As reações irreversíveis do ciclo de Krebs são as catalisadas por citrato sintase e α -cetoglutarato desidrogenase.
7. **Efetadores alostéricos da isocitrato desidrogenase:**
Ler pag 286 a 287

Positivo	Negativo
ADP	NADH

8. Que composto do ciclo de Krebs acumula-se quando a razão ATP/ADP é alta? E quando a razão NAD^+/NADH é baixa?
9. Mostrar como a regulação da piruvato carboxilase interfere na velocidade do ciclo de Krebs.

Software Ciclo de Krebs: IUBMB

QUESTÕES PARA DISCUSSÃO

1. Problemas 5, 7, 8 e 11(p. 343).
2. Questão da Introdução.

6.3 LIPÍDIOS E MEMBRANAS

OBJETIVOS PARA ESTUDO

Ler Cap. 6, Pag. 94 a 102 e Cap. 7, pag. 103 a 108.

1. Definir *ácidos graxos*. Definir ácidos graxos ω -3 e ω -6.
2. Qual o efeito do número de carbonos e do número de insaturações na interação de diferentes cadeias de ácidos graxos?
3. Definir triacilgliceróis (TAG) e glicerofosfolipídios.
4. Quais são as funções dos TAG e dos glicerofosfolipídios?
5. Verificar a estrutura do colesterol e citar compostos dele derivados.
6. Quais as forças que mantêm a estrutura de uma membrana? O que são micelas e lipossomos?
7. Identificar os componentes da estrutura de uma membrana biológica. Descrever o modelo de mosaico fluido.
8. Caracterizar **transporte ativo e transporte passivo**.
9. **Software de Membranas – (CD do livro Biochemistry - D. Voet & J.G. Voet).**

6.4 OXIDAÇÃO DE TRIACILGLICERÓIS

INTRODUÇÃO

O texto seguinte, retirado de um *site* da Internet, justifica o uso de carnitina pelos praticantes de atividades físicas em academias, com o propósito de emagrecer.

A carnitina consegue gerar maior quantidade de energia para os músculos e assim melhorar o desempenho nos treinos. Essa energia é retirada das células de gordura. Com a ajuda desse nutriente as células adiposas de cadeia longa são oxidadas e só assim conseguem atravessar a membrana e chegar na mitocôndria (organela vital para a produção de energia celular), onde finalmente, serão metabolizadas e transformadas em energia para ser consumida pelos músculos e pelo coração. Apesar de ser uma proteína não essencial, sem a suplementação não ocorre a queima de gordura já que é necessária muita carnitina para oxidar o tecido adiposo. Quando não há uma quantidade suficiente dessa substância, as células de gordura não conseguem entrar nas mitocôndrias e acabam retornando para o organismo na forma de triglicerídeos, aumentando a pressão sanguínea.



Dê sua opinião sobre o texto.

OBJETIVOS PARA ESTUDO

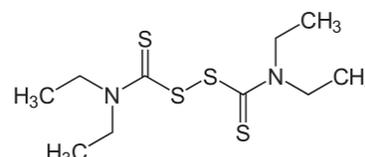
Cap. 16, Pag. 194 a 201.

1. Que enzima inicia a degradação dos triacilgliceróis no tecido adiposo? Quais são os produtos resultantes de sua ação?
2. Esquematizar a reação de ativação dos ácidos graxos.
3. Esquematizar a reação catalisada pela pirofosfatase. Qual é a interferência desta enzima na ativação dos ácidos graxos? A ação desta enzima é essencial para que o fluxo de ácidos graxos do citosol para a matriz mitocondrial se processe com eficiência. Por quê?
4. É possível haver oxidação completa de um ácido graxo sem a presença de carnitina?
5. O ciclo de Lynen pode ser feito em anaerobiose?
6. Além das enzimas, que compostos devem ser adicionados a um frasco que contém palmitoil-CoA para sua conversão completa a acetil-CoA?
7. A deficiência de qual (quais) das seguintes vitaminas compromete a realização do ciclo de Lynen: riboflavina, pantotenato, biotina, nicotinamida?
8. A reação irreversível do ciclo de Lynen é a catalisada pela acil-CoA desidrogenase.
9. Citar a localização celular da beta-oxidação.
10. Por que hemácias e tecido nervoso não oxidam ácidos graxos?

6.5 CORPOS CETÔNICOS – ETANOL

INTRODUÇÃO

O composto 1,1',1'',1'''-[disulfanedilbis(carbonotiolnitrilo)]tetraetano, conhecido como dissulfiram e comercializado como Antabuse®, é utilizado no tratamento do alcoolismo. Na vigência do tratamento com dissulfiram, entre 5 e 10 minutos após a ingestão de bebida alcoólica, surgem os sintomas de forte ressaca (vasodilatação e conseqüente queda de pressão arterial, taquicardia,



náusea, vômito, confusão mental, fraqueza, rubor, sudoração e cefaleia), por períodos que duram de 30 minutos a várias horas. A concentração plasmática de acetaldeído chega a ser 10 vezes maior do que a encontrada com a mesma ingestão de etanol, na ausência de dissulfiram. Justificar os dados apresentados e a terapia proposta.

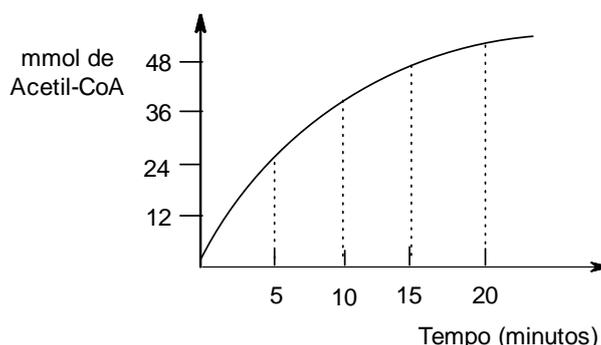
OBJETIVOS PARA ESTUDO

Ler Pag. 201 a 203

1. Citar os compostos que, em conjunto, são chamados de corpos cetônicos e mostrar as condições em que são formados em concentração alta.
2. Como um paciente submetido a rigorosa restrição de carboidratos mantém a glicemia?
3. Qual a consequência desta dieta sobre a concentração de oxaloacetato hepático?
4. À semelhança do controle da excreção urinária de glicose pela utilização das glicofitas, é possível monitorar a excreção de corpos cetônicos. Todos os corpos cetônicos produzidos são excretados pela urina?
5. De que forma são aproveitados os corpos cetônicos não excretados?
6. Há consequências derivadas da produção excessiva de corpos cetônicos?
7. É possível obter ATP a partir do etanol presente em bebidas alcoólicas?
8. Ver vídeo no **youtube: Your Brain on Alcohol/Inverse (uma neurocientista explica os efeitos do álcool no cérebro)**

QUESTÕES PARA DISCUSSÃO

1. Problemas 1, 4 a 6 (p. 348)
2. Uma preparação de células hepáticas foi incubada com palmitoil-CoA, em presença de um inibidor do ciclo de Krebs. Obtiveram-se os resultados apresentados no gráfico abaixo. Esquematizar no mesmo gráfico os resultados que seriam obtidos se a incubação tivesse sido feita
 - 2a. na ausência de oxigênio.
 - 2b. na presença de oxigênio + excesso de malonil-CoA (inibidor da carnitina acil transferase).
 - 2c. sem o inibidor do ciclo de Krebs.



3. Problemas 9 a 12 (p. 349) e Questão da Introdução.

6.6 CADEIA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS E FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA

INTRODUÇÃO

- A. Camundongos mutantes que não expressam superóxido dismutase morrem como fetos.
- B. Episódios de isquemia provocam lesão tecidual. Ao ser promovida a reperfusão, pode haver um aumento relevante da lesão, o que constitui um dilema para o profissional de saúde. Explicar estes dados.

OBJETIVOS PARA ESTUDO

Ler pag. 56 a 58 (Reações de Oxido-Redução)

Ler Pag. 136 a 158.

1. Qual é a diferença entre potencial de redução (E) e potencial de redução padrão (E^0)?
2. Descrever os componentes da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial. Quais são os grupos responsáveis pelo transporte de elétrons em cada um dos compostos que fazem parte da cadeia de transporte de elétrons
3. A quantidade de oxigênio consumido pela cadeia de transporte de elétrons tem relação estequiométrica com a quantidade de NADH oxidado?
4. Em uma suspensão de mitocôndrias incubadas com malato e rotenona não foi detectado consumo de oxigênio. Em incubação semelhante, substituindo o malato por succinato, ocorreu consumo de oxigênio. Explicar este resultado. Que resultado haveria, nos dois casos, se a rotenona fosse substituída por cianeto ou por antimicina A?
5. Usando o **software Consumo de Oxigênio por Mitocôndrias**, responder os itens seguintes:

[Nota: sempre que há formação de potencial elétrico há síntese de ATP]

 - 5a. Verificar os compostos que aumentam o consumo de oxigênio e os que o inibem.
 - 5b. Sempre que há consumo de oxigênio há síntese de ATP?
 - 5c. Sempre que há síntese de ATP há consumo de oxigênio?
 - 5d. Sempre que há aumento do potencial de membrana há consumo de oxigênio?
 - 5e. Sempre que há consumo de oxigênio há aumento do potencial de membrana?
 - 5f. Dinitrofenol (DNP) afeta o consumo de oxigênio? Afeta o potencial de membrana?
 - 5g. Pode haver síntese de ATP sem aumento do potencial de membrana?
 - 5h. Pode haver consumo de oxigênio sem aumento do potencial de membrana?

Para responder as questões seguintes, fazer experimentos virtuais com o seguinte protocolo: adicionar mitocôndria, malato e/ou succinato e, em seguida, o composto em estudo (rotenona ou oligomicina ou cianeto). Verificar o resultado. Depois, testar se pode haver reversão.

- 5i. A inibição do consumo de oxigênio por rotenona pode ser revertida pela adição de algum composto?
- 5j. A inibição do consumo de oxigênio por oligomicina pode ser revertida pela adição de algum composto?
- 5k. A inibição do consumo de oxigênio por cianeto pode ser revertida pela adição de algum composto?

6. Software Cadeia de Transporte de Elétrons.

7. Qual será o estado de oxidação (oxidado/reduzido) dos componentes da cadeia de transporte de elétrons em presença de malato e de antimicina A?
8. A intensidade da fosforilação oxidativa tem relação direta com a quantidade de NADH oxidado?
9. Por que o número de mols de ATP sintetizado para cada mol de succinato oxidado a fumarato é diferente da quantidade de mols de ATP sintetizado para cada mol de malato oxidado a oxaloacetato?
10. É possível obter síntese de ATP por uma suspensão de mitocôndrias sem fornecer substrato oxidável?
11. O tratamento de uma suspensão de mitocôndrias com cianeto ou com oligomicina inibe tanto o consumo de oxigênio quanto a síntese de ATP. A adição de dinitrofenol restaura o consumo de oxigênio apenas em um dos casos, mas não tem efeito sobre a inibição da síntese de ATP. Explicar estes resultados.
12. É possível a oxidação contínua de NADH na ausência de ADP?
13. Como é possível utilizar, no citosol, o ATP produzido na mitocôndria?
14. Hemácia e tecido nervoso fazem fosforilação oxidativa?
15. Como o NADH produzido na via glicolítica pode ser oxidado na cadeia respiratória (lançadeira do malato)? **Ler pag. 155 a 158.**
16. Estudar os textos abaixo.

Radicais livres

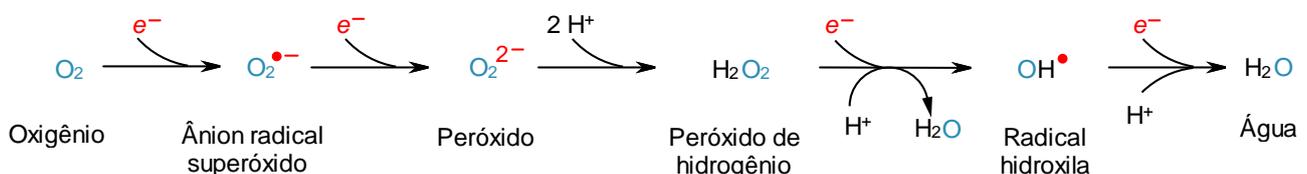
A redução parcial do oxigênio gera radicais livres

Ver o software de Radicais Livres (CD Bayardo)

A transferência de quatro elétrons ao oxigênio, processada no Complexo IV, resulta na sua redução a água, por associação a quatro prótons. Todavia, à medida que os elétrons percorrem a cadeia respiratória, pode haver vazamento de elétrons que promovem a redução monoelétrica do O_2 dissolvido na matriz mitocondrial, originando radicais livres, que podem causar dano severo às células.

Radical livre é uma espécie química capaz de existência independente (daí a denominação *livre*) e que contém um ou mais elétrons não pareados no orbital externo. Essas espécies, em geral, são instáveis (meia vida da ordem de nanossegundos) e altamente reativas; ao reagirem com uma molécula, geram outro radical livre, iniciando uma reação em cadeia. Sua fórmula química é acompanhada de um ponto, representando o elétron não pareado. Alguns exemplos são o *ânion radical superóxido* e o *radical hidroxila*.

A adição de um elétron ao oxigênio molecular origina o ânion radical superóxido que, recebendo um elétron, gera o ânion peróxido; este protona-se, originando o peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio é um oxidante potente e, embora não seja um radical livre, pode originar o radical hidroxila, um dos radicais livres mais reativos conhecidos.



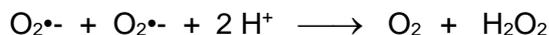
O ânion radical superóxido, o peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila são chamados, conjuntamente, de *espécies reativas de oxigênio* (ROS, da denominação inglesa).

Em contraposição à geração de radicais livres por transferência monoelétrica ao oxigênio dissolvido, a redução do oxigênio a água, catalisada pela citocromo c oxidase, apesar de envolver transferências de *um* elétron, ocorre sem que haja liberação de formas parcialmente reduzidas de oxigênio - os intermediários da reação permanecem firmemente ligados ao centro ativo da enzima, até que a água seja produzida. Por outro lado, há produção do radical superóxido nos Complexos I e III, por reação da forma semiquinona da coenzima Q ou do FMN com oxigênio. Este processo é intensificado quando o gradiente eletroquímico se torna elevado, por falta de ADP: a inibição resultante da cadeia de transporte de elétrons acarreta um aumento da meia vida de intermediários com elétrons não pareados, capazes de reduzir O₂ a O₂^{•-}.

A cadeia de transporte de elétrons mitocondrial é considerada a maior fonte endógena de espécies reativas de oxigênio. Todavia, também são formadas em quantidades significativas nos peroxissomos, no retículo endoplasmático e nas membranas celulares. Fatores exógenos, como radiação cósmica, poluição ambiental e muitas drogas também podem levar à produção de radicais livres.

A formação de espécies reativas de oxigênio é um processo natural e inevitável nos organismos aeróbios. Estima-se que de 0,1 a 2 % do oxigênio consumido por mitocôndrias sejam convertidos em radical superóxido. Pelo dano que as espécies reativas de oxigênio provocam nas moléculas e, por consequência, nas estruturas celulares, presume-se que as células não seriam viáveis se não dispusessem de processos para decompô-las. Realmente, as células aeróbias dispõem de sistemas para a dissipação de radicais livres, que incluem enzimas e antioxidantes de baixa massa molar, e também de proteínas desacopladoras para minimizar a sua produção na cadeia de transporte de elétrons mitocondrial.

A reação de decomposição chama-se *dismutação* e consiste na reação entre dois radicais livres, gerando produtos não radicalares. Uma das enzimas capazes de promover esta reação é a *superóxido dismutase*, que catalisa a dismutação de radicais superóxidos:



A enzima é encontrada em todas as células aeróbias. Coerentemente, as bactérias anaeróbias estritas não sintetizam esta enzima.

A *catalase* decompõe peróxido de hidrogênio em oxigênio e água:



A ação conjunta da *superóxido dismutase* e da *catalase* converte superóxido em água.

Outra enzima que catalisa a redução de H₂O₂ e de peróxidos de lipídios é a *glutathiona peroxidase*.

Além de enzimas, o organismo humano conta com uma segunda linha de proteção contra as espécies reativas de oxigênio: os antioxidantes de baixa massa molar (em comparação com as enzimas). São compostos presentes nos alimentos de origem vegetal, dentre os quais se destacam: as *vitaminas A, C, E*, os carotenos (*β-caroteno*, precursor da vitamina A e *licopeno*), os *polifenóis* (*resveratrol* e *flavonoides*) etc. A eficácia da inclusão intencional de grandes quantidades desses antioxidantes na dieta para impedir os efeitos nocivos das espécies reativas de oxigênio, apesar de intensamente pesquisada, permanece inconclusiva.

Em condições normais do metabolismo celular, os mecanismos de defesa contra radicais livres permitem homeostase. Mas, quando há um aumento na produção dessas espécies, a capacidade protetora das enzimas e dos antioxidantes é ultrapassada, resultando em estresse oxidativo.

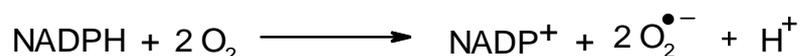
Como as espécies reativas de oxigênio reagem indiscriminadamente com uma grande variedade de componentes celulares e causam danos cumulativos, elas têm sido implicadas na etiologia do envelhecimento, de doenças neurodegenerativas (doenças de Parkinson e de Alzheimer) e cardiovasculares, de câncer etc. Há mais de 30 anos, os antioxidantes vêm sendo

testados como potenciais agentes na prevenção de tais doenças. Entretanto, a conclusão de estudos epidemiológicos amplos em seres humanos é que não trazem benefícios importantes e podem até ser danosos; por exemplo, a vitamina C, em doses elevadas, atua como pró-oxidante. Assim, os conhecimentos atuais não permitem recomendar suplementação desses antioxidantes.

As espécies reativas de oxigênio também têm funções biológicas importantes

O conceito tradicional de que as espécies reativas de oxigênio (ROS) atuam unicamente como agentes oxidantes, levando à disfunção de órgãos e tecidos, tem sido revisto. Na realidade, elas desempenham um duplo papel nas células aeróbias, atuando também como importantes entidades sinalizadoras em diversos processos fisiológicos essenciais. Ainda mais, os organismos são capazes de utilizar a alta reatividade das ROS, de maneira controlada, em situações específicas.

O exemplo clássico de uma função essencial desempenhada pelas ROS é o combate a infecções bacterianas. Nas células do sistema imunológico, como neutrófilos e macrófagos, uma enzima muito ativa, a NADPH oxidase, catalisa a transferência de elétrons do NADPH ao oxigênio, com produção de grandes quantidades de ânion radical superóxido e peróxido de hidrogênio, que eliminam as bactérias fagocitadas:



As NADPH oxidases são uma família de enzimas, cuja função primária é a produção de ROS. Diferem da maioria das enzimas que produzem ROS como um subproduto de sua atividade catalítica normal, como as da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial. A descoberta de que as NADPH oxidases são expressas na maioria das células de mamíferos levou à verificação da participação das ROS na regulação de muitos processos, como migração e proliferação de células, modificação pós-tradução de proteínas, modulação de cascatas de sinalização, síntese de hormônios etc.

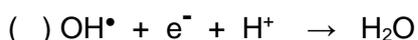
Quando a atividade das enzimas intrinsecamente produtoras de ROS, como as NADPH oxidases, é exacerbada, instala-se o estresse oxidativo e as moléstias a ele associadas. Para combater tais situações, diversos fármacos têm sido testados como inibidores dessas enzimas. A inibição da síntese de ROS seria uma abordagem alternativa à utilização de antioxidantes convencionais para a neutralização dessas espécies já formadas, tendo em vista a baixa eficácia clínica dos antioxidantes convencionais e seus paradoxais efeitos pró-oxidantes.

Ainda em relação à prevenção do acúmulo de ROS, os organismos aeróbios contam com a proteção natural das proteínas desacopladoras (texto seguinte). Elas permitem manter níveis não tóxicos de ROS, mas compatíveis com a participação dessas espécies no controle dos processos citados.

17. Quais as fontes produtoras de radicais livres mais conhecidas?

18. O que caracteriza um radical livre?

19. Ordenar as seguintes reações que descrevem a formação da água a partir do oxigênio e identificar as espécies que são consideradas radicais livres:



20. Em que circunstâncias são formados os radicais livres de oxigênio?

21. Dê exemplos dos efeitos maléficos e benéficos dos radicais livres para o organismo.

22. Citar os mecanismos de defesa e descrever a sua ação sobre os radicais livres.

23. Estudar o texto seguinte.

Proteínas desacopladoras

O transporte de elétrons pode ocorrer sem a síntese de ATP

No início do século XX, foi verificada uma doença grave em trabalhadores da indústria de explosivos que estavam expostos ao contato com ácido pícrico (trinitrofenol). O sintoma mais notável da moléstia, que com frequência levava a óbito, era a hipertermia. Foi este o fato inicial que levou à descoberta de um grupo de substâncias capazes de atuar sobre o acoplamento da síntese de ATP com o transporte de elétrons. Hoje se sabe que algumas substâncias lipofílicas, como o *2,4-dinitrofenol* (*DNP*, de *dinitrophenol*), são capazes de dissociar o transporte de elétrons da fosforilação oxidativa; estas substâncias são chamadas *desacopladores*. Quando os dois processos são totalmente desacoplados, a síntese de ATP para; o transporte de elétrons, termodinamicamente autônomo, pode prosseguir.

Graças ao seu caráter hidrofóbico, o DNP pode atravessar membranas e, como é também um ácido fraco, associa-se a prótons no exterior da mitocôndria (onde o pH é menor), liberando-os na matriz. Impede assim a formação do gradiente de prótons e a energia que seria usada na síntese de ATP é dissipada como calor. Nestas condições, o transporte de elétrons, feito sem o concomitante transporte de prótons contragradiente, torna-se energeticamente mais favorável e sua velocidade aumenta. De fato, medidas experimentais simples mostram que, em presença de desacopladores, uma suspensão de mitocôndrias consome oxigênio com velocidade maior do que na sua ausência. Nos anos que se seguiram a esta descoberta, o DNP chegou a ser usado como agente emagrecedor. A expectativa de sua administração era que, acelerando a oxidação de coenzimas sem a concomitante síntese de ATP, a degradação das reservas lipídicas fosse acelerada, ainda mais porque, com pequena produção de ATP, a síntese das gorduras também seria afetada. Este tipo de tratamento foi logo abandonado, porque levou a alguns acidentes fatais. Posteriormente, verificou-se também que o DNP é um agente mutagênico.

O desacoplamento artificialmente provocado por substâncias como o DNP tem seu correspondente fisiológico. Em uma condição hipotética de acoplamento perfeito, os prótons entram na mitocôndria somente através da ATP sintase, na presença de ADP. Todavia, diversas abordagens experimentais demonstram que as mitocôndrias são capazes de consumir oxigênio, mesmo na ausência de ADP. Como, nesta situação, os prótons não podem entrar via ATP sintase, fica evidenciado que existe um “vazamento” de H^+ através da membrana interna da mitocôndria. O retorno de prótons para a matriz mitocondrial, sem ser pela ATP sintase, diminui a força próton-motriz, levando à dissipação da energia de óxido-redução como calor — a eficiência da fosforilação oxidativa, definida pela razão P/O (p. 148), diminui. O desacoplamento fisiológico resulta de processos diversos que reduzem a eficiência da fosforilação oxidativa, levando à *termogênese*, como, por exemplo, a migração de prótons catalisada por proteínas, diferentes da ATP sintase.

A função biológica do desacoplamento da fosforilação oxidativa é mais bem conhecida no tecido adiposo marrom¹ de mamíferos. A membrana interna das mitocôndrias deste tecido contém, além da ATP sintase, uma proteína transportadora de prótons, denominada *termogenina* ou *proteína desacopladora 1* (*UCP1*, de *Uncoupling Protein 1*). Na presença desta proteína, o gradiente de prótons nunca se estabelece com grande eficácia, e uma fração considerável da energia derivada do transporte de elétrons é continuamente dissipada como calor. Desta forma, a

¹ O tecido adiposo marrom, diferentemente do tecido adiposo típico (ou *tecido adiposo branco*) contém grande número de mitocôndrias e, portanto, alto conteúdo de citocromos, que têm cor marrom.

oxidação de substratos neste tecido corresponde a termogênese, importante na proteção de mamíferos recém-nascidos (os seres humanos inclusive) e animais adaptados a climas frios, hibernantes ou não. O tecido adiposo marrom, além de apresentar numerosas mitocôndrias, com alto conteúdo de UCP1, é densamente innervado e vascularizado, recebendo a maior parte do fluxo sanguíneo corporal. Tais características permitem prover termogênese para todo o organismo.

Há duas hipóteses alternativas para o mecanismo do desacoplamento por UCP1: ela atuaria como um canal de H^+ (os próprios H^+ passariam por um poro existente em sua estrutura) ou como uma translocase, que catalisaria a extrusão de ácidos graxos desprotonados; o retorno dos ácidos graxos na forma protonada para dentro da mitocôndria, por difusão através da bicamada lipídica, resultaria na dissipação do gradiente de H^+ .

Outras proteínas desacopladoras foram identificadas: UCP2 (expressa na maioria dos tecidos), UCP3 (no coração e em músculos esqueléticos), UCP4 e UCP5 (no cérebro). As “novas” UCPs promovem, em relação à UCP1, um desacoplamento discreto. Esta característica seria responsável pelas funções fisiológicas atribuídas a estas proteínas, a saber: promover a termogênese de adaptação à exposição ao frio e durante o jejum (as UCPs são estimuladas por catecolaminas, liberadas nessas condições de estresse); reduzir a produção de espécies reativas de oxigênio, que é proporcional ao potencial de membrana (ao transportarem prótons, fazem diminuir o gradiente eletroquímico, e, portanto, a formação dessas espécies); acelerar o metabolismo oxidativo, graças à estimulação da cadeia de transporte de elétrons.

As UCPs têm sido consideradas um alvo potencial para o desenvolvimento de terapias para o controle da obesidade. Sua ação desacopladora moderada poderia ter um papel importante no controle, a longo prazo (meses ou anos), do peso corpóreo; admite-se que atuariam como mediadoras da regulação da taxa metabólica basal pelos hormônios tireoidianos.

Ver os Vídeos do Dr. Leopoldo De Meis no You tube: A Contração Muscular, partes 1 a 4.

QUESTÕES PARA DISCUSSÃO

1. Escrever a equação geral da oxidação de NADH na cadeia de transporte de elétrons.
2. Problemas 5 a 8 e 10 (p. 344).
3. Descrever as funções das proteínas desacopladoras nos mamíferos.
4. Problemas 12, 13, 15 e 16 (p. 345).
5. Questões da Introdução.

6.7 VIA DAS PENTOSSES FOSFATO

INTRODUÇÃO

A deficiência de glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PD) é o defeito enzimático mais comum na espécie humana, presente em mais de 400 milhões de pessoas. A distribuição da deficiência no mundo coincide com as regiões de prevalência de malária. A malária compensa a deficiência ou a deficiência protege contra a malária?

OBJETIVOS PARA ESTUDO

Ler pag. 159 a 163.

1. A tabela do problema 4 (p. 346) mostra dados sobre a produção de CO_2 em diferentes células.
 - 1a. Que reações produzem CO_2 nos adipócitos, hepatócitos e fibras musculares?
 - 1b. O que se pode deduzir sobre a produção de CO_2 pelas hemácias?
 - 1c. O que é possível deduzir sobre a interferência de F^- na produção de CO_2 ?
2. É possível a conversão de glicose em ribose 5-fosfato na presença de asbesto (amianto), um inibidor da glicose 6-fosfato desidrogenase? E na ausência de nicotinamida?
3. É possível a produção de ribose 5-fosfato a partir de piruvato na presença de asbesto? E na ausência de tiamina?
4. Verificar qual(quais) das seguintes coenzimas tem(têm) ribose em sua estrutura: CoA, ATP, GTP, NADH, FAD.
5. A oxidação da coenzima reduzida formada na via das pentoses é feita da mesma forma no tecido adiposo, no fígado e na hemácia?
6. Há coenzimas com função análoga à do amianto?
7. De que recursos as células dispõem para reverter a formação de pontes dissulfeto nas proteínas?

QUESTÕES PARA DISCUSSÃO

1. Problemas 3, 5, 6 e 7 (p.346).

6.8 TRANSDUÇÃO DE SINAL

Ler também o Capítulo 19- estratégias de regulação do metabolismo

OBJETIVOS PARA ESTUDO

1. Estudar o texto seguinte.

A transdução de sinal é o processo que confere às células a capacidade de receber e processar estímulos recebidos do meio ambiente ou originados do próprio organismo, gerando respostas variadas que incidem sobre a atividade de enzimas, a expressão gênica e a transmissão do impulso nervoso. O circuito que integra este processo é composto do *signal inicial*, do *receptor*, da *transdução propriamente dita*, que consiste na transformação do estímulo em um composto químico, e da *resposta*. A transdução, ou seja, a transformação de um estímulo determinado (físico ou químico) processa-se no nível da membrana plasmática, onde se situam, na maioria dos casos, os receptores.

Os *receptores* são proteínas integrais da membrana celular, portanto com domínios nas porções externa e interna da membrana, que transmitem a informação recebida do exterior para o meio intracelular, sem que o estímulo inicial penetre na célula. Os receptores são específicos para cada estímulo e, quando o sinal é um composto químico, guarda com ele a mesma relação de uma enzima com seu substrato. Muitos receptores são compostos por proteínas transmembrânicas com sete hélices, referidas como 7TM (Figura 1). Esta classe de receptores constitui uma família com mais de 1000 representantes (em mamíferos) e são a “antena” para o recebimento de sinais externos, como fótons (no caso da visão), substâncias voláteis (estímulo para o olfato) moléculas não voláteis (relacionadas ao paladar) ou sinais de origem endógena, como neurotransmissores e hormônios.

Os receptores do tipo 7TM estão associados a uma classe de proteínas, localizadas na face interna da membrana celular, que se ligam e hidrolisam GTP. Por esta propriedade, as proteínas desta família, composta por centenas de membros, são designadas *proteínas G*. O estímulo inicial é chamado *primeiro mensageiro* que, pelos processos que ocorrem na membrana, é traduzido em um *segundo mensageiro*, interno, representado por um composto químico que tem sua concentração alterada.

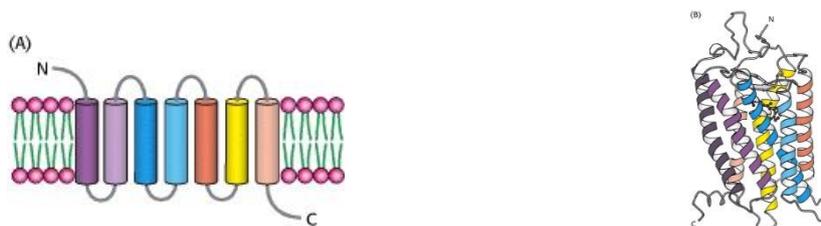


Figura 1 – Representação esquemática de um receptor 7TM e estrutura tridimensional da rodopsina, um receptor deste tipo que faz parte da transdução de sinal que ocorre na visão.

Os segundos mensageiros mais frequentes são o AMP cíclico (cAMP), o GMP cíclico (cGMP), os íons Ca^{2+} , o inositol trisfosfato e o diacilglicerol. A alteração da concentração dos segundos mensageiros provoca, como *resposta* ao estímulo inicial, mudanças na fisiologia celular, devidas à alteração da conformação de proteínas, por fosforilação ou ligação com íons de cálcio ou modificação do funcionamento (abertura ou fechamento) de canais iônicos.

Alguns exemplos, descritos a seguir, ilustram a transdução do sinal, especificando suas partes componentes.

Visão

Na membrana celular dos cones está presente uma proteína 7TM chamada *rodopsina*, composta por uma porção proteica, a opsina, que tem 11-*cis*-retinal como grupo prostético. Esta molécula fotossensível é o pigmento visual, assim chamado por sua propriedade de absorver luz. A absorção de um fóton pelo 11-*cis*-retinal provoca sua isomerização para uma forma toda *trans*, provocando uma alteração na estrutura da rodopsina. Esta nova forma da proteína ativa uma proteína G, previamente ligada a GDP. Pela ativação, há uma troca de GDP por GTP. A subunidade α da proteína G desliga-se das demais, β e γ , e liga-se à cGMP fosfodiesterase, ativando-a. Esta ativação provoca a redução do nível celular de cGMP, o que, por sua vez, provoca o fechamento de canais iônicos dependentes de cGMP. O fechamento do canal leva à hiperpolarização da membrana resultando em um potencial de ação que inicia o impulso nervoso que, processado pelo sistema nervoso central, constitui a visão. Neste exemplo verificam-se duas transduções de sinal: a transformação de um estímulo físico (o fóton) em redução de um composto químico (cGMP) e a conversão desta diminuição de concentração em um estímulo elétrico.

Olfato

Na membrana dos cílios dos neurônios olfativos, situados no epitélio olfativo do nariz está presente uma proteína 7TM, que constitui um receptor olfativo. Esta proteína também está ligada a uma proteína G intracelular. A ligação de um odorante ao receptor provoca a alteração de estrutura do receptor e conseqüente alteração da conformação da proteína G a ele associada. O resultado da ligação é a formação de grandes quantidades do segundo mensageiro, neste caso, o cAMP. Isto ocorre porque a proteína G ativada, antes ligada a GDP, troca este nucleotídeo por GTP. A troca provoca a dissociação da subunidade α das outras duas, β e γ . A subunidade α ligada a GTP ativa uma enzima de membrana, a adenilato ciclase, responsável pela produção de cAMP a partir de ATP. A grande concentração de cAMP é a responsável pela ativação do neurônio olfativo, na forma de um sinal elétrico enviado ao cérebro. Neste caso, há também duas transduções de sinal: a ligação do odorante levando ao aumento da concentração de cAMP e o aumento da concentração do cAMP provocando o impulso nervoso.

Nos dois exemplos relatados, o resultado do estímulo inicial foi um impulso nervoso. No caso de estímulos gerados no próprio organismo, o resultado é a modificação da fisiologia celular. Esta é a situação dos hormônios a ser estudada a seguir.

Responder os seguintes objetivos com base na Seção 19.3 (à p. 262).

2. Definir primeiro e segundo mensageiros, quando se refere à ação hormonal.
3. Verificar a fórmula do AMP cíclico (cAMP) e escrever a equação química de sua síntese, catalisada pela adenilato ciclase.
4. Escrever a equação que converte cAMP em AMP. Justificar o nome da enzima que catalisa esta reação.
5. Como é ativada a adenilato ciclase?
6. Definir proteína G e mostrar a relação desta proteína com o receptor hormonal. Qual a consequência da ligação do hormônio ao receptor sobre a proteína G?
7. Escrever a equação química da reação catalisada pela proteína quinase.
8. Qual é a relação entre a proteína quinase e o cAMP?
9. Qual é a consequência da reação catalisada pela proteína quinase sobre a atividade de uma enzima?
10. Uma vez que a reação catalisada pela proteína quinase é irreversível, a modificação provocada por esta reação em uma enzima é definitiva?
11. **Estudar o *software* Sinalização hormonal via cAMP. Ver o vídeo no Youtube: #yourbrainon caffeine (fala dos efeitos da cafeína no cérebro).**

6.9 GLICOGÊNIO

INTRODUÇÃO

Entre os caçadores existe uma regra determinando que os animais devem ser abatidos antes que corram, para que sua carne não tenha sabor azedo. Por outro lado, a carne dos mesmos animais, criados em cativeiro, nem sempre é apreciada, por ter sabor adocicado. Por que a carne dos mesmos animais pode ter sabor diferente?

Ler Capítulo 13- pag. 164 a 168; Ler Capítulo 20- pag. 275 a 280

OBJETIVOS PARA ESTUDO

1. Definir polissacarídeo e citar exemplos de polissacarídeos de reserva e estruturais.
2. Em que diferem, estruturalmente, o glicogênio, o amido e a celulose?
3. Por que glicogênio e amido são alimentos para o homem, e a celulose não é?
4. As duas extremidades da cadeia de glicogênio são idênticas? Todas as ligações glicosídicas encontradas no glicogênio são do tipo α -1-4 ou α -1-6. Correto?
5. Quais são as diferenças entre as reações de degradação intracelular e digestiva do glicogênio quanto aos reagentes e produtos?
6. Escrever as reações catalisadas por
 - 6a. Proteína quinase
 - 6b. Fosfoproteína fosfatase
 - 6c. Glicogênio fosforilase quinase
 - 6d. Glicogênio sintase quinase
 - 6e. Glicogênio fosforilase
7. A degradação do glicogênio hepático inicia-se com o estímulo de glucagon. Descrever os eventos que ocorrem no hepatócito desde a ligação do glucagon ao receptor até o aumento da concentração intracelular de cAMP. (**Procurar no Capítulo 20**)
8. Mostrar a consequência do aumento da concentração intracelular de cAMP sobre a atividade da proteína quinase.
9. Que enzima relacionada com a degradação do glicogênio é fosforilada pela proteína quinase?
10. É possível a degradação de glicogênio na ausência de ATP?
11. Quando há estímulo de glucagon, que açúcar fosforilado tem sua concentração intracelular aumentada?
12. A glicogênio fosforilase só atua em ligações α 1 \rightarrow 4. Como são degradadas as ramificações da molécula de glicogênio?
13. Qual o efeito da ativação da fosfodiesterase (com consequente diminuição dos níveis de cAMP) sobre a degradação do glicogênio a glicose 1-fosfato?
14. Descrever o efeito do glucagon sobre a atividade da fosfofrutoquinase 2 e mostrar a consequência deste efeito sobre a atividade da via glicolítica.
15. Mostrar as transformações que permitem a utilização de glicose 1-fosfato
 - 15a. pela via glicolítica;
 - 15b. para a exportação do hepatócito.
16. O glucagon estimula a gliconeogênese.
17. Como são desfosforiladas as enzimas, quando cessa o efeito do glucagon? Se a célula contém proteína fosfatase, como é possível manter proteínas fosforiladas?

18. Escrever a reação catalisada pela glicogênio sintase.
19. Como são feitas as ramificações na cadeia do glicogênio?
20. Quanto ATP é gasto para aumentar de um monômero a cadeia de glicogênio, a partir de glicose?
20. Qual é a relação entre AMP cíclico e a síntese de glicogênio?
21. Descrever a ação da insulina sobre o metabolismo de carboidratos quanto à:
 - 21a. permeabilidade da célula à glicose
 - 21b. síntese de glicogênio
 - 21c. síntese de glicoquinase (fígado)
22. Reservas de glicogênio de um adulto normal: cerca de 100 g no fígado e 300 g no músculo. A glicemia é mantida exclusivamente pelo glicogênio hepático até 8 horas após a última refeição.
23. Em situação de hiperglicemia o pâncreas libera insulina e de hipoglicemia, libera glucagon.
24. Ler o texto a seguir: **Transportadores de glicose**.

Transportadores de glicose

A insulina aumenta o transporte de glicose para o interior das células

O transporte de glicose através da membrana plasmática das células de mamíferos é um processo passivo, catalisado por uma família de permeases, denominadas *GLUT* (de **Glucose Transporter**) 1 a 12, segundo a ordem de sua descoberta. Estes transportadores diferem quanto à distribuição pelos tecidos, às propriedades cinéticas e à especificidade em relação ao substrato (alguns transferem também outros açúcares); são, ainda, sensíveis ou não à insulina.

O grupo mais bem caracterizado de GLUTs compreende GLUT 1 a 4. *GLUT 1*, 3 e 4 são proteínas com alta afinidade por glicose exibindo valores de K_M entre 2 e 4 mM, que se situam abaixo do intervalo normal de concentração de glicose sanguínea que se estende de 5 a 8 mM - são responsáveis pela captação basal do açúcar. *GLUT 2* tem baixa afinidade por glicose, com K_M entre 15 e 25 mM, contribuindo para a captação de glicose apenas quando a glicemia aumenta, como após as refeições. Das quatro permeases referidas, somente *GLUT 4* é dependente de insulina.

GLUT 1 tem distribuição ubíqua, sendo mais abundante em células que obtêm energia exclusivamente a partir de glicose, como hemácias e cérebro; ocorre também em quantidades moderadas no tecido adiposo, músculos e fígado.

GLUT 2 é expresso primariamente nas células β do pâncreas e no fígado. Em hiperglicemia, a velocidade do transporte de glicose por *GLUT 2* é diretamente proporcional à concentração do substrato (K_M muito acima da glicemia normal), ao passo que os outros transportadores do grupo estão saturados, funcionando em velocidades constantes. Por esta razão, *GLUT 2* atua como um sensor de glicose nas células β do pâncreas - no estado pós-prandial, quando a glicemia aumenta, essas células respondem com liberação de insulina. O fígado tem uma situação especial no que se refere à dependência de insulina: embora *GLUT 2*, que medeia a entrada de glicose, seja insensível ao hormônio, o fígado depende da insulina para a síntese de glicoquinase, sem a qual não pode utilizar a glicose. *GLUT 2* é ainda encontrado no intestino e rins, onde também transporta frutose.

GLUT 3 é o principal transportador do cérebro. Sua alta afinidade pelo substrato (tem o menor K_M para glicose) é coerente com a necessidade de glicose pelo cérebro, garantindo a utilização mesmo quando a glicemia é baixa.

GLUT 4 catalisa o transporte de glicose nos tecidos adiposo e muscular, que pode ser aumentado por insulina de 10 a 20 vezes, em poucos segundos. A transferência de glicose para o interior dessas células resulta em diminuição do aumento pós-prandial do nível de glicose plasmática, o efeito mais rápido e marcante da insulina. GLUT 4 fica armazenado em vesículas citosólicas que, na presença de insulina, são deslocadas para a membrana plasmática, com a qual se fundem por exocitose, posicionando GLUT 4 na membrana. O estímulo da entrada de glicose deve-se, portanto, ao maior número de moléculas de GLUT presentes na superfície celular.

A atividade física promove igualmente o deslocamento de GLUT 4 do interior da célula para a membrana, aumentando a permeabilidade das fibras musculares à glicose. Este efeito permanece normal na vigência da resistência à insulina e, por esta razão, o exercício é recomendado para o controle da glicemia em portadores de diabetes. Diversas hipóteses têm sido propostas, mas ainda não totalmente comprovadas, para explicar este resultado do exercício.

A insulina facilita ainda o transporte de aminoácidos para as células, particularmente as musculares.

QUESTÕES PARA DISCUSSÃO

1. Calcular o rendimento em ATP resultante da conversão de um resíduo de glicose, presente no glicogênio, a lactato.
2. Calcular o número de moléculas de ATP necessárias para ativar uma molécula de glicogênio fosforilase, considerando todo o gasto feito a partir da ligação do hormônio ao seu receptor. Comparando o resultado obtido neste item com o resultado do item 1, explicar porque o processo de degradação do glicogênio é vantajoso para a fibra muscular que realiza uma contração anaeróbia.
3. Problemas 1 a 6 (p. 347).

6.10 SÍNTESE DE LIPÍDIOS

INTRODUÇÃO

Um paciente que apresentava uma hipercolesterolemia importante foi aconselhado a suprimir completamente da dieta os alimentos que contêm colesterol. Mesmo tendo seguido rigorosamente a recomendação, seus níveis plasmáticos de colesterol mantiveram-se altos. Com a administração de estatina, o paciente teve os níveis de colesterol normalizados. Por que os níveis de colesterol plasmáticos não diminuíram com a supressão de colesterol da dieta? Qual foi a ação da estatina?

OBJETIVOS PARA ESTUDO

Ler pag. 204 a 208. Pag 210 a 215 (síntese de triacilgliceróis e colesterol).

1. Por que grande concentração mitocondrial de ATP provoca o aumento da concentração de acetil-CoA citosólica?
2. Que semelhança existe entre as reações catalisadas pela enzima málica e pela glicose 6-fosfato desidrogenase?
3. Por que a síntese de malonil-CoA é favorecida quando a concentração citosólica de citrato é elevada?
4. Apontar semelhanças e diferenças na estrutura e na função de ACP e coenzima A.
5. Se a síntese do ácido graxo fosse feita a partir de acetil-CoA marcada com ^{14}C , quais carbonos apareceriam marcados?
6. Quantas moléculas de glicose precisariam ser oxidadas a glicono- δ -lactona-6-fosfato para gerar os equivalentes redutores necessários à síntese de palmitato?
7. É possível sintetizar ácidos graxos a partir de glicose, com a fosfofrutoquinase 1 inibida?
8. O organismo humano é capaz de sintetizar todos os ácidos graxos de que necessita?
9. Em que tecidos ocorre a biossíntese de ácidos graxos?
10. Como o fígado e o tecido adiposo obtêm glicerol 3-fosfato?
11. O que impede a síntese e degradação simultâneas de ácidos graxos?
12. Citar o precursor básico e as coenzimas necessárias para a síntese de colesterol. Analisar a regulação desta via. **(Capítulo 20)**
13. Como a hipoglicemia e uma descarga de adrenalina interferem no metabolismo de triacilgliceróis?
14. A insulina estimula a síntese de triacilgliceróis.

QUESTÕES PARA DISCUSSÃO

1. Problemas 2 a 5 (p. 349) e problema 8 (p. 348).

6.11 METABOLISMO DE AMINOÁCIDOS

INTRODUÇÃO

A doença de Parkinson compromete o sistema nervoso central; a fenilcetonúria causa severo retardo mental e o albinismo impede a síntese de melanina. Estas moléstias estão relacionadas a defeitos no metabolismo de aminoácidos. Entretanto, as intervenções terapêuticas, quando possíveis, são muito diferentes. Por quê?

OBJETIVOS PARA ESTUDO

Ler pag. 216 a 224; Pag. 227; Pag. 234 a 239.

1. Esquematizar as reações catalisadas por aspartato aminotransferase (glutâmico-oxaloacético transaminase - GOT) e alanina aminotransferase (glutâmico-pirúvico transaminase - GTP). Citar a coenzima que participa das reações e a vitamina presente na sua estrutura.
2. Esquematizar a reação catalisada pela glutamato desidrogenase.
3. Verificar o destino dos esqueletos de carbono dos aminoácidos em seu catabolismo e indicar aqueles que podem originar glicose.
4. O nitrogênio presente em todos os compostos biológicos provém de aminoácidos. Exemplos destes compostos e seus precursores:

Compostos	Aminoácido precursor
Purinas, pirimidinas	Aspartato
Purinas, porfirina, glutationa	Glicina
Histamina	Histidina
Carnitina	Lisina
Adrenalina, tiroxina, melanina	Tirosina
Nicotinamida	Triptofano

5. Quais as consequências de mutações no gene da fenilalanina hidroxilase?
6. Definir aminoácido essencial e citar os aminoácidos essenciais para o homem.
7. Citar o principal produto de excreção de nitrogênio no homem e o órgão que o produz.
8. Esquematizar a reação de formação de carbamoil fosfato catalisada por carbamoil fosfato sintetase.
9. No ciclo da ureia,
 - 9a. indicar a procedência dos átomos de nitrogênio da molécula de ureia;
 - 9b. calcular o balanço de ATP;
 - 9c. indicar o aminoácido proteico sintetizado.
10. Uma dieta hipercalórica afeta o equilíbrio nitrogenado de um indivíduo adulto e hígido?
11. Uma dieta hipocalórica afeta o balanço de nitrogênio?
12. A insulina aumenta a permeabilidade celular a aminoácidos e estimula a síntese de proteínas.

QUESTÕES PARA DISCUSSÃO

1. Um adulto normal, com uma dieta desprovida de proteínas, elimina ureia. Por quê?
2. Um adulto normal, com uma dieta rica em carboidratos e lipídios, tem necessidade de ingestão proteica. Por quê?
3. Problemas 1 - 4 e 6 – 11, (p. 350).

4. Comparar a qualidade nutricional de proteínas animais e vegetais.
5. Resolver a questão da Introdução.

NUTRIÇÃO

Estudar o **Capítulo 18** – Os substratos das vias metabólicas: Nutrição (p. 243), com atenção para as definições de *kwashiorkor* e *marasmo*. Como estes quadros podem ser revertidos?

Estudar o **Capítulo 19** - Adrenalina, glucagon e insulina

Estudar o **Capítulo 21** – Regulação Integrada do Metabolismo (p.296).

Estudar o texto **DIABETES MELLITUS (p. 48)**, definindo diabetes tipo I e tipo II.

6.12 PROBLEMAS DE METABOLISMO

QUESTÕES PARA DISCUSSÃO

1. Verificar quais das afirmações abaixo são verdadeiras e quais são falsas quando referentes a um portador de diabetes tipo I, não tratado. Critique a justificativa, verificando se a explicação é correta.
 - 1a. O tecido muscular realiza β -oxidação *porque* o nível plasmático de ácidos graxos está elevado.
 - 1b. O nível plasmático de ácidos graxos está elevado *porque* a lipase dos adipócitos está na forma ativa.
 - 1c. O paciente vai ganhar peso *porque* sua glicemia permanece alta.
 - 1d. Haverá intensificação do ciclo de Krebs, no tecido muscular, *porque* a glicemia está elevada.
 - 1e. A produção de corpos cetônicos intensifica-se nos períodos de jejum prolongado *porque* há necessidade de fornecer estes compostos para o cérebro.
2. Problemas 3, 4, 6, 7, 9 e 10 (p. 351, 352).
3. Problemas 12 a 14 (p. 352)
4. Estabelecer a diferença entre marasmo e *kwashiorkor*. Como estes quadros podem ser revertidos?
5. Estudar o texto seguinte, definindo diabetes tipo I e tipo II.

DIABETES MELLITUS

Diabetes mellitus é uma doença que ocorre devido a anomalias no metabolismo e pode comprometer o funcionamento de rins, olhos, nervos e vasos sanguíneos. É uma doença que pode ser definida como um estado de tolerância diminuída à glicose, usualmente devido à deficiência ou resistência à insulina.

Há dois tipos mais comuns de *diabetes mellitus* (DM):

Tipo I, também chamada de DM insulina dependente (DMID),

Tipo II, ou DM não dependente de insulina (DMNDI).

Antes de verificar as diferenças e semelhanças nas manifestações desses dois tipos de diabetes, vamos lembrar os efeitos da insulina:

Esse hormônio, por ação direta,

- aumenta o transporte de glicose para o fígado, músculo e tecido adiposo e outras células;
- aumenta o transporte de aminoácidos para os músculos e outros tecidos;
- diminui a atividade da triacilglicerol lipase no tecido adiposo, inibindo a mobilização de ácidos graxos;
- aumenta a síntese de proteína, lipídeo e glicogênio em proporções variadas, dependendo do tecido.

Por ação indireta:

- antagoniza os efeitos de glucagon no fígado pela inibição da proteína quinase dependente de cAMP;
- diminui os níveis de cAMP nos hepatócitos por ativação da fosfodiesterase;
- diminui a quantidade de glucagon circulante por diminuição da expressão gênica.

***Diabetes mellitus* insulino dependente (DMID) ou Tipo I.**

10 a 20% dos casos de diabetes são do tipo I. Ela tem início entre a infância e 35 anos e tem um componente genético (40% dos gêmeos idênticos de uma pessoa portadora de DMID adquirirá a doença), embora não só a genética possa explicá-la. Evidências implicam a infecção viral e resposta autoimune como maiores fatores contribuintes.

A DMID é causada pela grande redução ou ausência da produção de insulina e o indivíduo adquire um estado de hiperglicemia sustentada, caso não seja tratado. Um indivíduo normal mantém os níveis plasmáticos normais de glicose convertendo-a em glicogênio, oxidando-a para gerar energia ou usando-a para síntese de outros compostos. O desarranjo de todas essas reações é encontrado no diabético. Assim, ele desperdiça glicose eliminando-a na urina; ele perde peso, pois não há mais a ação antilipolítica da insulina e há perda de proteína muscular, cujos aminoácidos são usados na gliconeogênese.

Quando os níveis de glicose sobem, o rim não consegue reabsorvê-la e ocorre glicosúria. Como tudo que tem que ser excretado na urina deve estar solubilizado, qualquer incremento é acompanhado por perda de água.

A falta de insulina acarreta aumento na concentração de glicose nos compartimentos extracelulares do músculo e adipócito, com conseqüente aumento da pressão osmótica. Devido a isso, água intracelular é perdida para o interstício resultando em desidratação celular, diluição dos eletrólitos extracelulares e maior concentração dos intracelulares.

A perda de peso é decorrente de perda de tecido muscular e adiposo, bem como da perda de água. Ocorre cetoacidose, devido à alta lipólise com conseqüente produção de corpos cetônicos e fraqueza, pela perda de eletrólitos, principalmente potássio.

Diabetes mellitus não dependente de insulina (DMNDI) ou Tipo II.

Presente em 80 a 90 % dos diabéticos, com alto fator genético (100% dos irmãos gêmeos idênticos de um diabético tipo II desenvolverão a doença). Os pacientes apresentam normalmente níveis normais ou elevados de insulina, sugerindo que não há a utilização correta do hormônio pelo organismo, provavelmente por defeito nos receptores de insulina nas células. DMNDI geralmente é diagnosticada após os 40 anos de idade em pessoas com obesidade e que tenham parentes diabéticos. Não há relação necessária entre diabetes tipo I e obesidade. O que há no diabetes tipo II é uma relativa resistência ao desenvolvimento de cetose, baseado numa relativa, mas não absoluta, deficiência de glicose. Assim, pacientes com DMNDI podem manifestar hiperglicemia não acompanhada de um correspondente grau de cetose. Nos diabéticos tipo II, a cetose pode aparecer em certas condições de estresse metabólico, como sépsis. Atualmente, considera-se que não existem apenas duas situações extremas: cetoacidose diabética ou hiperglicemia não cetônica, ocorrendo, na verdade, toda uma gama de variação das intensidades dos dois sintomas.

Diagnóstico

Para diagnosticar diabetes tipo I em estado agudo basta demonstrar que as observações clínicas como perda de peso, poliúria (aumento na quantidade de urina) e polidipsia (sede) são acompanhadas por testes laboratoriais positivos para hiperglicemia, cetoacidose e glicosúria.

Diabetes tipo II é mais certamente diagnosticada por uma demonstração da tolerância diminuída à glicose. O indivíduo ingere uma solução contendo 75g de glicose e o diabetes tipo II é diagnosticado quando uma dessas situações ocorre: o nível plasmático de glicose em jejum é maior que 140 mg/dL ou glicose em jejum é normal, atingindo 200mg/dL após 2h de ingestão da solução de glicose. No período inicial da doença observa-se glicemia de jejum normal e após 2h valores entre 140 e 200 mg/dL.

A tabela da página seguinte apresenta um resumo das diferenças entre os dois tipos de diabetes.

Tratamento

Depende do tipo de diabetes. Tipo I é, ou tornar-se-á, dependente de insulina por toda a vida. Deve haver reposição adequada de Na^+ e água.

No tipo II, a perda de peso já pode influenciar a capacidade do corpo de controlar o nível de glicose. Agentes hipoglicemiantes orais (geralmente aumentam secreção de insulina pelas células β) pode ajudar obesos ou não. Alguns pacientes podem necessitar injeções de insulina. Nesses pacientes dieta e exercícios físicos são um bom meio de alcançar o controle da glicemia.

Coma diabético

A glicose sanguínea em concentrações maiores que o limite de reabsorção renal provoca uma rápida diurese osmótica, que leva a perda de água e eletrólitos. Há tendência a hipovolemia e deslocamentos de água intracelular para o espaço extracelular. Tanto a hiperglicemia como a hipernatremia afetam muito o cérebro. Aumentando a osmolaridade plasmática, a água move-se para fora das células cerebrais, causando desidratação celular. Quando a osmolaridade alcança 340 a 350 mili-osmol/kg, a consequência mais provável é o coma.

	Tipo I –DMID	Tipo II - DMNDI
Idade de início	Em geral infância ou puberdade	Em geral após 35 anos
Início	Em geral repentino	Lento, silencioso
Estado nutricional no início	Em geral desnutrido	Em geral obesidade
Prevalência	10 a 20% dos casos	80 a 90% dos casos
Predisposição genética	Moderada	Muito forte
Defeito ou deficiência	Cel. β destruídas, sem produção de insulina	Cel. β produzem menos ou igual insulina.
Outros fatores	Vírus e toxinas	Obesidade
Insulina plasmática	Baixa a ausente	Normal a elevada
Sintomas iniciais	Poliúria, polidipsia, perda de peso, fome, cetoacidose comum	Nenhum ou os mesmos do tipo I mais suaves
Cetose	Comum	Rara
Efeitos a longo prazo	Retino-, nefro- e neuropatia; surgimento após 5 anos	Complicações similares a tipo I, mais tardias
Complicações agudas	Cetoacidose	Coma hiperosmolar
Resposta a hipoglicemiantes orais	Não responde	Responde
Administrar insulina	Sempre necessário	Em geral não necessário

Complicações decorrentes do diabetes

A ultraestrutura de todas as doenças decorrentes do diabetes tem em comum apresentar depósito de proteínas contendo carboidratos nos vasos sanguíneos. Uma explicação para isso é haver glicosilação de proteínas, que ocorre principalmente no grupo ϵ -amino da Lys. Essas proteínas ficam com conformação alterada e são mais resistentes ao ataque proteolítico.

Diabéticos podem desenvolver retinopatia (principal causa de cegueira), nefropatia, neuropatia e doenças cardiovasculares.

A retinopatia é quase universal entre os diabéticos, enquanto o desenvolvimento de doença renal de estágio final ocorre em 35 a 45 % dos portadores de DMID e em menos de 20% daqueles com DMNDI. Quando essa doença se desenvolve o paciente necessita de hemodiálise e transplante renal.

A neuropatia de nervos periféricos é comum em diabéticos, principalmente a neuropatia simétrica, que causa a perda de sensibilidade nas extremidades inferiores, tornando os pacientes propensos a lesões nas pernas e pés, com alta incidência de gangrena e amputação.

A glicosilação de lipoproteínas plasmáticas leva à sua ligação com o endotélio vascular, provocando aterosclerose e doença periférica vascular. A dosagem de hemoglobina glicosilada plasmática é um teste mais sensível que a medida de glicemia. Faça hipóteses para explicar esse fato.

COMPOSIÇÃO DE ALGUNS ALIMENTOS (%)

Alimentos	Kcal	H ₂ O (%)	Proteína (g)	Gordura (g)	Carboidrato (g)
Arroz polido	360	12	7	0,6	80
Arroz integral	360	13	7	1,5	78
Feijão	340	12	22	1,6	60
Soja	400	9	33	16	36
Milho	360	10	9	4,3	74
Carne de boi	113	75	22	2,4	-
Carne de porco	216	67	16	17	-
Carne de frango	170	70	18	10	-
Fígado	134	71	20	4,0	4
Bagre	136	75	18	7,0	-
Leite (vaca)	67	87	3	4,0	5
Manteiga	465	41	1	50	5
Margarina	720	16	1	80	-
Queijo fresco	145	70	15	7	5
Ovo (inteiro)	148	75	11	10	3
Clara	53	87	11	0,2	1
Gema	340	51	16	29	2
Batata	80	78	3,0	0,2	18
Abóbora	35	89	2,0	0,2	8
Espinafre	30	90	3,0	0,7	5
Couve	44	85	4,5	0,7	7,5
Alface	15	95	1,3	0,2	3
Banana (nanica)	97	72	1,4	0,2	25
Laranja	42	88	1,0	0,2	11
Mamão	32	90	0,5	0,1	8
Manga	60	83	0,5	0,2	16
Uva	68	82	0,6	0,7	17
Melancia	22	94	0,5	0,1	5
Coco	300	55	3,5	27	14
Pão francês	308	21	12,1	2,2	63,2
Pão preto	226	39	10,1	3,4	45,1

Para uma tabela completa consultar:

<http://www.fcf.usp.br/tabela/>

ANEXO 1

PROTEÍNAS FIBROSAS

Tendem a formar fibras alongadas. As classes mais conhecidas são as queratinas (que podem ser α ou β queratinas, as sedas e os colágenos).

Queratina

A α -queratina está presente em pele, cabelo, pelos, chifres e cascos de mamíferos, enquanto a β -queratina faz parte de bicos e penas de aves. α -queratinas possuem um heptapeptídio (*a-b-c-d-e-f-g*) que faz uma pseudorrepetição ao longo da cadeia, de modo que os aminoácidos *a* e *d* são sempre hidrofóbicos. Como eles ficam do mesmo lado da hélice, duas cadeias tendem a se associar, formando o que se denomina uma *coiled-coil*. A α -queratina é rica em resíduos de cisteína, que formam pontes de dissulfeto entre hélices adjacentes. Essas hélices ficam embebidas em uma matriz amorfa de proteínas. Elas são classificadas como queratinas moles ou duras de acordo com o conteúdo de pontes de dissulfeto que possuem, o que está relacionado com o número de resíduos de cisteína. As α -queratinas podem ser estendidas em maior ou menor extensão, também dependendo do conteúdo de cisteína. Quando submetidas a uma tração, as ligações de hidrogênio que mantêm as hélices podem se quebrar e a molécula assume uma conformação mais estendida, em folha β -pregueada. Quando a tensão termina, ela tende a voltar a sua forma original, devido à presença das pontes de dissulfeto.

Sedas

A seda apresenta resistência e grande flexibilidade, mas pouco poder de distensão. As cadeias da seda são compostas principalmente de resíduos de Gly, Ala e Ser, na proporção de 3:2:1, que se repetem na sequência Gly-Ser-Gly-Ala-Gly-Ala. Estas cadeias formam folhas β que correm em sentido antiparalelo, com todas as Gly de um lado da cadeia β e todas as Ser e Ala do outro, sendo bastante ordenadas. As cadeias polipeptídicas da seda são unidas por ligação de hidrogênio em uma dimensão (entre folhas β) e por forças de van der Waals na outra, o que confere grande flexibilidade. Como a conformação β já é estendida, as fibras de seda não se distendem. Em algumas regiões, entretanto, a presença de aminoácidos de cadeia lateral maior (Tyr, Val, Asp e Arg) desordena as fibras e permite uma certa elasticidade. A proporção entre regiões ordenadas e amorfas permite que sedas de diferentes espécies (aranhas, bicho da seda e outros insetos) apresentem propriedades mecânicas diferentes.

Colágeno

Ocorre em todos os organismos multicelulares e é a proteína mais abundante em vertebrados. É uma proteína extracelular que se organiza em fibras insolúveis com alta resistência a tensões, por isso é o principal componente antiestresse dos tecidos conectivos tais como osso, dente, cartilagem, tendão, ligamentos e matrizes fibrosas da pele e vasos. Os mamíferos têm cerca de 33 tipos diferentes de colágeno. O colágeno é uma tripla hélice e tem quase um terço de resíduos de Gly, 15% a 30% de Pro e Hidroxiprolina (Hyp). Hyp, que é sintetizada a partir da prolina por ação da prolil hidroxilase, confere estabilidade ao colágeno, provavelmente através de ligações de hidrogênio intramoleculares, que envolvem ancoragem de moléculas de água.

Cada cadeia do colágeno bovino, que é semelhante a muitos outros colágenos, tem uma sequência que se repete, formada por Gly-X-Y (X e Y representam qualquer aminoácido). Na tripla

hélice, cada terceiro resíduo da cadeia passa pelo centro da tripla hélice, sendo que somente a cadeia lateral da Gly cabe nesse local.

A insolubilidade do colágeno em solventes que rompem ligações de hidrogênio e interações iônicas é explicada por ligações covalentes tanto intra quanto intermoleculares. Estas ligações vêm de reações entre as cadeias laterais Lys e His. O grau dessas ligações aumenta com a idade do organismo. Essa é a causa de carnes de animais mais velhos serem mais duras que as de animais mais novos, mas já foi demonstrado que essa não é a causa do envelhecimento.

As fibrilas de colágeno se associam de maneira a refletir a função dos diferentes tecidos. Na pele elas estão dispostas em vários ângulos, podendo essa suportar tensões em duas dimensões. Nos tendões elas estão arranjadas em feixes paralelos, que funcionam como cabos que conectam os músculos e ossos, suportando tração em uma só dimensão. Já na cartilagem, não há um arranjo distinto e ela pode sofrer tensões nas três dimensões.

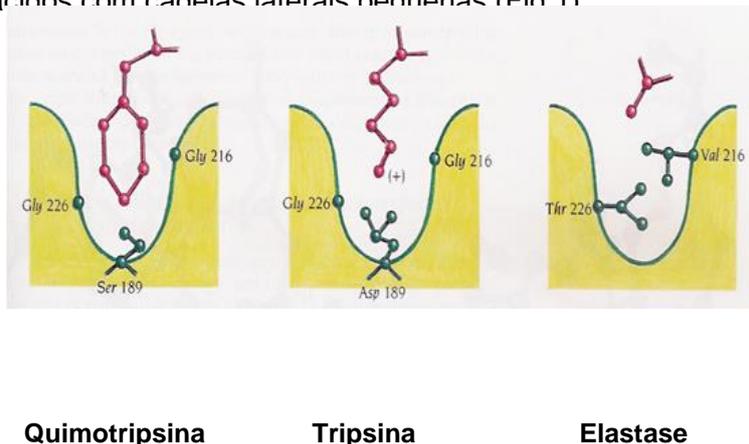
Há várias doenças genéticas relacionadas a mutações na molécula de colágeno ou no modo como as fibrilas são formadas. Mutações no colágeno tipo I (principal proteína estrutural nos tecidos humanos) levam a osteogênese imperfeita. Mesmo a substituição de um só aminoácido pode ser letal. A substituição de uma Gly central por Ala pode diminuir a temperatura de desnaturação do colágeno de 62 °C para 29 °C. Mesmo que só um dos alelos tenha sofrido a mutação, ela tende a afetar todas as fibras de colágeno, pois elas serão compostas por várias moléculas de proteína. Colágeno desnaturado pelo calor é conhecido como gelatina.

ANEXO 2

MECANISMO E ESPECIFICIDADE DE SERINA-PROTEINASES

Para discutir as relações entre estrutura, mecanismo de catálise e especificidade de enzimas, tomaremos como modelo as proteinases que têm uma Ser muito reativa no sítio ativo (por isso chamadas de serina-proteinases) e um mecanismo catalítico comum. Estas enzimas têm a função de degradar outras proteínas, daí o nome *proteinase*. Entre elas, as melhor caracterizadas são a quimotripsina, a tripsina e a elastase. A última tem esse nome porque é capaz de digerir a proteína de tecido conjuntivo chamada elastina, que praticamente não é clivada por outras proteinases, porque possui grande quantidade de Gly, Ala e Val. As três enzimas são proteinases digestivas produzidas pelo pâncreas e secretadas para o duodeno.

Bolso de especificidade: As três enzimas clivam ligações internas de cadeias polipeptídicas do substrato e essa clivagem é feita na amida que forma a ligação peptídica. A ligação é muito estável e, na ausência de um catalisador, sua meia vida de hidrólise em pH neutro é de 10 a 1000 anos. A especificidade das proteinases difere pelo tipo de resíduo de aminoácido que contribuiu com a carboxila na formação da ligação peptídica. Os resíduos devem ser volumosos e hidrofóbicos para que a quimotripsina tenha atividade; carregados positivamente para sofrer ação da tripsina e pequenos e neutros para que a ligação seja clivada pela elastase. Essas preferências são um reflexo dos aminoácidos que compõem o bolso de especificidade, localizado próximo aos resíduos catalíticos. Na quimotripsina, no fundo de um desses bolsos, há um resíduo de Ser, que é substituído por um resíduo de Asp na tripsina. Já na elastase, as paredes laterais possuem aminoácidos volumosos no lugar das Gly presentes nas outras duas enzimas, permitindo somente a entrada de aminoácidos com cadeias laterais pequenas (Fig 1)



Quimotripsina

Tripsina

Elastase

Fig. 1. Sítios que conferem especificidade a diferentes serina-proteinases. Reproduzido de Branden, C., Tooze, J. (1999) Introduction to Protein Structure. 2nd ed. Garland, New York.

Mecanismo de ação da quimotripsina

Um esquema do mecanismo de ação da quimotripsina está apresentado na Figura 2, que deve ser analisada enquanto se lê o texto abaixo. Este mecanismo também poderá ser analisado num *software* (Voet).

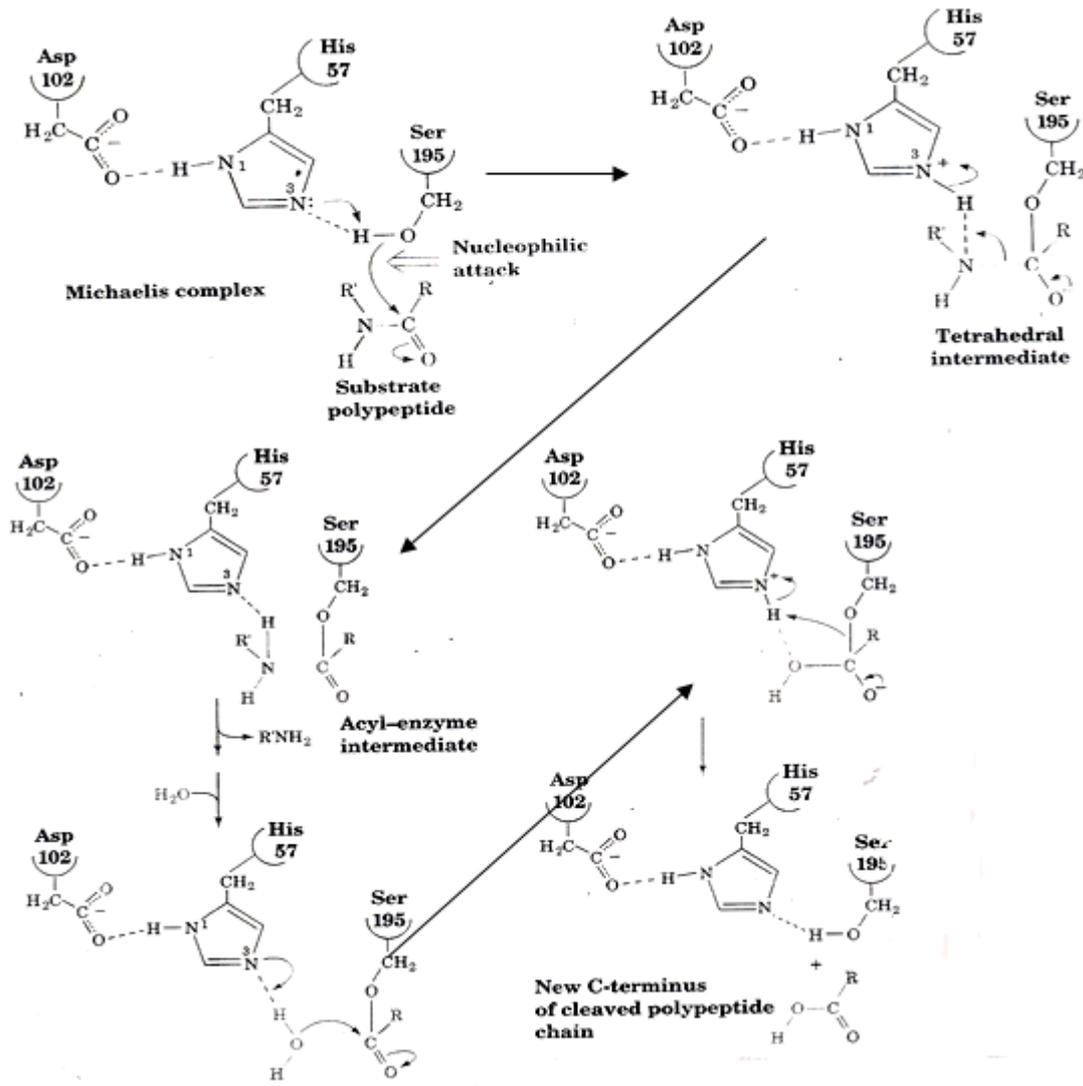


Fig. 2. Mecanismo catalítico da quimotripsina. Detalhes no texto.

Quando o substrato se liga ao sítio ativo, a serina da posição 195 (Ser195), que é o principal grupo catalítico, faz um ataque nucleofílico na carbonila da ligação peptídica a ser clivada. Isso é facilitado pelo fato do imidazol da His ligar o H⁺ que é liberado. Essa tomada do H⁺ pela His é, por sua vez, auxiliada pela presença do resíduo de Asp que faz uma ligação de hidrogênio com a His. Esses três resíduos são chamados de tríade catalítica, pois, embora só a Ser seja essencial para a catálise, a constante catalítica decresce algumas ordens de grandeza se não houver a His ou Asp nessas posições.

Após o ataque nucleofílico e a transferência do H⁺, o C da carbonila da ligação a ser clivada torna-se tetraédrico e há uma distorção na molécula de substrato, que faz com que o oxigênio dessa carbonila ocupe uma região mais no interior do sítio ativo, ocupando a região conhecida como "cavidade do oxianion". Nessa região, ele forma duas pontes de H com a enzima que não podem ser formadas quando o grupo está na sua forma normal (estado fundamental do

substrato). Além disso, forma-se mais uma ligação de H entre o grupo NH da ligação que será clivada. Desse modo é formado um intermediário tetraédrico, que é o estado de transição da reação. A enzima liga melhor o intermediário tetraédrico do que o substrato. Esse intermediário se decompõe formando uma acil-enzima (cadeia do substrato ligada a Ser covalentemente pela carboxila). A nova porção N-terminal da proteína, que estava interagindo com o imidazol da His é liberada para a solução e substituída por uma molécula de água.

Os passos anteriores praticamente se repetem agora. A água é desprotonada pelo imidazol, adiciona-se ao carbono carbonílico gerando o mesmo intermediário tetraédrico. Esse se decompõe formando o outro fragmento peptídico e a Ser é re-protonada.

A Ser presente na quimotripsina é extremamente reativa e, para isso, a cadeia lateral precisa perder um H⁺. Em solução, a cadeia lateral da Ser não desprotona. Desse modo, o arranjo próximo da Ser com His e Asp, que só é conseguido dentro do sítio ativo da enzima, permite essa reatividade.

O fato do sítio ativo apresentar uma conformação tal que liga melhor o estado de transição que o estado fundamental do substrato é muito importante para a catálise. A quimotripsina nativa aumenta a velocidade da reação por um fator de cerca de 10¹⁰. Quando os três resíduos da tríade catalítica são mutados, a enzima ainda aumenta a velocidade da reação não catalisada em cerca de 10⁴ vezes, aumento que é atribuído à maior ligação do estado de transição.

Estrutura da quimotripsina

A cadeia da quimotripsina é formada por dois domínios do tipo β-barril, cuja topologia é um motivo chave grega (fitas 1-4), seguido por um motivo grampo (fitas 5 e 6) (Fig. 3). O sítio ativo está situado em uma fenda entre os dois domínios. O domínio 1 contribui com dois resíduos da tríade catalítica, His 57 e Asp 102, enquanto que a Ser 195 é parte do segundo domínio (Fig. 4). Apesar dessa descrição simples, a estrutura real parece um pouco complicada, porque um barril está torcido em relação ao outro e eles estão um pouco distorcidos (Fig. 3).

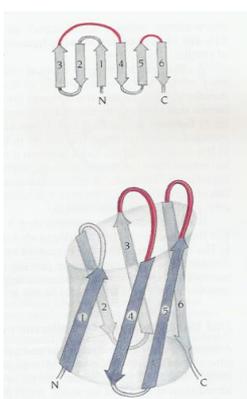


Figura 3

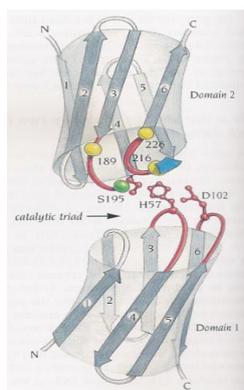


Figura 4

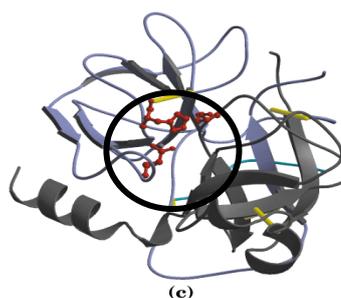
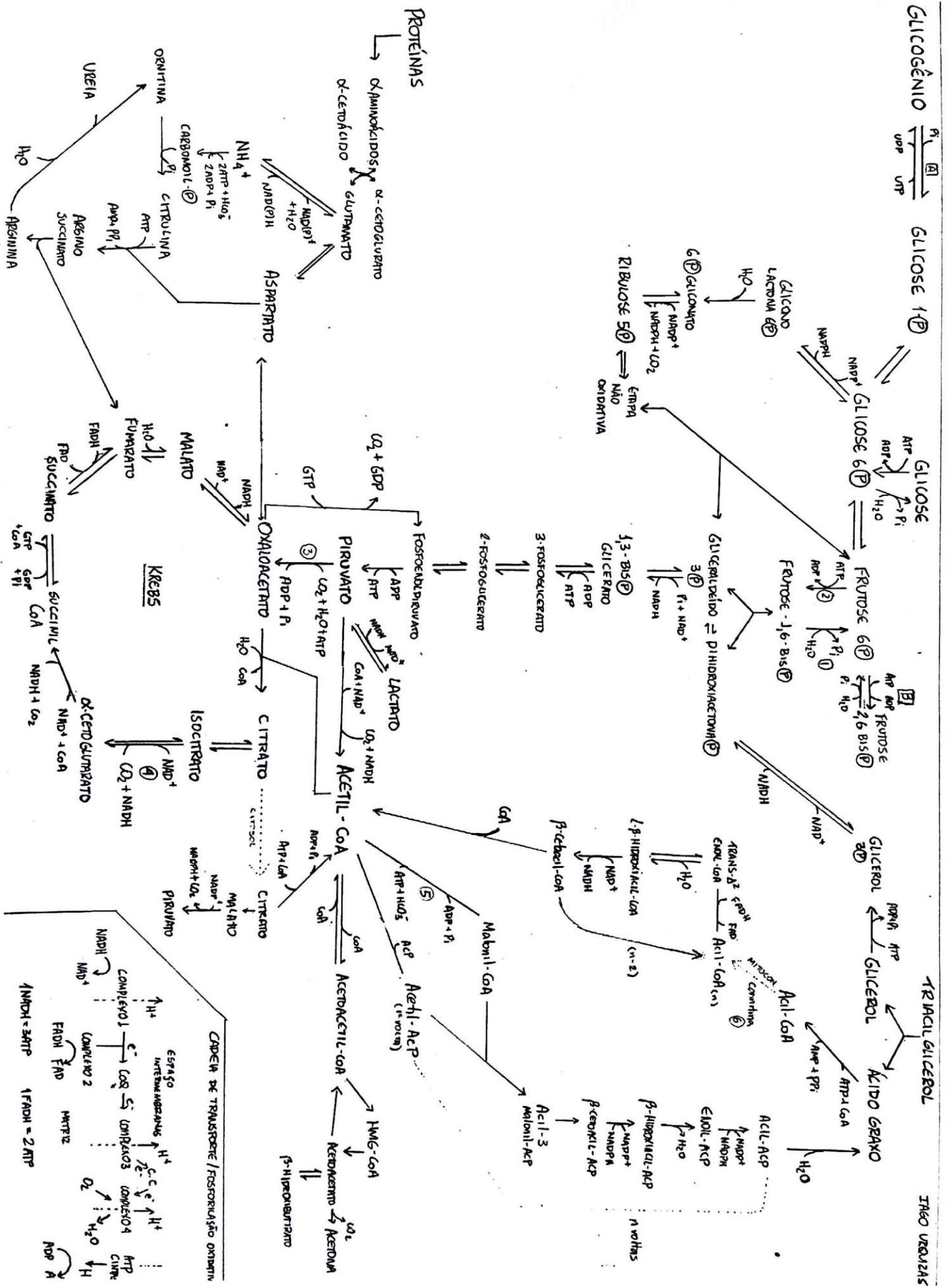


Figura 3. A figura da esquerda mostra o arcabouço de um dos domínios da quimotripsina como constituído de chave grega e grampo. A figura da direita mostra a disposição da tríade catalítica em relação aos dois domínios da quimotripsina. Reproduzido de Branden, C., Tooze, J. (1999) Introduction to Protein Structure. 2nd ed. Garland, New York.

Figura 4. Estrutura 3D da quimotripsina. No círculo, a tríade catalítica

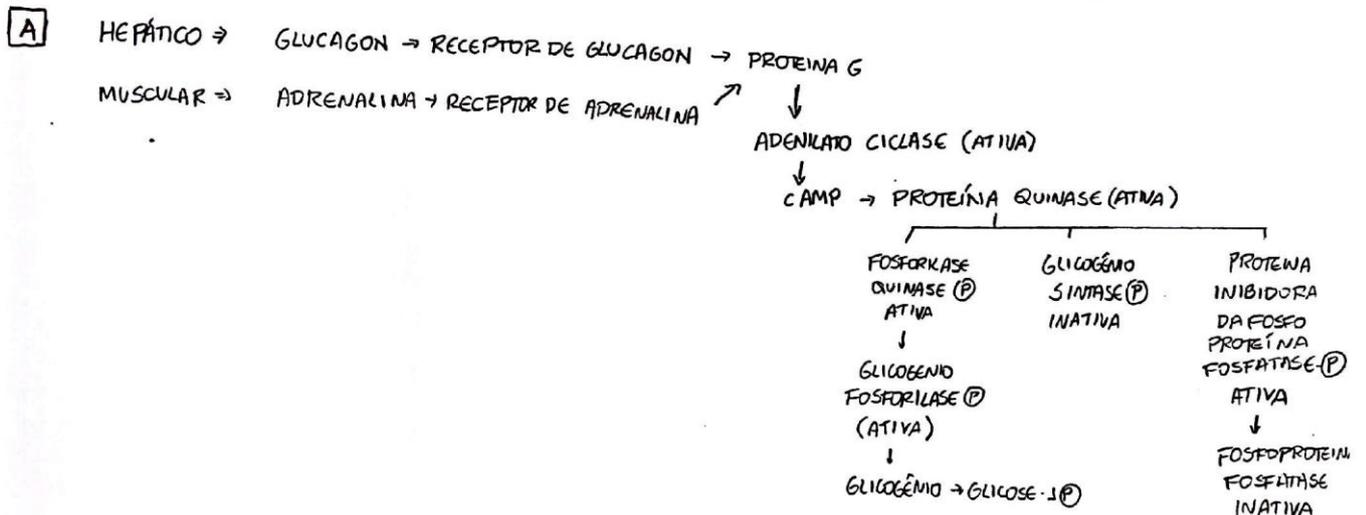
Regulação do Metabolismo

	Enzimas		Efetadores alostéricos		Outros
1	Lipase	1	Frutose 2,6 bisfosfato (positivo)	1	GTP
2	Fosfodiesterase	2	NADPH	2	Glucagon
3	Proteína inibidora da proteína fosfatase	3	ATP	3	GDP
4	Acetil-CoA carboxilase	4	Acetil-CoA	4	Insulina
5	Piruvato carboxilase	5	Citrato (positivo)	5	cAMP
6	Glicose 6-fosfato desidrogenase	6	ADP	6	Adrenalina
7	Glicogênio sintase	7	NADH	7	β -hidroxibutirato
8	Carnitina aciltransferase	8	Malonil-CoA	8	ATP
9	Fosfofrutoquinase 2	9	Citrato (negativo)	9	Proteína G
10	Glicogênio fosforilase	10	Frutose 2,6 bisfosfato (negativo)	10	Subunidade α
11	Frutose 1,6 bisfosfatase	11	Glicose 6-fosfato	11	Triacilglicerol
12	Glicose 6-fosfatase	12	Acil-CoA	12	Glicose 1-fosfato
13	Proteína quinase			13	GLUT 4
14	Isocitrato desidrogenase			14	Glicemia
15	Fosfofrutoquinase 1			15	FAD
16	Adenilato ciclase			16	FADH ₂
17	Subunidade α da proteína G			17	ATP translocase
18	Glicogênio fosforilase quinase			18	Subunidades da PKA
19	Fosfoproteína fosfatase			19	GTPase
20	α 1,6 glicosidase				
21	Glicoquinase				
22	Hexoquinase				
23	Frutose 2,6 bisfosfatase				
24	Fosfoglicomutase				



REGULAÇÃO / ENZIMAS

- ① FRUTOSE 1,6-BISFOSFATASE \ominus FRUTOSE 2,6 BISFOSFATO
- ② FOSFOFRUTOQUINASE-1 \oplus FRUTOSE 2,6 BISFOSFATO; AMP \ominus ATP; CITRATO
- ③ PIRUVATO CARBOXILASE \oplus ACETIL-COA
- ④ ISOCITRATO DESIDROGENASE \oplus ADP \ominus NADH
- ⑤ ACETIL-COA CARBOXILASE \ominus ACIL-COA
- ⑥ CARNITINA ACIL-TRANSFERASE \ominus MALONIL-COA

**B** REGULAÇÃO SÍTO DE CONTROLE GLICÓLISE / GLICONEOGÊNESE

- 6-FOSFOFRUTO-2-QUINASE \ominus FOSFOENOLPIRUVATO
- FRUTOSE 2,6-BISFOSFATASE \oplus FOSFOENOLPIRUVATO \ominus FRUTOSE 6-(P)

HORMONAL

