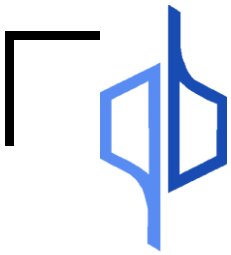


Universidade de São Paulo
Instituto de Química

Bioquímica QBQ215N
Farmácia Noturno

19h-23h

Professores:
Alexander Henning Ulrich
Ronaldo Quaggio

Monitores:
Fernando de Azevedo R. Saab
Tiago Eugênio Oliveira

2020

ÍNDICE

ÍNDICE 2
MÓDULO 1 E 2: ÁGUA, REAÇÃO ÁCIDO-BASE, PH E SISTEMA TAMPÃO 7
Exercícios do Módulo 1 8
Exercícios do Módulo 2 9
MÓDULO 3: TERMODINÂMICA QUÍMICA 10
Exercícios do Módulo 3 14
MÓDULO 4: AMINOÁCIDOS e PROTEÍNAS 16
Exercícios do Módulo 4 16
MÓDULO 5: ESTRUTURA E FUNÇÃO DE PROTEÍNAS 19
Exercícios do Módulo 5 20
MÓDULO 6: ESTRUTURA SECUNDÁRIA E TERCIÁRIA DE PROTEÍNAS 22
Exercícios do Módulo 6 25
MÓDULO 7: ENZIMAS – CONCEITOS GERAIS 26
Exercícios do módulo 7 28
MÓDULO 8: CINÉTICA ENZIMÁTICA 29
Exercícios do módulo 8 33
MÓDULO 9: CARBOIDRATOS: ESTRUTURA E FUNÇÃO 35
Exercícios do Módulo 9 39
MÓDULO 10: LIPÍDIOS E MEMBRANAS 41
Exercícios do Módulo 10 43
MÓDULO 11: Introdução ao metabolismo, bioenergética e ATP 46
Exercícios do Módulo 11 47
MÓDULO 12: VIA GLICOLÍTICA 50
Exercícios do Módulo 12 53
MÓDULO 13: CICLO DE KREBS 54
Exercícios do Módulo 13 55
MÓDULO 14: CADEIA RESPIRATÓRIA E FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA 57
Exercícios do Módulo 14 58
MÓDULO 15: VIA DAS PENTOSES E SÍNTESE DE ÁCIDOS GRAXOS 60
Exercícios do Módulo 15 62
MÓDULO 16: GLICONEOGÊNESE 63
Exercícios do Módulo 16 64
MÓDULO 17: METABOLISMO DO GLICOGÊNIO 65
Exercícios do Módulo 17 66
MÓDULO 18: ÁCIDOS GRAXOS: ESTRUTURA, FUNÇÃO E METABOLISMO 68
Exercícios do Módulo 18 70
MÓDULO 19: METABOLISMO DE ÁLCOOIS E FERMENTAÇÃO 71
Exercícios do Módulo 19 73
MÓDULO 20: COLESTEROL, PARTÍCULAS CARREGADORAS E SAIS BILIARES 75

Exercícios do Módulo 20 77
MÓDULO 21: DEGRADAÇÃO DE AMINOÁCIDOS E CICLO DA URÉIA 79
Exercícios do Módulo 21 80
MÓDULO 22: SÍNTESE DE AMINOÁCIDOS 82
Exercícios do Módulo 22 92
MÓDULO 23: NUTRIÇÃO 93
Exercícios do Módulo 23 99
MÓDULO 24: METABOLISMO MUSCULAR 101
Exercícios do Módulo 24 103
MÓDULO 25: CONTROLE METABÓLICO 105
Exercícios do Módulo 25 108
MÓDULO 26: DIABETES, OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA. 110
Exercícios do Módulo 26 112
MÓDULO 27 – INTEGRAÇÃO DO METABOLISMO 114
Exercícios do Módulo 27 116

APRESENTAÇÃO

PROFESSORES:

Prof. Dr. Alexander Henning Ulrich — e-mail: henning@iq.usp.br
Prof. Dr. Ronaldo Bento Quaggio — e-mail: rquaggio@iq.usp.br

MONITORES:

Fernando de Azevedo Ribeiro Saab — e-mail: fernando.saab@usp.br
Tiago Eugênio Oliveira da Silva — e-mail: eugenio_tiago@usp.br

INTRODUÇÃO E NORMAS GERAIS

A disciplina de Bioquímica (QBQ215-noturno) compreende o programa de módulos mostrado no calendário da página 7.
As aulas serão ministradas de forma digital e não presencial. Um dia antes da aula, será disponibilizada no Moodle um link de Google Meet para se conectar. Pedimos que no dia da aula às 18:55 hs os alunos estejam conectados com os microfones desligados. Pedimos também que os alunos utilizem o seu nome completo para se conectar, pois utilizaremos essa informação para computar as frequências dos alunos.
Cada módulo focaliza um tópico a ser desenvolvido em um dia de aula, envolvendo 3 atividades:

a. Aula expositiva pelo professor (aula ministrada no Google Meet ou aula gravada disponibilizada no site moodle antes da aula). A aula ministrada no Google Meet será gravada (se todos participantes da aula estão de acordo) e também posteriormente disponibilizada no Moodle.
b. Ferramentas didáticas (software, vídeos e artigos atuais sobre o tópico da aula)
c. Grupos de discussão centrados em questões objetivas (exercícios da apostila). Os alunos colocam as suas dúvidas no chat do Google Meet. As dúvidas serão respondidas pelos professores ou monitores. Será disponibilizado no moodle versão digital (pdf) do livro “Bioquímica básica”, segunda edição, Anita Marzzoco e Bayardo Baptista Torres.
d. Fechamento do tema pelo professor ou monitor que analisará as questões discutidas em grupo.

Os grupos de discussão serão formados por 5 - 6 alunos, organizados no primeiro dia de aula, permanecendo fixos por todo o curso.

AVALIAÇÃO

A avaliação de desempenho será composta dos seguintes itens:
a. Provas em grupo (GD1 a GD13), que consistirão num trabalho em grupo para resolução de questões objetivas após a aula expositiva. Dos trabalhos, todas as questões de cada trabalho serão avaliadas e comporão a nota da prova em grupo.
b. Provas escritas individuais (P1, P2 e P3).
c. Nos GDs, P1, P2 e P3, a consulta de livros, material na internet é permitido. Contudo plágio (provas com trechos de texto iguais ou “copy paste” levará à nota 0.

O cálculo da média final será feito através da seguinte fórmula:

$$Média\ Final = \frac{(\sum GDs)x2 + P1x2{,}5 + P2x3{,}0 + P3x2{,}5}{10}$$

Haverá uma única prova substitutiva para substituir a prova individual de avaliação com a menor nota.
Reposições de GDs estão vetadas.
A presença em todas as atividades é obrigatória. A lista de presença será utilizada em todas as aulas.
Alunos que alcançarem a média final ≥ 5,0 **e** mostrarem frequência > 70% estarão aprovados. Aqueles cuja média for no mínimo igual a 3,0 **e** apresentarem frequência > 70% poderão fazer a prova de recuperação.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

A bibliografia recomendada envolve 2 livros textos em português:

TORRES, B. B. & MARZZOCCO, A. **Bioquímica Básica.**
VOET, D; VOET, J. & PRATT, C. W. **Fundamentos de Bioquímica.**

Contudo, outros excelentes textos de Bioquímica, em inglês ou português, poderão ser usados com igual proveito:

VOET, D. & VOET, J. **Biochemistry.**
STRYER, L.; BERG, J. M. AND TYMOCZKO, J. L. **Biochemistry.**
LEHNINGER, A. L. **Principles of Biochemistry.**

	Data	Professor	Dias	Módulos
Agosto	18/ago	Henning	terça	Apresentação da disciplina / Água
	19/ago	Henning	quarta	Sistema tampão
	20/ago	Henning	quinta	Termodinâmica química
	25/ago	Ronaldo	terça	GD 1
	26/ago	Ronaldo	quarta	Aminoácidos e Proteínas
	27/ago	Ronaldo	quinta	Estrutura e função de Proteínas
Setembro	01/set	Ronaldo	terça	GD2
	02/set	Ronaldo	quarta	Enzimas - conceitos gerais
	13/set	Ronaldo	quinta	Cinética enzimática
	08/set	Henning	terça	GD3
	09/set	Henning	quarta	Carboidratos: estrutura e função
	10/set	Henning	quinta	Lipídeos e membranas
	15/set	Ronaldo	terça	Transporte em Membranas
	16/set	Ronaldo	quarta	GD4
	17/set	Ronaldo	quinta	Introdução ao Metabolismo, Bioenergética e ATP
	22/set	Henning	terça	Prova 1
	23/set	Henning	quarta	Via Glicolítica
	24/set	Henning	quinta	GD5
	29/set	Ronaldo	terça	Ciclo de Krebs
	30/set	Ronaldo	quarta	Cadeia Respiratória e Fosforilação Oxidativa I
Outubro	01/out	Ronaldo	quinta	Cadeia Respiratória e Fosforilação Oxidativa II
	06/out	Henning	terça	GD 6
	07/out	Henning	quarta	Via das pentoses fosfato
	08/out	Henning	quinta	Gliconeogênese
	13/out	Ronaldo	terça	GD7
	14/out	Ronaldo	quarta	Metabolismo de Glicogênio
	15/out	Ronaldo	quinta	GD8
	20/out	Henning	terça	Prova 2
	21/out	Henning	quarta	Degradação de ácidos graxos
	22/out	Henning	quinta	Síntese de ácidos graxos
	27/out	Ronaldo	terça	GD9
	28/out		quarta	Feriado – Dia do Servidor Publico
	29/out	Ronaldo	quinta	Metabolismo de alcoóis / Fermentação
Novembro	03/nov	Ronaldo	terça	Colesterol, partículas carreadoras e sais biliares
	04/nov	Henning	quarta	GD10
	05/nov	Henning	quinta	Degradação de aminoácidos e ciclo da ureia
	10/nov	Henning	terça	Síntese de aminoácidos
	11/nov	Ronaldo	quarta	GD 11
	12/nov	Ronaldo	quinta	Metabolismo Integrado e Controle Hormonal
	17/nov	Ronaldo	terça	GD12
	18/nov	Henning	quarta	Nutrição
	19/nov	Henning	quinta	Metabolismo Muscular
	24/nov	Henning	terça	GD13
	25/nov	Ronaldo	quarta	Prova 3
	26/nov		quinta	Sem atividades
Dezem.	01/12 R/	Ambos	terça	Revisão de provas
	02/dez	Henning	quarta	Prova Substitutiva

MÓDULO 1 E 2: ÁGUA, REAÇÃO ÁCIDO-BASE, PH E SISTEMA TAMPÃO

1. A molécula de água, H_2O, apresenta um ângulo de 104,5 graus entre as duas ligações O-H, dando-lhe um caráter altamente polar. Além disso, o átomo de O possui 2 pares de elétrons livres, permitindo a formação de ligações (ou pontes) de H entre moléculas vizinhas. Esta estrutura dá à água propriedades físicas e químicas de enorme importância biológica.
2. A água se ioniza através de uma reação ácido-base:

   $$H_2O + H_2O \rightleftharpoons H_3O^+ + OH^-$$

   A reação ácido-base se caracteriza pela troca de prótons entre pares conjugados de ácidos e bases. A água pode se comportar como ácido e como base:

   $$AH + H_2O \rightleftharpoons H_3O^+ + A^-$$

   $$B + H_2O \rightleftharpoons BH + OH^-$$

   Estas são reações de equilíbrio, às quais correspondem constantes de equilíbrio definidas. Por exemplo: $K = \frac{[H_3O^+]\,[A^-]}{[AH]\,[H_2O]}$

   K mede a afinidade relativa das bases, de cada par ácido-base conjugados (AH/A^- e H_3O^+/H_2O), por prótons. Fala-se comumente em constante de dissociação de um ácido (K_a), significando: $\mathbf{K_a = K\,[H_2O] = \frac{[H^+]\,[A^-]}{[AH]}}$, onde $[H_2O]$ é essencialmente constante (55 M).
3. $[H^+]$ é a concentração hidrogeniônica e os valores de $[H^+]$ para a maioria das soluções são muito baixos e difíceis de serem comparados. Um valor mais prático é conhecido como pH:

   $$\mathbf{pH = - \log [H^+].}$$
4. Como $\mathbf{1/[H^+] = 1/K \times [A^-]/[AH]}$ pode-se obter

   $$\mathbf{pH = - \log K + \log [A^-]/[AH]}$$

   por analogia $\mathbf{- \log K = pK}$

   e $$\mathbf{pH = pK + \log [A^-]/[AH]}$$

   Conclui-se que pK é numericamente igual a pH da solução na qual as concentrações molares do ácido e sua base conjugada são iguais (ie $\log [A^-]/[AH] = 0$).

   A igualdade $pH = pK + \log [A^-]/[AH]$ é conhecida como **Equação de Henderson-Hasselbach**.
5. Ácidos são classificados de acordo com sua força relativa, ou seja, de acordo com sua capacidade de transferir um próton para a água. Ácidos com constantes de dissociação menores do que aquela de H_3O^+ (que, por definição, é igual a 1 em soluções aquosas (vê se consegue confirmar porquê!)) são só parcialmente ionizados em soluções aquosas e são conhecidos como ácidos fracos ($K < 1$). Já os ácidos fortes têm constantes de dissociação maiores que a de H_3O^+, sendo quase completamente ionizados em soluções aquosas ($K>1$).
6. Tampões são sistemas aquosos que tendem a resistir a variações no seu pH quando pequenas quantidades de ácido (H^+) ou base (OH^-) são adicionadas. Um sistema tampão consiste de um ácido fraco (o doador de prótons) e sua base conjugada (o aceptor de prótons).

É comum encontrar os seguintes símbolos para representar um ácido (AH ou BH^+) e sua base conjugada (A^- ou B:)

7. A adição de ácido forte (H^+) ou base forte (OH^-) a uma solução aquosa de um ácido fraco, por exemplo, ácido acético (pK_a = 4,76), causa pequenas variações de pH, se a solução estiver a um pH próximo do pK do ácido. Este comportamento define um tampão ácido-base.

Exercícios do Módulo 1

1) Desenhe a estrutura do gelo, mostrando ligações de hidrogênio entre moléculas de água. O que acontece quando o gelo derrete? Por que a água líquida a 4ºC é mais densa do que o gelo a 0ºC?

2) Desenhe a estrutura do NaCl no estado sólido e também no estado aquoso, neste último, destaque suas interações com água.

3) A água cerca e solvata compostos. Ao inserir lipídios simples (saturados) numa solução, quais tipos de estruturas você esperaria encontrar formando-se espontaneamente? Por que?

4) O que é uma interação de Van de Waals? Qual é um tipo especialmente importante de interação de Van der Waals formado por moléculas de água e qual sua energia média?

5) Cotidianamente falamos da dissociação da água em um hidróxido e um íon hidrogênio:

$$H_2O \rightleftharpoons HO^- + H^+$$

No entanto, íons hidrogênio em forma livre praticamente não existem em soluções aquosas. Explique o motivo disto. Qual a consequência desta propriedade da água para reações acidobásicas?

6) À que propriedade se devem os altos valores de temperatura de fusão e ebulição da água?

7) Dado que a concentração de OH de uma solução aquosa é $[OH^-]=3x10^{-5}M$, determine a concentração de íons Hidrogênio $[H^+]$ da solução.

8) Água é essencial para a vida, e é necessária para as funções celulares. As células, no entanto, estão envoltas de uma membrana composta por uma bicamada lipídica. Tal camada possui fase polar e fase apolar, de modo que é impermeável à água, que não consegue atravessar a fase apolar. Sugira um mecanismo pelo qual você acha que as células captam água da matriz extracelular.

Exercícios do Módulo 2

1) Defina ácidos e bases no conceito de Brønsted, mostrando exemplos.

2) a) Qual o pH das soluções 0,1 M dos ácidos fortes HCl e HNO_3? **b)** Usar a equação Henderson-Hasselbach para calcular o grau de dissociação dos ácidos fracos i) H_2S ($K_a=1x10^{-7}$) e ii) ácido acético ($K_a=2x10^{-5}$) em soluções 0,1 M. Qual o respectivo pH dessas soluções?

3) Esquematize a curva de titulação de 1 L de uma solução de 0,1 M H_3PO_4 com uma solução de 10 M NaOH, colocando pH (eixo y) em função de volume de base adicional (eixo x). Indicar os pontos na titulação (volumes de NaOH) em que o pH equivale cada um dos pK_as do ácido.

$Ka_1=7.5 \times 10^{-3}$; $Ka_2=6.2 \times 10^{-8}$; $Ka_3= 4.8 \times 10^{-13}$

4) Indique como se pode preparar 1 L de um tampão a pH=7,0, capaz de manter o pH estável com adição de 10 mL de HCl 0,1M, dispondo-se das soluções:

a) 1M H_3PO_4

b) 1M ácido acético

c) 1M NaOH

1. A variação de energia livre padrão é diretamente relacionada à constante de equilíbrio:

   $$\Delta G^{o} = -2.3RT \log K_{eq}$$

2. A composição de um sistema de reação (uma mistura de reagentes e produtos) tende a uma variação contínua até que o equilíbrio é alcançado. No equilíbrio, as taxas de reação para um lado e para outro são exatamente iguais. As concentrações de reagentes e produtos no equilíbrio definem a constante de equilíbrio. Na reação:

   A+B $\rightleftharpoons$ **C +D ,**

   a constante de equilíbrio é dada por:

   $K_{eq} = [C][D] / [A][B]$

3. Quando um sistema não está em equilíbrio, ele tende ao equilíbrio, e a magnitude desta tendência pode ser medida como a variação de energia livre da reação, ΔG. A energia livre de Gibbs (G), uma propriedade termodinâmica, é definida pela equação: G = H – TS, onde H, T e S são respectivamente entalpia, temperatura absoluta e entropia, todas também propriedades termodinâmicas.

   Numa transição de estado a temperatura (T) e pressão constantes (condições comuns às reações bioquímicas) a variação de G (ΔG) é: **ΔG = ΔH - TΔS**.
   Se se trata de uma reação bioquímica, ΔH é o calor de reação. Quando ΔH é positivo a reação é endotérmica, se ΔH for negativo a reação é exotérmica. Nestas condições, a espontaneidade da reação é definida pelo valor de ΔG: se ΔG é negativo, a reação é espontânea, sendo denominada exergônica. Se, ao contrário, ΔG for positivo, a reação não ocorre espontaneamente e é denominada endergônica. Portanto, a reação ocorre no sentido em que a energia livre total diminui.

4. No equilíbrio, ΔG = 0. Logo, é possível demonstrar a validade das seguintes igualdades:

   ΔG = ΔG° + 2,3 RT logB/A $\longrightarrow$ **B/A = K** $\longrightarrow$ **ΔG° = - 2,3 RT logK**

5. Em condições padrão, à 25°C (298K), com concentrações de reagentes e produtos iguais a 1M, pH = 0, a variação de energia livre é considerada padrão, ou ΔG°. Entretanto, a maioria das reações bioquímicas ocorrem em pH 7,0, para as quais utiliza-se ΔG°´.

6. A Figura 4 mostra esquematicamente como varia G com o desenvolvimento da reação, indicado no eixo das abcissas como coordenada de reação

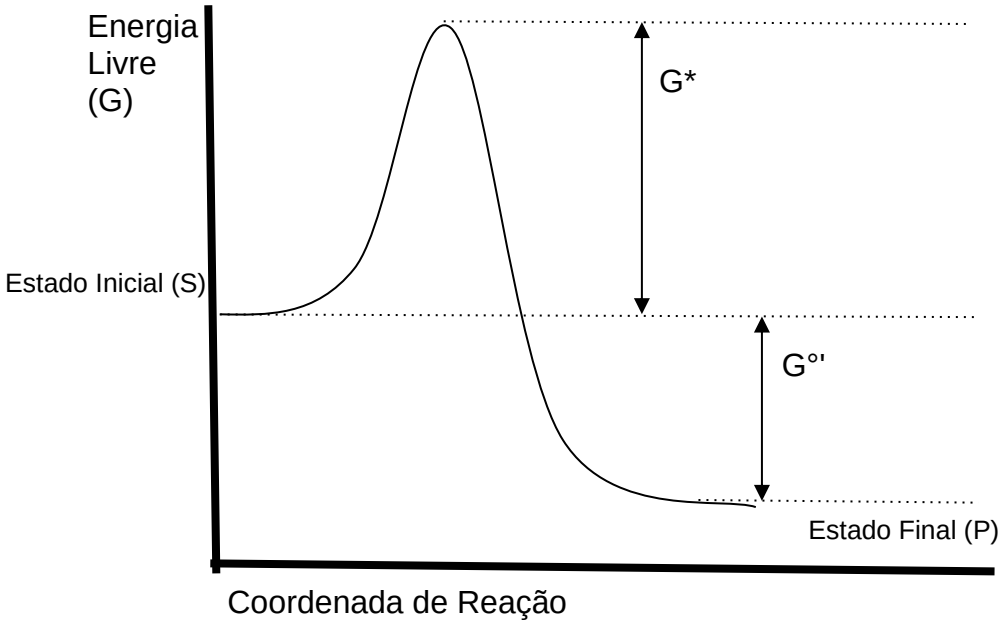


Figura 4. Variação de energia livre (G) no decorrer de uma reação genérica.

Para que a reação ocorra, necessariamente tem-se $G_{final} < G_{inicial}$, isto é, ΔG é negativo. Um ponto importante a ser destacado é que o valor de ΔG permite prever se a reação pode ocorrer, mas não a velocidade com que a reação atinge o equilíbrio. A velocidade de reação depende da energia livre do Estado de Transição que é maior que do que o dos reagentes no Estado Inicial, isto é, ΔG^* é positivo. Quanto maior o valor de ΔG^*, menor será a velocidade de reação.

8. Na reação genérica $A \rightarrow B$ a velocidade (v) é proporcional a [A], isto é, $v_1=k_1[A]$. A velocidade da reação inversa será, consequentemente, $v_{-1}=k_{-1}[B]$. k_1 e k_{-1} são constantes de velocidade e reações como $A \rightarrow B$ e $B \rightarrow A$ são ditas de primeira ordem, porque as suas respectivas velocidades dependem de concentração molar de um único reagente elevado à potência 1. As constantes de velocidade k_1 e k_{-1} são diferentes da constante de equilíbrio da reação, $K=[B]/[A]$. No estado de equilíbrio, por definição, $v_1=v_{-1}$ e, portanto, formalmente, $K=k_1/k_{-1}$. As reações representadas pelas equações seguintes: $2A \rightarrow B$ e $A+B \rightarrow C$ são de segunda ordem, cujas velocidades são, respectivamente, $v=k_A[A]^2$ e $v=k_{AB}[A][B]$. Notar que a ordem da reação não coincide necessariamente com a estequiometria da equação química.
9. As quinases formam uma classe muito importante e abundante de enzimas, que se caracterizam por catalisar a transferência de um grupo fosfato de alta energia para uma outra substância receptora.
10. São chamados compostos de alta energia substâncias orgânicas com o grupo fosfato em ligações anidrido ou fosfoenol, cuja hidrólise libera fosfato inorgânico (Pi) com um $\Delta G^{0'}$ negativo e em valor absoluto superior a 8kcal/mol. Outros compostos fosforilados com o fosfato em ligações éster ou tioéster também mostram um $\Delta G^{0'}$ de hidrólise negativo, mas de valor absoluto da ordem de

3kcal/mol. Estas classes de compostos estão ilustradas na Tabela 2. O principal composto fosforilado da célula é o ATP; cuja fórmula estrutural está na Figura 5. O ATP possui fosfato em ligações anidrido e éster, aos quais correspondem $\Delta G^{0'}$ de hidrólise de, respectivamente, -8kcal/mol e -3,5kcal/mol. **Todas estas reações são, portanto, muito voltadas para os produtos de hidrólise, sendo praticamente irreversíveis. No entanto, nenhuma destas reações ocorre na célula a velocidade significante se não houver catálise por uma enzima específica, da classe das fosfatases.**

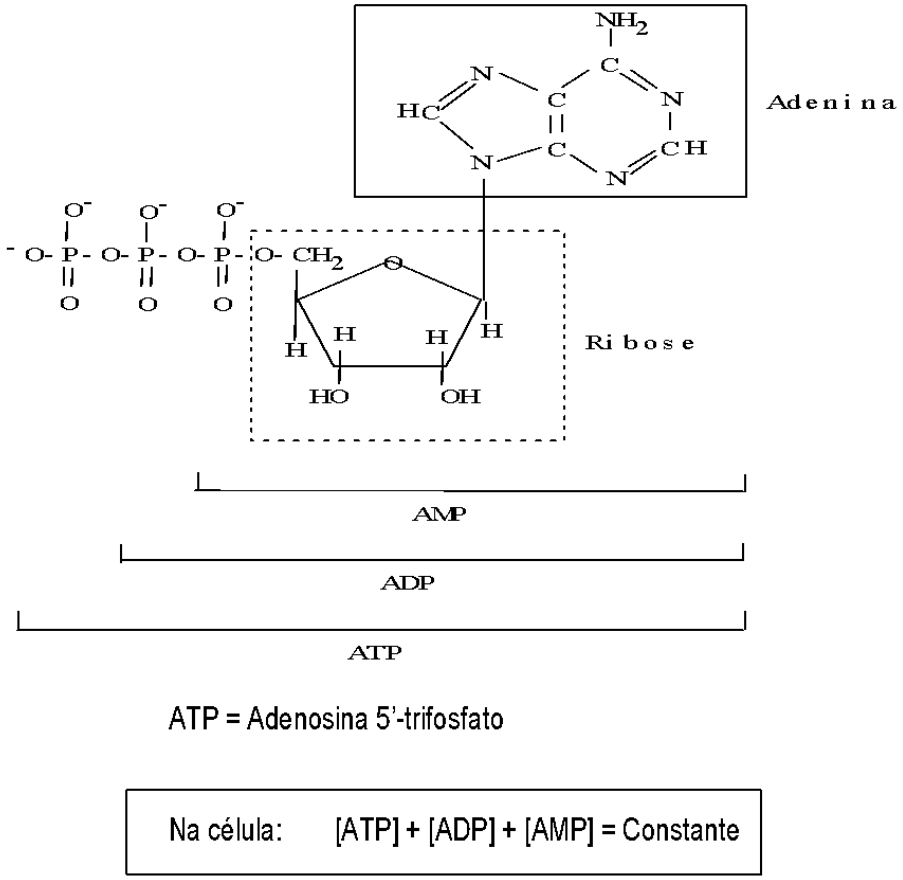
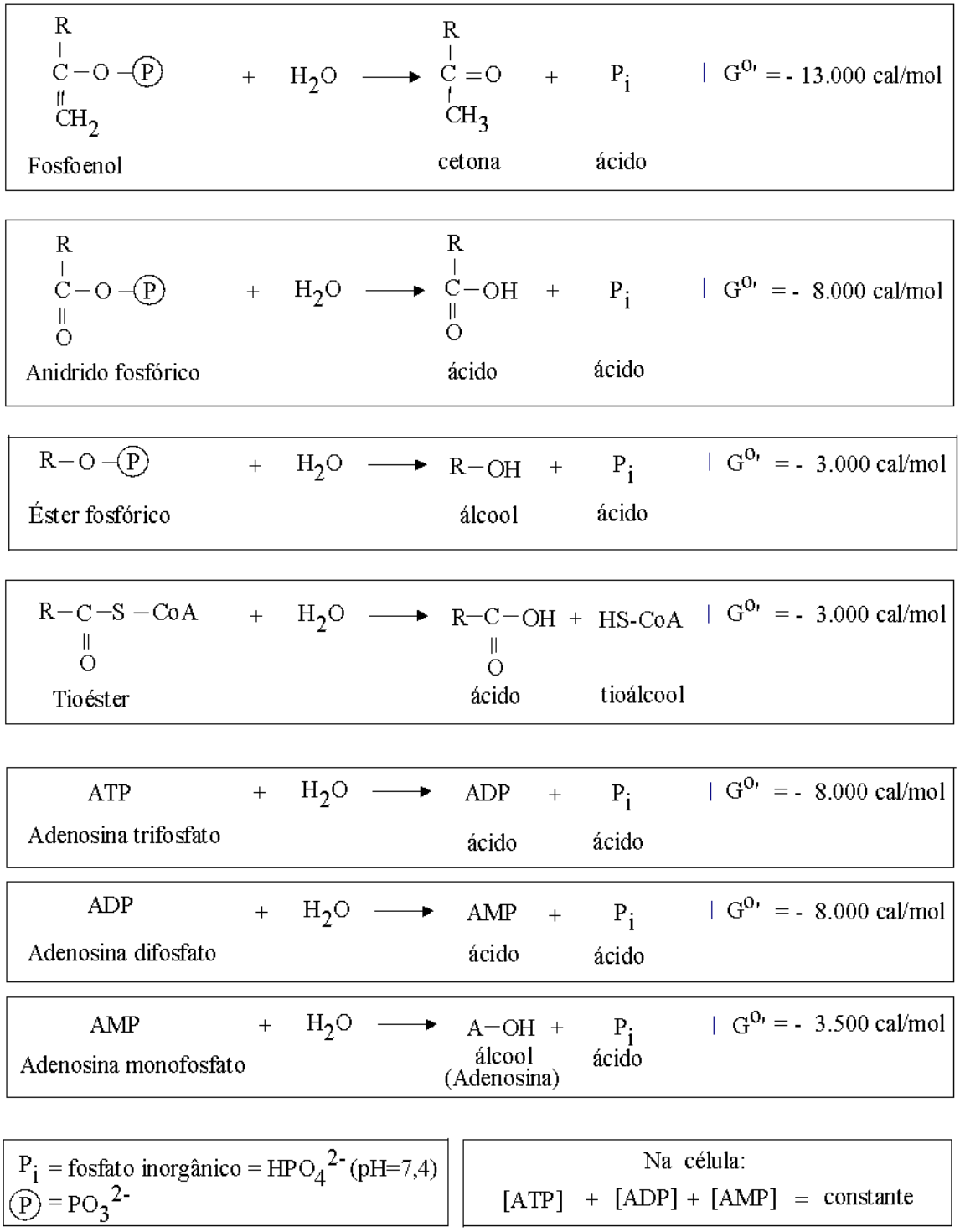


Figura 5. Fórmula estrutural do ATP.

Tabela 2. Compostos Fosforilados.



11. No metabolismo é muito importante a transferência de fosfatos de um composto fosforilado de alta energia para outro. Uma das reações chave deste tipo é:

fosfoenolpiruvato + ADP → ATP + piruvato

$\Delta G^{0'}$=-5kcal/mol

Como esta reação não ocorre sem catálise, seu controle pela célula é feito através de uma enzima quinase específica.

12. Além das quinases que catalisam a transferência de grupo fosfato do ATP para metabólitos, existem as quinases que tem como substratos proteínas, genericamente referidas como quinases de proteína ou, simplesmente, proteína-quinases.

    Há alguns milhares de proteína-quinases diferentes em um organismo, que catalisam a transferência de fosfato de ATP para o grupo OH da cadeia lateral de resíduos específicos de serina e treonina formando um éster de fosfato. As reações deste tipo são genericamente chamadas de fosforilações e são modificações covalentes que causam mudança de conformação das proteínas, alterando sua atividade biológica. Por exemplo, um grande número de enzimas são fosforiladas para sofrer uma transição do estado inativo ao ativo ou vice-versa. Mais raramente as proteínas são fosforiladas no grupo enólico de resíduos de tirosina.

Exercícios do Módulo 3

1) Defina reações exotérmicas e endotérmicas. Qual a relação entre estes conceitos e a função termodinâmica entalpia?

2) Defina reações exergônicas e endergônicas. Qual a relação destes conceitos com $\Delta G^{0'}$.

3) $\Delta G^{0'}$ é característico de cada reação **(desde que a temperatura seja constante)** e não varia com as concentrações de reagentes e produtos no equilíbrio. ΔG, por outro lado, não é característico da reação, podendo assumir qualquer valor em função das concentrações iniciais de reagentes e produtos **(quociente Q na expressão de ΔG)**. Mostre por que estas afirmações são verdadeiras discutindo a expressão que relaciona $\Delta G^{0'}$ e ΔG.

4) Na reação genérica **A→B** $K_{eq}=10^3$. Qual o valor de $\Delta G^{0'}$? No ponto de equilíbrio as concentrações molares de A e B podem variar? Como varia ΔG com as concentrações molares iniciais de **A** e **B**?

5) Ainda para a reação **A→B** (questão 4) proponha uma condição na qual a reação inversa seja espontânea. Mostre que a sua proposta é possível calculando o respectivo ΔG. Esta questão possui múltiplas respostas ou apenas uma resposta única?

6) Para a reação **A→B** (questão 4), se a constante de velocidade de primeira ordem, k_1 for igual a 10, qual deve ser o valor da constante k_{-1} para a reação inversa? Para um mesmo K, constante de equilíbrio, pode haver múltiplos valores de k_1 e k_{-1} ? Qual a interpretação termodinâmica para a sua resposta?

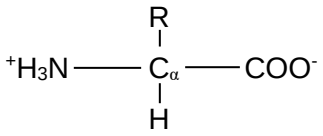
7) Considerando a equação $\Delta G^{0'} = -2,3\ RT \log K$, sendo: $R = 1,98 \times 10^{-3}$ kcal/mol K; T = 298K e 2,3 RT = 1,36 kcal/mol. Calcule os valores de $\Delta G^{0'}$ quando K varia de 10^5 a 10^{-5}. Faça uma tabela.

8) Porque a hidrólise de ATP necessita de catálise enzimática, sendo este um composto rico em energia? Utilize-se do gráfico esquemático de variação de G (energia livre) em função de coordenada de reação para responder a esta questão, definindo estado de transição e energia de ativação.

MÓDULO 4: AMINOÁCIDOS E PROTEÍNAS

1. Aminoácidos, bases purínicas e pirimidínicas, nucleosídeos e nucleotídeos, hexoses (como glicose), são componentes monoméricos dos principais polímeros biológicos, ou seja, proteínas, ácidos nucléicos (DNA e RNA) e polissacarídeos (glicogênio, amido e celulose). Aminoácidos, bases, nucleosídeos e nucleotídeos são muito solúveis em água e possuem grupos funcionais que participam em reações ácido-base. Glicose também é altamente solúvel em água, mas não participa em reações ácido-base.

   i. Há 20 aminoácidos que compõem proteínas (Tabela 1), todos mostrando a fórmula geral:



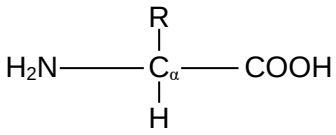
íon dipolar ou zwitterion encontrado em água pH 7

2. Aminoácidos podem ser agrupados em classes com base nas propriedades dos seus grupos radicais (R), em particular sua polaridade ou tendência de interagir com água em pH biológico ($\pm$ 7,0).
3. Todos os aminoácidos livres comportam como ácidos polipróticos. Quando um aminoácido cristalino é dissolvido em água, ele pode agir como um ácido ou como uma base. O grupo carboxílico mostra um pK em torno de 2,0, enquanto o grupo amino tem um pK entre 9,0 e 10,0. Portanto, no pH fisiológico (pH 7,0), a maioria das moléculas de todos os aminoácidos está na forma de íons dipolares (zwitterions). **Chama-se pI de um aminoácido o pH da solução na qual suas moléculas possuem carga líquida nula.** Na cadeia lateral (-R) os aminoácidos apresentam grupos funcionais, entre os quais existem grupos ácido-base.
4. O carbono α dos aminoácidos, excetuando-se a glicina, é assimétrico, fazendo com que estas substâncias tenham atividade óptica e, portanto, apresentem pares de isômeros ópticos.

Exercícios do Módulo 4

1) Quais dos aminoácidos têm dois carbonos quirais e qual deles não possui isomeria óptica?

2) Mostre porque a seguinte forma não-iônica de um aminoácido não pode ser encontrada em solução aquosa.



3) O etanol não tem caráter ácido em água, enquanto fenol e ácido acético se dissociam em solução aquosa, sendo o ácido acético (pK=4,8) mais forte que o fenol (pK=10). Como se pode explicar o comportamento destes três compostos em água a partir de suas estruturas moleculares?

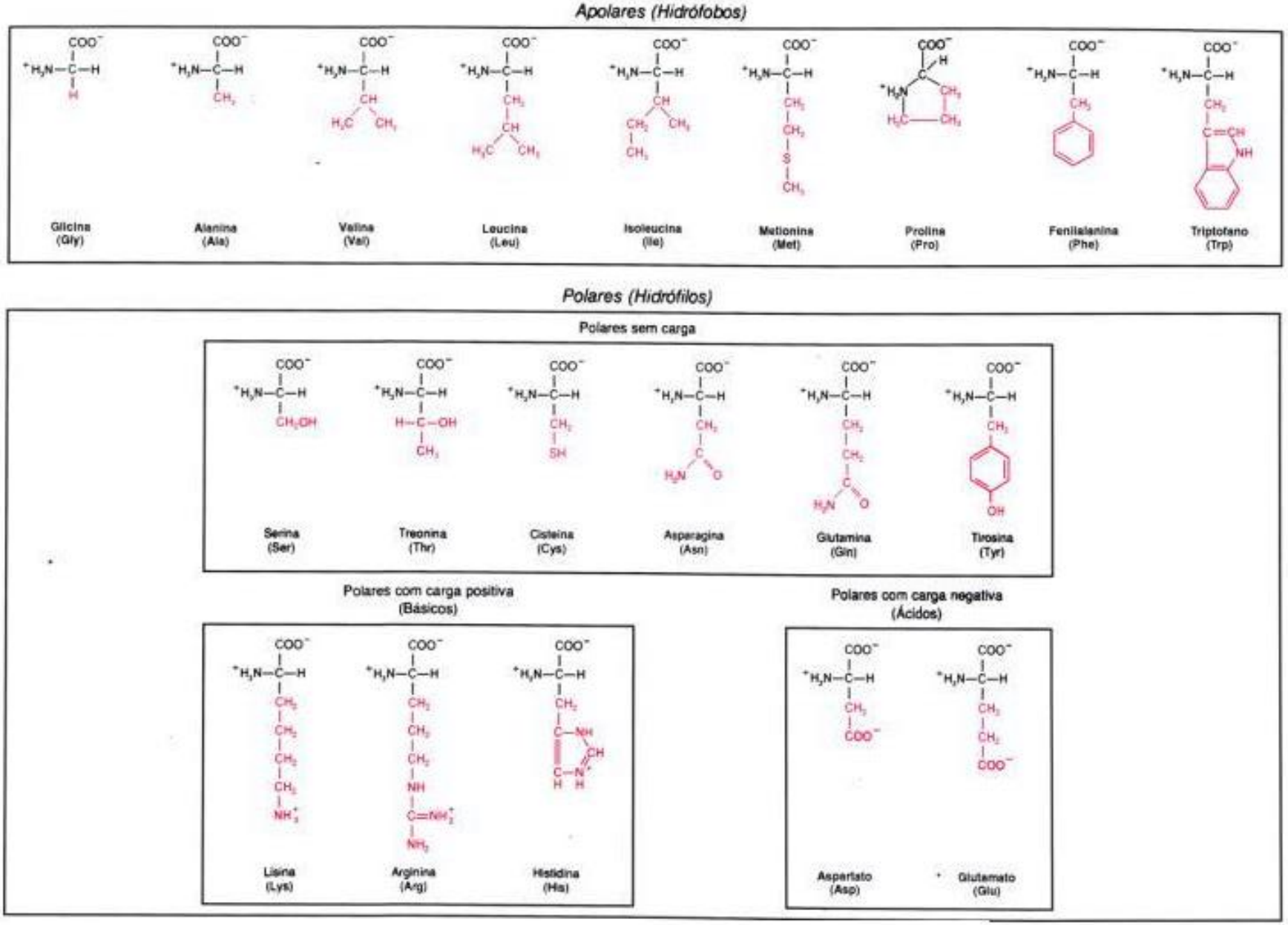
4) Esquematize a curva de titulação da glicina com NaOH a partir de pH=1 e do ácido aspártico com HCl a partir de pH=11. Coloque o pH na ordenada e, na abscissa, a quantidade de equivalentes de ácido ou base forte.

5) a) Quais os pontos isoelétricos de: glicina (pKs=2,5 e 9,5), ácido aspártico (pKs=2,5; 4,0 e 9,5), lisina (pKs=2,5; 9,5 e 10) e histidina (pKs=2,5; 6,0 e 9,5)? **b)** Calcular as cargas líquidas (aproximadas) do ácido aspártico, lisina **ou** histidina nos seguintes pHs: pH 1, pH 8, pH 11.

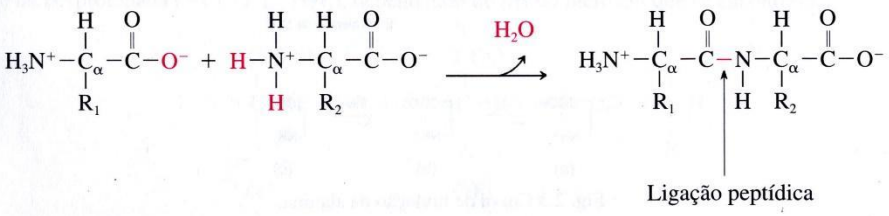
6) Tentar classificar os aminoácidos em termos da natureza química dos seus grupos radicais: **a)** ionizáveis ou não ionizáveis, **b)** ácidos ou básicos, **c)** polares ou não polares, **d)** hidrofílicos ou hidrofóbicos, **e)** alifáticos ou aromáticos, **f)** lineares ou ramificados e **g)** pequenos e grandes.

7) Na Tabela 1 indicar: a) O código de letra única para cada aminoácido e b) os pK_R dos aminoácidos com grupos radicais ionizáveis.

Tabela 1. Aminoácidos.

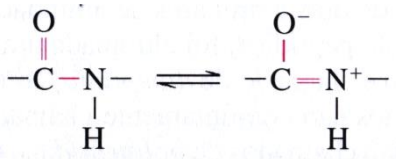


1. A descrição da estrutura das proteínas é dividida em quatro níveis de organização: estrutura primária, secundária, terciária e quaternária.
2. A estrutura primária se refere à sequência de aminoácidos que compõem a proteína. Trata-se, portanto, da estrutura de ligações covalentes. **A principal ligação covalente entre aminoácidos é a ligação peptídica**. Os aminoácidos podem formar polímeros através da ligação do grupo carboxila de um aminoácido com o grupo amino de outro. Esta ligação carbono-nitrogênio chamada ligação peptídica, é obtida por exclusão de uma molécula de água. Quimicamente, a formação da ligação peptídica pode ser representada pela seguinte equação:

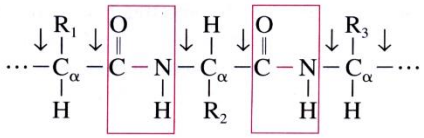


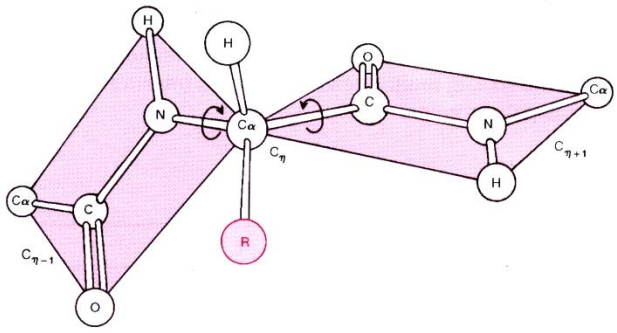
Esta reação, como está escrita, jamais ocorre nos seres vivos. A união dos aminoácidos por ligação peptídica não é feita por reação direta entre eles, mas através de um complexo aparato de síntese proteica, que inclui ribossomos, ácidos ribonucleicos, várias proteínas e enzimas num processo chamado “tradução”. A equação mostra apenas o resultado líquido do processo.

3. As propriedades da ligação peptídica impõem restrições ao dobramento do polímero formado. A ligação peptídica apesar de ser representada por um único traço de ligação, tem características intermediárias entre uma ligação simples e uma dupla ligação, devido às interações entre duas formas de ressonância.

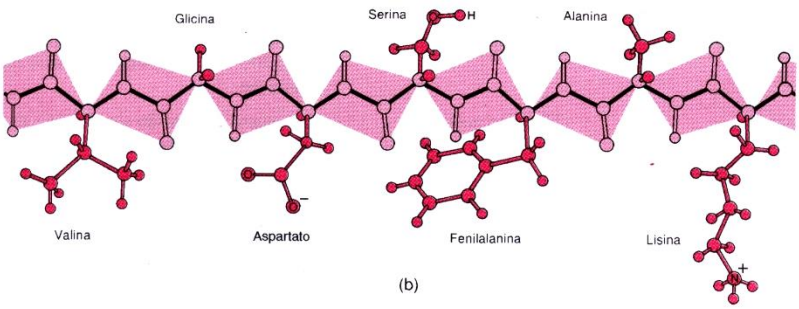


A consequência desse caráter parcial de dupla ligação é que não há possibilidade de rotação em torno da ligação peptídica. Assim sendo, os quatro átomos dos grupamentos que participam da ligação peptídica ficam dispostos em um plano rígido, constituindo o que se costuma chamar de grupo peptídico ou unidade peptídica (vide retângulos) Notar também que os dois carbonos alpha (C_α) vizinhos de cada ligação peptídica também se encontram o plano.





(a)



(b)

Marzzocco & Torres, Bioquímica Básica.

O polímero formado pode, portanto, ser visualizado como uma cadeia constituída por unidades planares (unidades peptídicas), unidas entre si com uma articulação flexível: o carbono α. Esta cadeia chama-se cadeia polipeptídica. As proteínas podem ser formadas por uma ou mais cadeias polipeptídicas.

4. Todavia, existem pontos de dobramento entre as unidades peptídicas rígidas, graças a possibilidade de rotação em torno das ligações com o carbono alfa (N-Cα e Cα-C), que são ligações efetivamente simples (vide figura acima). Estas ligações são chamadas phi (ϕ) e psi (ψ) respectivamente.
5. A cadeia polipeptídica pode ser dividida entre a **cadeia principal** e as **cadeias laterais** (grupos R) ligados aos carbonos alfa.

Exercícios do Módulo 5

1) Defina estrutura primária, secundária, terciária e quaternária de uma proteína, dando exemplos.

2) Esquematize a estrutura de uma ligação peptídica.

3) a) Desenhar o tripeptídeo Ala-Asp-His. **b)** Calcular o seu pI. **c)** Calcular sua carga líquida em pH 1, pH 6 e pH 12.

4) Com os dados abaixo, defina a sequência do peptídeo analisado: **a)** hidrólise ácida total resultou em: Arg, Tyr, Leu, Ala, Glu Lys, Ser e Pro; **b)** dansilação e hidrólise produziram: dansil-Leu; **c)** dois ciclos consecutivos de degradação de Edman liberaram, respectivamente Leu e Tyr; **d)** tripsina liberou 2 peptídeos cujas composições, após hidrólise ácida total, foram, respectivamente (Tyr, Leu, Arg) e (Ser, Glu, Pro, Ala Lys); **e)** carboxipeptidase A não liberou nada, mas carboxipeptidase C liberou Ser; **f)** endopeptidase V8 liberou o tripeptídeo Lys-Pro-Ser e um pentapeptídeo que, tratado com carboxipeptidase C, liberou Glu.

5) Mostre a reação de óxido-redução da cisteína que é importante na estrutura de peptídeos.

1. A estrutura secundária é definida pela conformação local do esqueleto de ligações peptídicas que compõe o eixo da proteína. Esta conformação local pode ser explicitamente expressa através dos ângulos phi (ϕ) e psi (ψ) (vide Módulo 3). Em geral, certas combinações de ângulos phi (ϕ) e psi (ψ) são permitidas enquanto outras não são permitidas devido a impedimentos estéricos entre átomos de grupos vizinhos. Este princípio pode ser resumido num diagrama de Ramachandran (Figura 1).

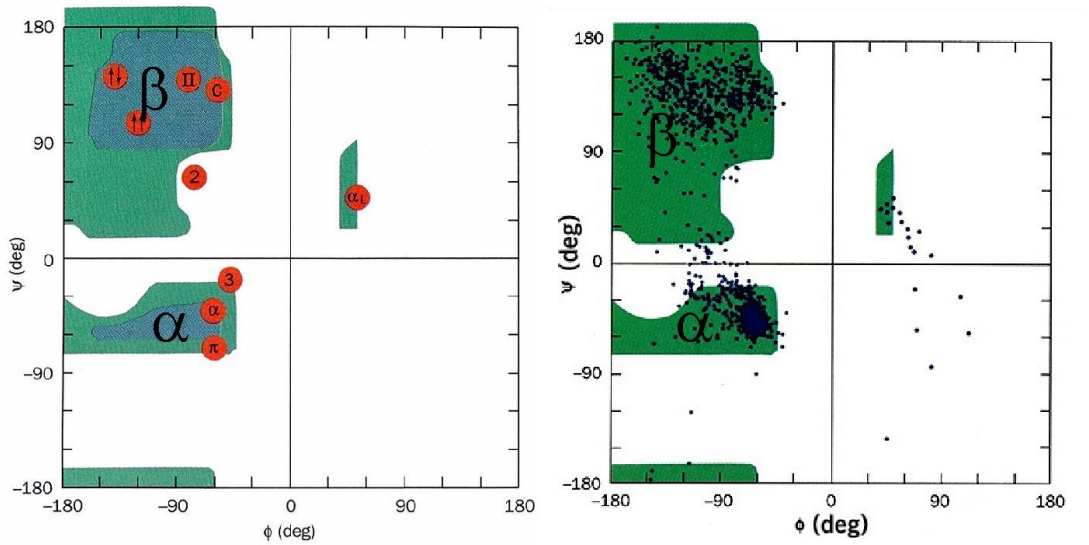


Figura 1: Diagramas de Ramachandran. Esquerda: Estruturas secundárias correspondentes às combinações estericamente permitidas para ângulos phi e psi. Direta: ângulos observados para todos as ligações em 12 proteínas com estruturas de alta resolução determinadas por cristalografia.

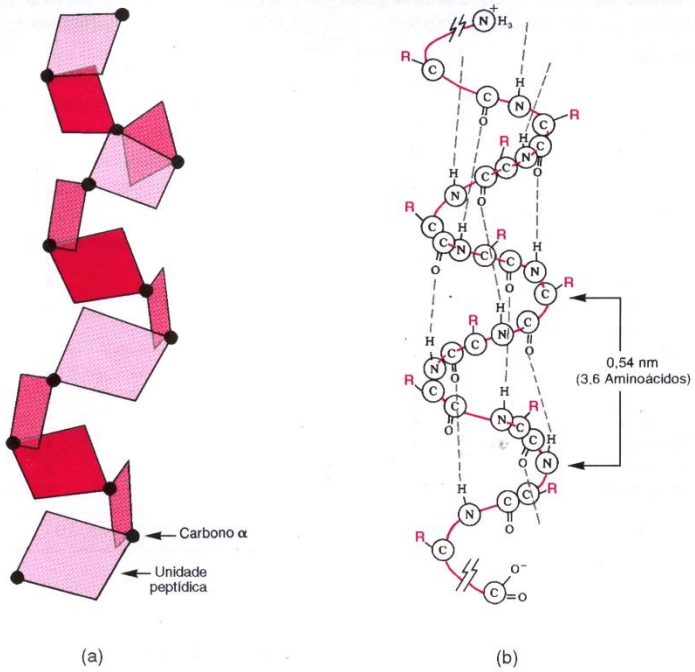


Figura 2: α-hélice.

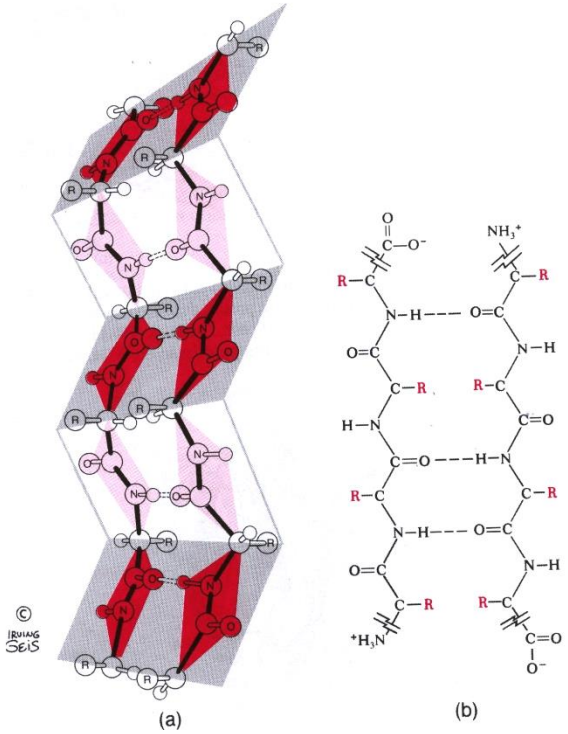


Figura 3: Folha β-pregueada.

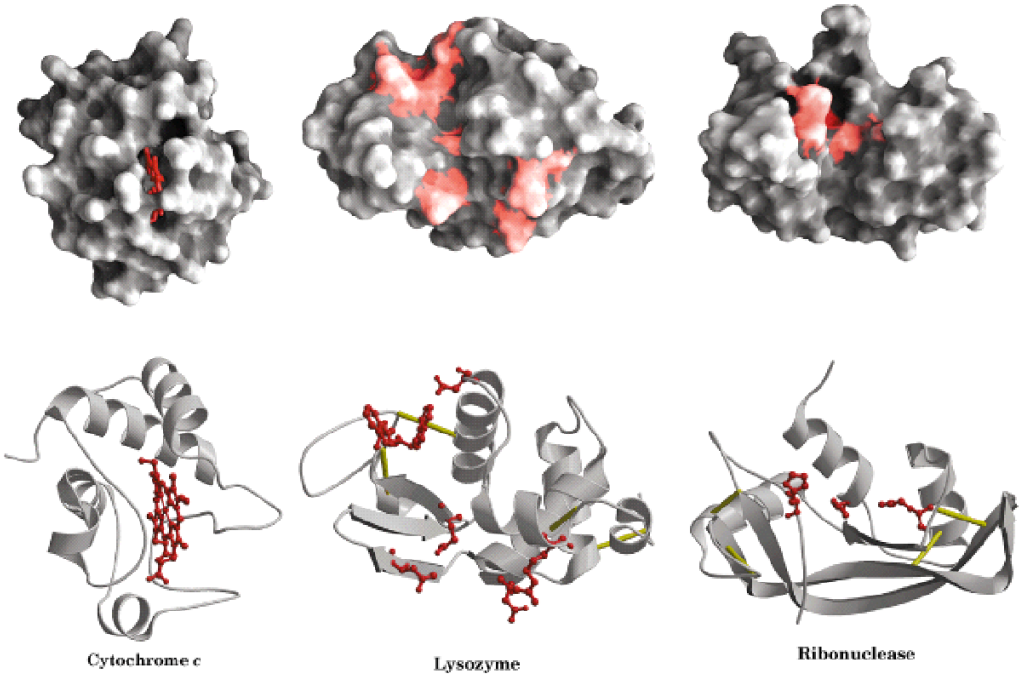
2. Há duas estruturas secundárias principais: α-hélice (Figura 2) e folha β-pregueada (Figura 3), que são estruturas organizacionais regulares e repetitivas. Estas duas estruturas podem ser caracterizadas por combinações de ângulos phi e psi (Figura 1) adotadas pela cadeia principal. Além de α-hélice e folha β, as proteínas globulares mostram também alças de formas definidas, mas irregulares e não repetitivas.

3. A estrutura terciária descreve o arranjo tridimensional da cadeia principal da proteína, incluindo a disposição espacial das cadeias laterais dos aminoácidos. Há muitas possibilidades de arranjos tridimensionais para a estrutura terciária das proteínas.
   a. As propriedades bioquímicas e biológicas de uma proteína são determinadas pelo arranjo tridimensional de sua cadeia, isto é, pela sua estrutura terciária. Logo, nas condições fisiológicas a proteína adquire uma estrutura terciária bem definida e necessária à sua função, que é conhecida como **estrutura nativa**. O desarranjo da estrutura terciária leva à perda de função da proteína, processo que é genericamente chamado de desnaturação.
   b. Em proteínas pequenas, a estrutura primária define a estrutura terciária nativa da proteína. Nestes casos os processos de desnaturação e renaturação da estrutura da proteína são reversíveis. A estrutura nativa é a conformação da proteína de menor nível de energia livre (G) e é alcançada espontaneamente (processo exergônico). O exemplo clássico desse comportamento é dado pela proteína RNAse A, uma enzima que no seu estado nativo catalisa a hidrólise de RNA. Para proteínas grandes o processo de desnaturação é irreversível e o fenômeno de alcance da conformação nativa é complexo e ainda mal entendido.
   c. A estrutura tridimensional das proteínas é mantida por ligações fracas como pontes de H, ligações iônicas e interações hidrofóbicas. A exceção é a ponte de dissulfeto (-S-S-), formada

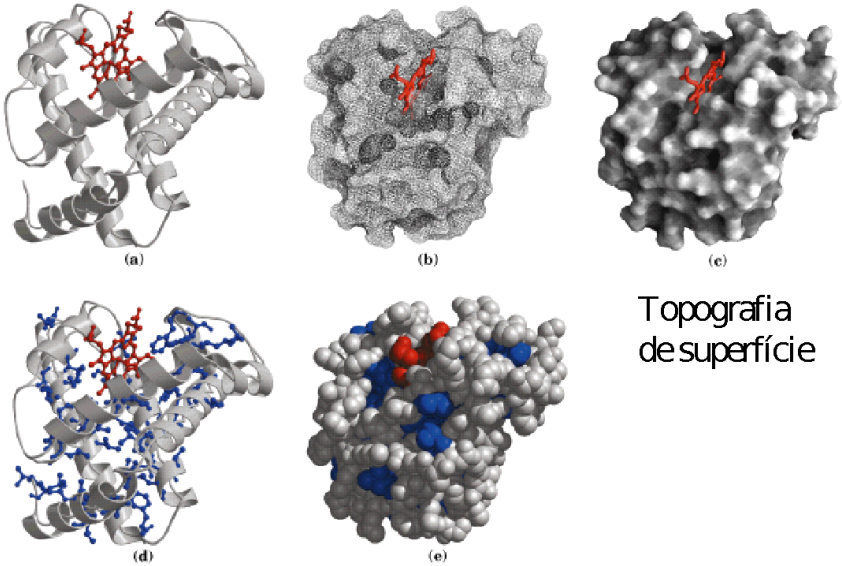
entre resíduos de cisteína, que, apesar de covalente, é importante na manutenção da conformação nativa de proteínas.

d. Proteínas possuem muitos grupos ionizáveis através de reação ácido-base, cujos pKs variam enormemente. O pI de uma proteína é definido como pH da solução na qual a carga líquida da molécula de proteína é nula.

4. Existem muitas maneiras diferentes para apresentar estruturas tridimensionais de proteínas.



Estrutura de mioglobina de baleia, uma proteína globular típica



Topografia de superfície

Fita (azul = Hϕ)

modelo "space-filling"

Exercícios do Módulo 6

1. Distinga estrutura secundária e terciária de uma proteína. Dê exemplos.

2. Descreva α-hélice e folha β–pregueada. Aponte as diferenças essenciais entre estas formas de estrutura secundária encontradas em peptídeos.

3. Discuta os dois diagramas de Ramachandran apresentados na Figura 1 e relacione-os com as estruturas apresentadas nas Figuras 2 e 3.

4. Descreva a experiência clássica de Anfinsen com a enzima ribonuclease A, indicando sua conclusão principal. Qual o papel das pontes dissulfeto na manutenção da estrutura nativa (terciária) da ribonuclease? Conceitue estrutura nativa e desnaturação de proteínas, mostrando a relação destes conceitos com a atividade enzimática da ribonuclease A. Que função termodinâmica promove espontaneamente a transição da ribonuclease de desnaturada para nativa?

5. Duas proteínas, apesar de terem diferenças quanto a alguns de seus aminoácidos, são capazes de desempenhar a mesma função. Explique como isto é possível.

6. Pesquisar informações sobre a estrutura de hemoglobina. Descrever a sua estrutura terciária e quaternária. Descrever as mudanças na estrutura quaternária que acontecem devido à ligação de oxigênio.

7. O que é efeito hidrofóbico e qual o seu papel na manutenção da estrutura terciária das proteínas? Qual o fator preponderante no efeito hidrofóbico: o entálpico ou o entrópico? Explique qualitativamente sua resposta.

8. Mostre porque uréia desorganiza a α-hélice.

MÓDULO 7: ENZIMAS – CONCEITOS GERAIS

1) O fato de uma reação ser espontânea não significa que ela ocorrerá imediatamente. Espontaneidade não está relacionado com velocidade.
Um exemplo: A quebra do açúcar (glicose) em subcomponentes é altamente exergônica, e constitui uma reação espontânea. No entanto, podemos armazenar açúcar no açucareiro sem medo de que ele exploda. Isto se deve à **energia (ou potencial) de ativação** das reações, conforme visto na **Figura 4** do **Módulo 3**. Deste modo, mesmo espontâneas, a grande maior parte das reações não ocorre imediatamente, mas ao longo de minutos, horas, anos ou séculos, muitos compostos sendo tão estáveis que são virtualmente não-reagentes, mesmo com sua desconstrução sendo espontânea.

2) Nos seres vivos, há necessidade de que estas reações ocorram em altas velocidades (milissegundos à nanossegundos). Evolutivamente, proteínas catalisadoras específicas foram selecionadas por suas habilidades em **acelerar reações exergônicas ou acoplar reações endergônicas à reações exergônicas, como a transferência de um grupo fosfato do ATP, tornando o balanço geral exergônico.**

3) Para uma reação ocorrer naturalmente, as moléculas envolvidas devem chocar-se espacialmente em ângulos restritos e com energias cinéticas mínimas, formar um composto intermediário e então gerar os produtos. Isto envolve, geralmente, muitos fatores alheios à determinância, o que torna as reações não catalisadas impeditivamente lentas.

4) Existem diversos modos pelos quais enzimas catalisam reações. Geralmente, enzimas provêm leito com seus resíduos de aminoácidos para o estado de transição da reação que catalisam, complementando a forma (estereoquímica), a carga e a polaridade das moléculas envolvidas. Isto diminui muito significantemente o potencial de ativação da reação, e, portanto, sua velocidade. Além disso, as enzimas proporcionam em seus espaços catalíticos vias para “encaixe” entre as moléculas reagentes que estão dentro dos ângulos apropriados para a reação ocorrer (orientação estereoespecífica), eliminando ainda este outro problema.

5) Reações catalisadas ocorrem, em média, 10^{12} vezes mais rapidamente que suas contrapartes não catalisadas, ou seja, um trilhão de vezes mais rápido, com as enzimas mais eficientes conhecidas alcançando a marca de aceleração de 10^{15}.

6) Com a exceção de algumas moléculas catalisadoras feitas de RNA, enzimas são em sua enorme maioria proteínas, mas frequentemente têm **grupos prostéticos**, como metais.

7) Enzimas geralmente são muitos específicas e têm apenas um substrato. Isto significa que cada célula tem milhões de enzimas, uma para cada reação que precisa ocorrer dentro dela.

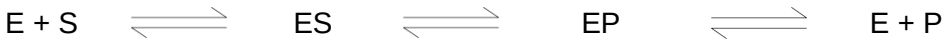
8) Enzimas frequentemente podem ser ativadas ou desativadas por outras enzimas controladoras, sinalizadoras dependentes de hormônios. Esta ativação ou desativação geralmente se dá pela transferência ou remoção de um grupo fosfato (originário do ATP) de um sítio específico da enzima. Isto é essencial para que a célula controle seu metabolismo, ajustando que tipo de reações ocorrem em seu interior, e para que o corpo ajuste as necessidades metabólicas de acordo com a disponibilidade energética corporal e as necessidades de sobrevivência momentâneas.

9) As enzimas são classificadas de acordo com um catálogo internacional, mencionado abaixo:

Classe	Nome	Tipo de Reação
1	Oxirredutases	Transferência de Elétrons (íons hidrido ou prótons)
2	Transferases	Reações de transferência de grupos
3	Hidrolases	Reações de Hidrólise
4	Liases	Clivagem de C-C, C-O, C-N ou outras ligações por eliminação, rompimento de ligações duplas ou anéis, ou adição de grupos a ligações duplas
5	Isomerases	Transferência de grupos dentro de uma mesma molécula produzindo formas isoméricas
6	Ligases	Formação de ligações C-C, C-O e C-N por reações de condensação acopladas à hidrólise de ATP ou cofatores similares

Fonte: Princípios de Bioquímica de Lehninger, 6a Edição, Página 191

10) Enzimas tradicionais não afetam o equilíbrio da reação, apenas acelerando (muito) o alcance de tal equilíbrio.
Imagine o seguinte exemplo:



Onde E é Enzima, S é Substrato e P é Produto. Se não houver consumo do produto, e passar a acontecer consumo do substrato, a reação passará a ocorrer no sentido inverso.

11) Algumas enzimas catalisam **reações irreversíveis**. Estas reações invariavelmente envolvem gasto de energia, na forma de ATP, pela célula. Elas são usualmente pontos de controle do metabolismo, alvo de hormônios e de controles da própria via, regulando a velocidade com a qual uma cascata de reações ocorre, ditando o sentido do metabolismo. Enzimas com esta função transformam substrato em produto, mas são incapazes de transformar seu produto em seu substrato.

Exercícios do módulo 7

1) Grande parte do poder catalítico de uma enzima provém da energia livre liberada ao estabilizar as moléculas substrato de sua reação. Tal estabilização dá-se através de qual tipo de interações químicas?

2) Quais fatores determinam a especificidade de uma enzima por seu(s) substrato(s)?

3) Esquematize, com Energia Livre no eixo das ordenadas e Coordenada da Reação nas abcissas, uma reação simples S $\rightleftharpoons$ P e então a mesma reação catalisada, indicando os compostos ES e EP na trajetória.

4) Pesquise em livros e explique os fenômenos proporcionados pelas enzimas de:

a) Dessolvatação
b) Redução da Entropia
c) Estabilização, evitando redistribuição de elétrons
d) Ajuste Induzido

5) As enzimas podem fazer ligações covalentes com seus substratos? Explique, caso positivo ou caso negativo.

1. Enzimas são catalisadores biológicos cuja natureza química é proteica. A natureza proteica das enzimas lhes proporciona alto grau de especificidade.
2. A grande maioria das reações biológicas não ocorre, ou ocorrem a velocidades baixíssimas nas condições fisiológicas de pH e temperatura. Logo, as reações biológicas, em geral, necessitam de catálise para ocorrer, isto é, necessitam de enzimas. Para cada reação há uma enzima específica.
3. Na reação genérica A $\rightarrow$ B a direção espontânea da reação é dada pela variação de energia livre, ΔG^0, conforme esquematizado no gráfico da Figura 5.

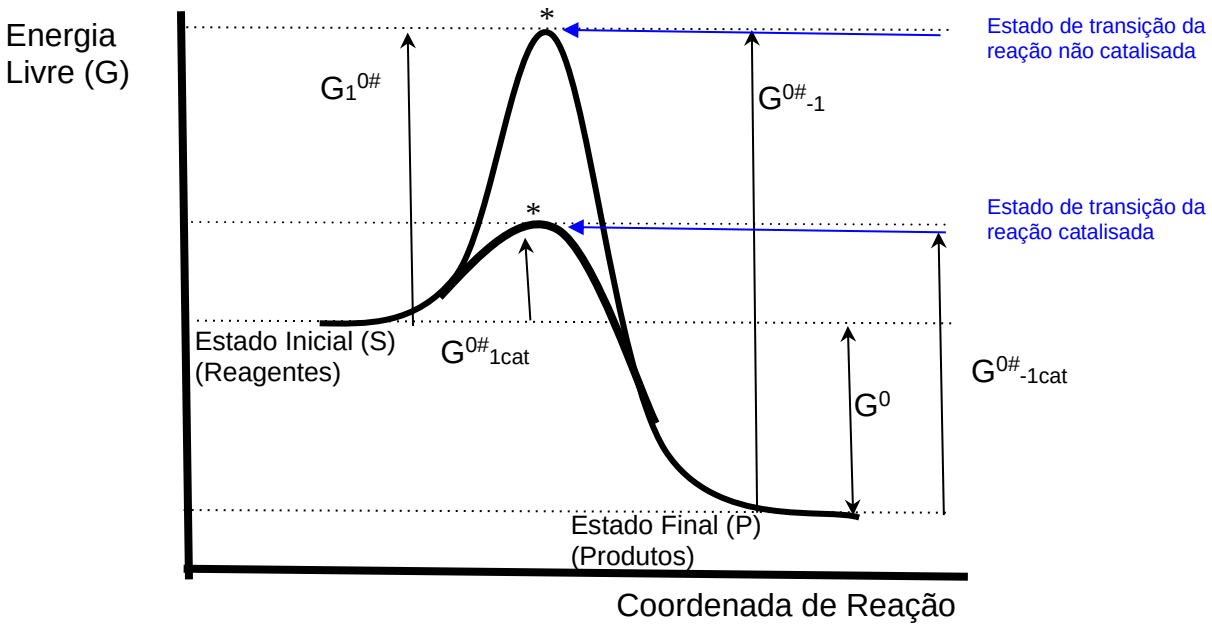
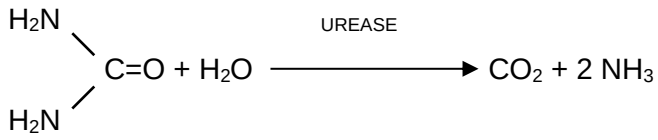


Figura 6. Variação de energia livre (G) na reação genérica A □ B.

ΔG^0 é uma constante que se relaciona com a constante de equilíbrio da reação pela expressão $-\Delta G^0 = 2.3\ RT \log K$. Por outro lado, as velocidades das reações A$\rightarrow$B e B$\rightarrow$A ou, respectivamente, as constantes de velocidade k_1 e k_{-1} não dependem do ΔG^0 da reação, mas dos, respectivos, $\Delta G_1^{0\neq}$ e $\Delta G_{-1}^{0\neq}$ que por sua vez só dependem da energia livre (G) do estado de transição (energias de ativação). **A enzima (catalisador) não muda o ΔG^0 da reação, pois catalisadores não interferem com os estados inicial e final das reações, mas mudam o "caminho" da reação e, por consequência <u>diminuem a energia do Estado de Transição</u>.**

4. Uréia é uma substância muito estável em água, mas que pode ser rapidamente decompostas por hidrólise se a reação for catalisada pela **enzima urease**:



Trata-se de reação de primeira ordem, onde $v=k_1$[uréia], apesar da equação estequiométrica indicar a existência de 2 reagentes. Esta reação pode ser acompanhada em tubo de ensaio no laboratório. As Tabelas 3 e 4 mostram resultados obtidos na prática.

Tabela 3. Cinética da enzima urease.

Tubo nº	Tempo (minuto)	NH_3(µmoles)
1	0	0
2	2	0.084
3	4	0.168
4	6	0.252
5	8	0.336
6	10	0.420

Concentração da uréia: 5 mM; Concentração da urease: 0,1 µg/mL;
Volume de reação: 1 mL; Temperatura: 30ºC.

Os dados da Tabela 3 mostram que a velocidade da reação é constante ao longo do tempo estudado. Já os dados da Tabela 4 mostram variações relativamente complexas da **velocidade de reação em função da concentração da uréia** para um período de 10 minutos de reação. Os dados da Tabela 4 permitem medir experimentalmente duas constantes importantes das reações enzimáticas V_{max} (velocidade máxima) e K_m (constante de Michaelis) através da equação $v = V_{max}[S] / (K_m + [S])$.

Tabela 4. Cinética da enzima urease.

Tubo n°	Uréia (mM)	Urease (⌠g)	NH_3 (⌠moles)
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

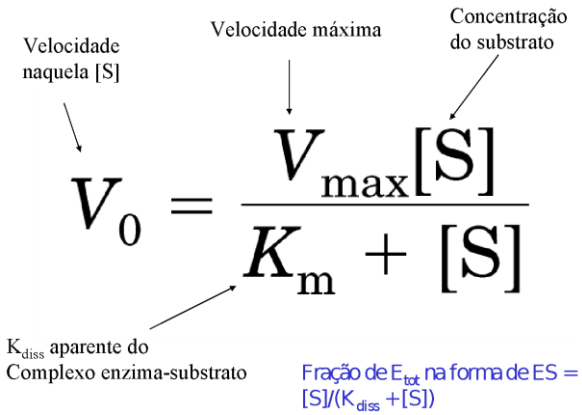
Os significados de V_{max} e K_m são definidos no modelo de cinética enzimática proposto por Michaelis e Menten no início do século passado onde ES é um **complexo enzima – substrato** formado antes de conversão do substrato em produtos.

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_{cat}} E + P$$

A derivação da **equação Michaelis – Menten:**

$v = V_{max}[S] / (K_m + [S]) = k_{cat}[E_t][S] / (K_m + [S])$

é apresentada na próxima página.



$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_{cat}} E + P \qquad Ks = [E][S]/[ES] = k_{-1}/k_1$$

Velocidade de reação = $d[P]/dt = kcat[ES]$

Podemos assumir que **$d[ES]/dt = 0$** **(premissa de estado estacionário)**

Logo: taxa de formação de ES = taxa de sua destruição

$$k_1[E][S] = (k_{-1} + k_{cat})[ES]$$
$$k_1\{[E_{TOT}]-[ES]\}[S] = (k_{-1} + k_{cat})[ES]$$
$$k_1[E_{TOT}][S] - k_1[ES][S] = (k_{-1} + k_{cat})[ES]$$
$$k_1[E_{TOT}][S] = k_1[ES][S] + (k_{-1} + k_{cat})[ES]$$
$$k_1[E_{TOT}][S] = [ES]\{k_1[S] + (k_{-1} + k_{cat})\}$$
$$[ES] = k_1[E_{TOT}][S]/\{k_1[S] + (k_{-1} + k_{cat})\}$$
$$[ES] = [E_{TOT}][S]/\{[S] + (k_{-1} + k_{cat})/k_1\}$$
$$[ES] = [E_{TOT}][S]/\{[S] + K_M\} \text{ onde } K_M = (k_{-1} + k_{cat})/k_1$$

Logo: velocidade = $kcat[E_{TOT}][S]/(K_M + [S])$

$V_o = V_{max}[S]/(K_M + [S])$ onde $V_{max} = k_{cat}[E_{TOT}]$

Notar que $K_M = (k_{-1} + k_{cat})/k_1$

Logo, se $k_{-1} >> k_{cat}$ ➔ $K_M = k_{-1}/k_1 = Ks = [E][S]/[ES] =$ Constante de dissociação do complexo ES (enzima-substrato)

Condição de equilíbrio rápido Entre E, S e ES.

5. Substâncias que reduzem a atividade de uma enzima são chamadas **inibidores**. Em termos gerais, inibidores podem atuar em várias maneiras. Aqui vamos focalizar em **inibidores que ligam reversivelmente com a enzima com constantes de dissociação K_I**. Estes tipos de inibidores podem atuar em duas maneiras diferentes: a) Eles podem competir com o substrato para o mesmo sítio de ligação na superfície da enzima livre. Neste caso são chamados **inibidores competitivos** ou b) Eles podem ligar em outro sítio na enzima livre (E) e/ou no complexo enzima-substrato (ES). Estes inibidores são chamados **inibidores mistos/não-competitivos** se podem ligar a E e ES e são chamados **acompetitivos** se ligam-se somente ao complexo ES.
6. A presença de um inibidor competitivo se manifesta em uma mudança no valor do K_m:

$$K_{m\,obs} = K_m\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) = \alpha K_m \;\therefore\; \alpha = \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)$$

$$V_0 = \frac{V_{Max}[S]}{\alpha K_m + [S]}$$

7. A presença de um inibidor misto/não-competitivo se manifesta em uma mudança nos valores do K_m e no valor do V_{max}:

$$K_{m\,obs} = K_m \frac{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I`}\right)} = \frac{\alpha K_m}{\alpha`} \rightarrow V_{Max\,obs} = \frac{V_{Max}}{\alpha'}$$

$$V_0 = \frac{V_{Max}[S]}{\alpha K_m + \alpha'[S]}$$

8. A presença de um inibidor acompetitivo se manifesta em uma mudança nos valores do K_m e no valor do V_{max}:

$$K_{m\,obs} = \frac{K_m}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I`}\right)} = \frac{K_m}{\alpha`} \rightarrow V_{Max\,obs} = \frac{V_{Max}}{\alpha'}$$

$$V_0 = \frac{V_{Max}[S]}{K_m} + \frac{V_{Max}}{\alpha'}$$

Exercícios do módulo 8

1) As velocidades de uma reação enzimática foram determinadas para diversas concentrações de substrato, conforme a tabela abaixo:

[S] (μM)	**V (μmol/L.min)**
5	22
10	39
20	65
50	102
100	120
200	135

Os gráficos de, respectivamente, V em função de [S] e 1/V em função de 1/[S] podem servir para determinar K_m e V_{max}? Como?

2) Numa reação enzimática, o valor de V_{max}, mas não o de K_m é diretamente proporcional à concentração da enzima? Justifique.

3) A velocidade inicial de uma reação enzimática em função da concentração do substrato S, na ausência e na presença dos inibidores A e B segue os dados da tabela abaixo:

[S] (⌠M)	**VELOCIDADE (MMOL/L X MIN)**		
	SEM I	**Com Inibidor A**	**Com Inibidor B**
1,25	1,72	0,98	1,01
1,67	2,04	1,17	1,26
2,5	2,63	1,47	1,72
5,0	3,33	1,96	2,56
10,0	4,17	2,38	3,49

a) Qual é a classe dos inibidores A e B?

b) Determine V_{max} e K_m na ausência e presença dos inibidores.

4) Utilizando-se dos valores de K_m e V_{max} determinados nas questões 1 e 3, esquematize num mesmo gráfico, para as duas reações, V em função da concentração de substrato, expressa em múltiplos de K_m. No eixo dos Y ajuste arbitrariamente as escalas para cada reação fazendo coincidir os pontos de $V = V_{max}$. Como são as curvas para duas reações? Justifique o resultado.

5) O que são enzimas alostéricas? Defina utilizando-se de gráficos esquemáticos de V em função de [S], compare uma enzima michaeliana (da questão 4) com uma enzima alostérica positiva e com uma enzima alostérica negativa.

1. Os carboidratos são compostos que apresentam a fórmula empírica $(CH_2O)_n$ (n> ou = 3), sendo funcionalmente poliidroxialdeídos ou poliidroxicetonas. Os carboidratos mais simples são os monossacarídeos, que se apresentam nas formas de aldoses ou cetoses, conforme o grupo funcional carboxílico que possuem, isto é, respectivamente, aldeído ou cetona. Há duas trioses: o gliceraldeído, uma aldotriose, e a dihidroxiacetona, uma cetotriose (Figura 8). O gliceraldeído apresenta um carbono (C2) assimétrico, dando origem a dois isômeros óticos, as formas D e L (Figura 9). Já a dihidroxiacetona não possui C assimétrico e, por isso, não mostra esse tipo de isomeria. Os outros monossacarídeos podem ser derivados pelo crescimento da cadeia destas duas trioses. A Figura 10 mostra a família D derivada do D-gliceraldeído, cujas fórmulas estruturais planares obedecem às regras de Fisher.

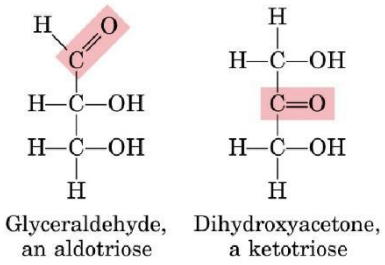


Figura 8. Gliceraldeído e dihidroxiacetona.

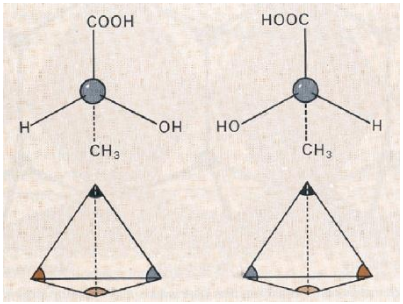


Figura 9: Carbono quiral ou carbono assimétrico.

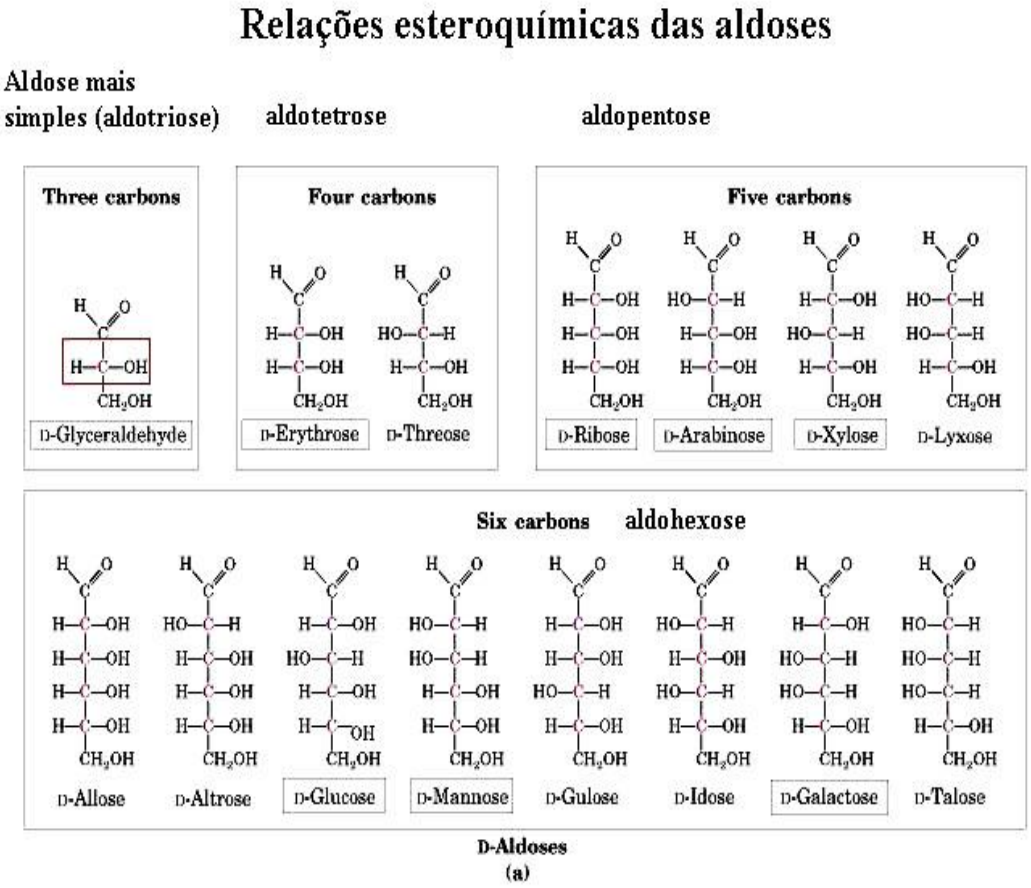


Figura 10. Família D derivada do D-gliceraldeído.

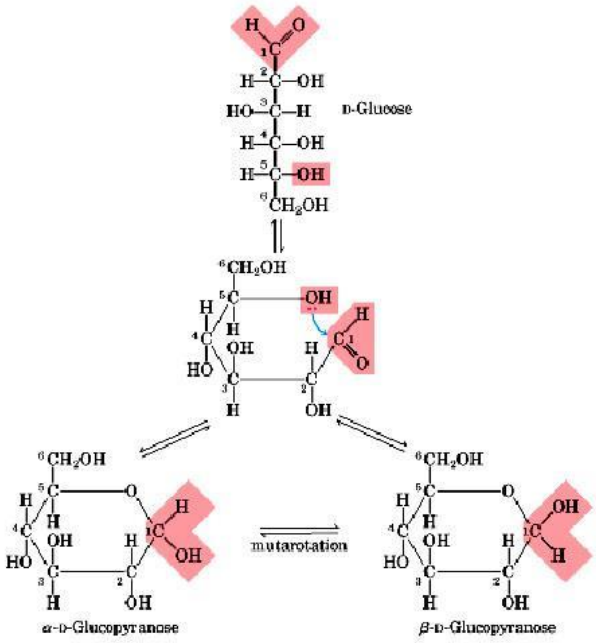


Figura 11. Ciclização da D-glicose.

O aumento da cadeia do monossacarídeo leva ao aparecimento de novos Cs assimétricos e, portanto, mais isômeros estruturais, também chamados estereoisômeros. O número de isômeros é dado pela expressão 2^n onde n é o número de carbonos assimétricos. Por exemplo, em aldoexoses há 4 Cs assimétricos, logo o número de isômeros é 2^4 =16, sendo 8 da forma D e 8 da forma L. Mas, as estruturas lineares como representadas na Figura 10 tanto para pentoses como para hexoses são poucos estáveis em solução, formando estruturas cíclicas segundo a reação mostrada na Figura 11. Esta é uma reação bem conhecida da química orgânica, pela qual um álcool (OH) faz uma adição nucleofílica a carbonila de um aldeído, formando um composto de condensação da conhecido como semiacetal. No caso do exemplo da Figura 11 a hexose é a D-glicose e, como a figura mostra, a ciclização leva ao aparecimento de uma outra isomeria estrutural devido às duas posições possíveis do OH do C1 em relação ao plano do anel, gerando os isômeros α e β. É importante enfatizar que o OH do C1 não é quimicamente equivalente aos demais OHs que são alcoólicos, sendo por isso chamado de OH glicosídico. A existência do OH glicosídico permite que todos os monossarídeos sejam oxidados em condições brandas pelo reagente de Fehling, uma reação de oxido-reação na qual os OHs alcoólicos não participam.

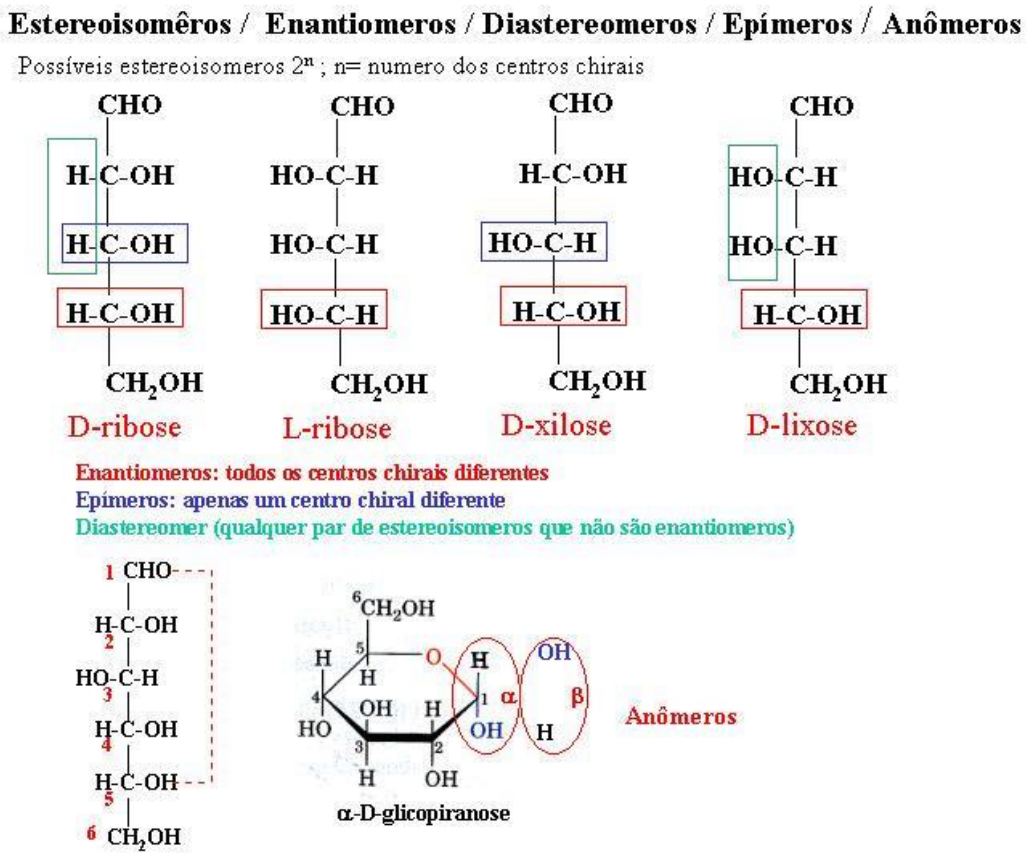
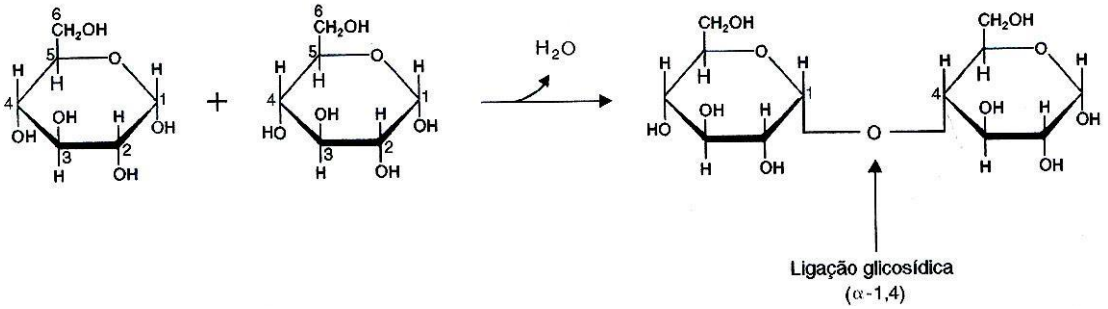


Figura 12. Nomenclatura para estereoisômeros.

2. Conforme exemplificado na Figura 12 há uma nomenclatura especificamente designada para distinguir pares de estereoisômeros. Enantiômeros possuem estruturas isoméricas que são uma imagem especular da outra, por exemplo, cada membro da família D de hexoses mostrada na Figura 10 tem um, e somente um, enantiômero na família L. São epímeros pares de estereoisômeros que diferem apenas pela configuração de um C assimétrico. São anômeros os dois isômeros resultantes da posição do OH glicosídico do C1 na estrutura cíclica da hexose. E, finalmente, são denominados diastereoisômeros pares de isômeros que não caem em nenhuma das categorias anteriores.

3. Ligação glicosídica: os monossacarídeos podem se apresentar na forma de oligo ou polissacarídeos, onde os monômeros são ligados através de ligações glicosídicas. Oligossacarídeos são formados por um pequeno número de monossacarídeos, resultantes da condensação de um OH glicosídico com um OH alcoólico, como exemplificado abaixo pela dimerização de duas moléculas de α-glicose por ligação 1-4, originando o dissacarídeo maltose:



Caso a ligação glicosídica envolva a condensação dos dois OHs glicosídicos como é o caso da trealose, uma α1-1-diglicose, o dissacarídeo não pode ser oxidado pelo reagente de Fehling (dissacarídeo não redutor). Já a maltose, que possui um OH glicosídico livre é um dissacarídeo redutor, sendo oxidado pelo reagente de Fehling.

4. Polissacarídeos são polímeros constituídos de centenas ou milhares de resíduos de monossacarídeos, geralmente glicose, formando cadeias lineares, como a celulose (β1-4-poliglicose), ou cadeias ramificadas, como o glicogênio e o amido.
   O glicogênio é altamente ramificado, as suas cadeias lineares são formadas por ligações α1-4-glicosídicas e suas ramificações decorrem de ligações α1-6-glicosídicas (Figura 13). O glicogênio apresenta uma única extremidade redutora livre (C1 no resíduo final na última molécula de glicose da cadeia) e inúmeras extremidades não redutoras. A partir das extremidades não redutoras há acréscimo ou retirada de resíduos do polímero. Portanto, as moléculas de glicogênio não têm tamanhos definidos.

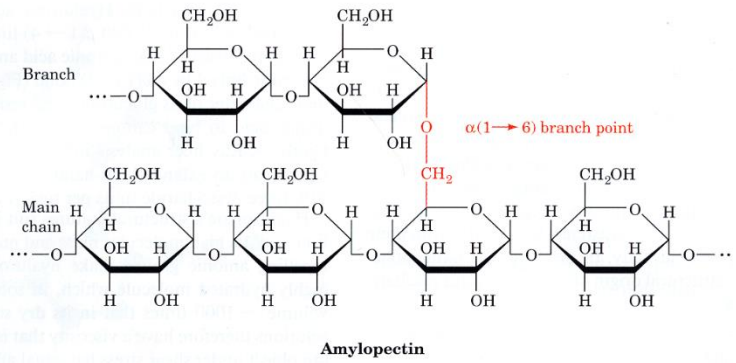


Figura 13. Glicogênio Poli (α1-4) (α1-6) glicose.

Exercícios do Módulo 9

1) Desenhe o conjunto dos isômeros de D-aldoses de 6 C, através das fórmulas de projeção de Fisher. Quantos epímeros possui uma hexoaldose? Identifique todos os epímeros de D-glicose. Existem pares enantioméricos na família D de monossacarídeos? Explique.

2) Descreva o fenômeno da mutarrotação da D-glicose, incluindo as reações químicas pertinentes com as respectivas fórmulas estruturais dos reagentes. O que este fenômeno tem a ver com os conceitos de C anomérico e anômeros?

3) Compare os dissacarídeos maltose e sacarose, identificando a ligação glicosídica em cada caso. Por que maltose é redutora e sacarose não é?

4) Analise a estrutura do glicogênio. Procure destacar as vantagens e desvantagens da função deste polímero como composto de reserva energética.

5) Verifique as principais características dos polissacarídeos estruturais, comparando celulose, quitina e glicosaminoglicanos (estes também chamados mucopolissacarídeos).

6) A porção de natureza sacarídica de algumas glicoproteínas pode servir como sítio de reconhecimento celular. Para desempenhar esta função, os oligossacarídeos ou glicoproteínas devem ter a capacidade de formar um grande número de diferentes estruturas. Qual dos dois pode produzir uma maior variedade de estruturas: oligopeptídeos compostos de cinco resíduos de diferentes aminoácidos ou oligossacarídeos compostos de cinco resíduos de diferentes monossacarídeos? Explique.

7) Frutose, o principal açúcar do mel, é comumente usada como adoçante de alimento. Este açúcar na forma β-D-piranose é provavelmente a substância mais doce conhecida. A forma β-D-furanose é muito menos doce.

a) Quais são as estruturas da β-D-frutopiranose e β-D-frutofuranose?

b) A doçura do mel diminui ao deixá-lo em repouso e ao mesmo tempo aumentando a temperatura. Explique.

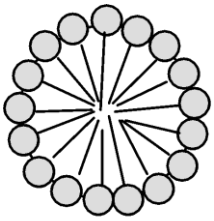
8) *Interconversão das formas de D-galactose.* Uma solução recém-preparada da forma α de D-galactose (1g/ml em um tubo polarimétrico de 1 dm) mostra uma rotação óptica de + 150,7º. Quando deixada em repouso por um longo período de tempo a rotação decresce gradualmente até atingir um valor de equilíbrio igual a + 80,2º. Em contraste, uma solução recém-preparada (1g/ml) da forma β mostra rotação ótica de apenas +52,8º . Quando esta solução é deixada em repouso por várias horas a rotação aumenta até o valor de equilíbrio igual a +80,2º , valor idêntico àquele observado para a α-D-galactose.

a) Escreva as fórmulas de projeção de Haworth das formas α e β da D-galactose. Qual característica distingue as duas formas?

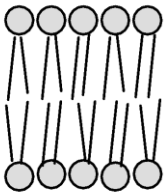
b) Por que a rotação de uma solução recém-preparada da forma α decresce gradualmente com o tempo? Explique por que soluções das formas α e β (de concentrações iguais) atingem o mesmo valor de rotação óptica no equilíbrio?

c) Calcule a composição percentual das duas formas de galactose no equilíbrio.

1. Moléculas anfifílicas, como lipídeos com uma única cauda hidrofóbica, ácidos graxos livres e detergentes, quando em solução aquosa e acima de um limiar de concentração **(concentração micelar crítica ou cmc)** formam agregados globulares chamados micelas.
2. Por outro lado, lipídeos com duas caudas hidrofóbicas, como glicerofosfolipídeos e esfingolipídeos, tendem a formar bicamadas lipídicas, que são a base estrutural das membranas biológicas.

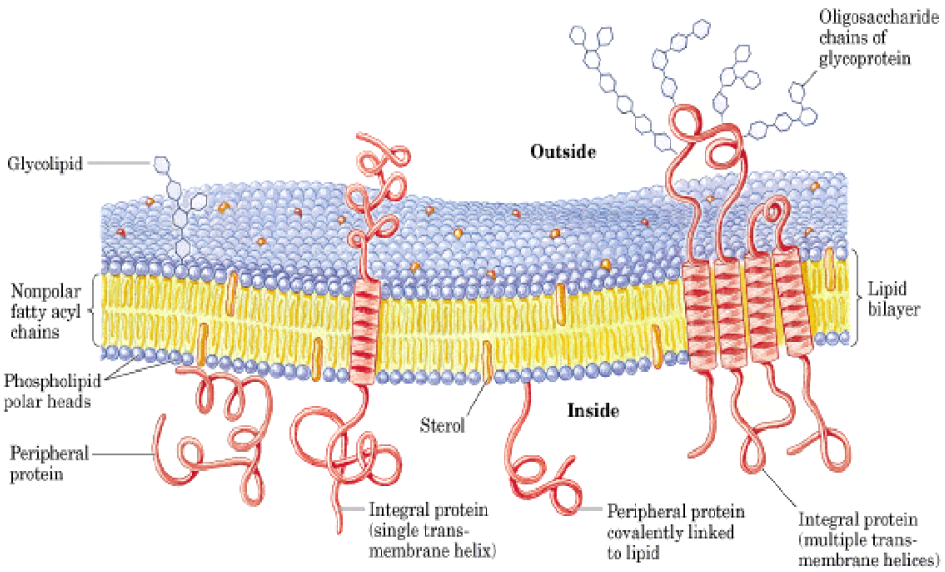


Micela

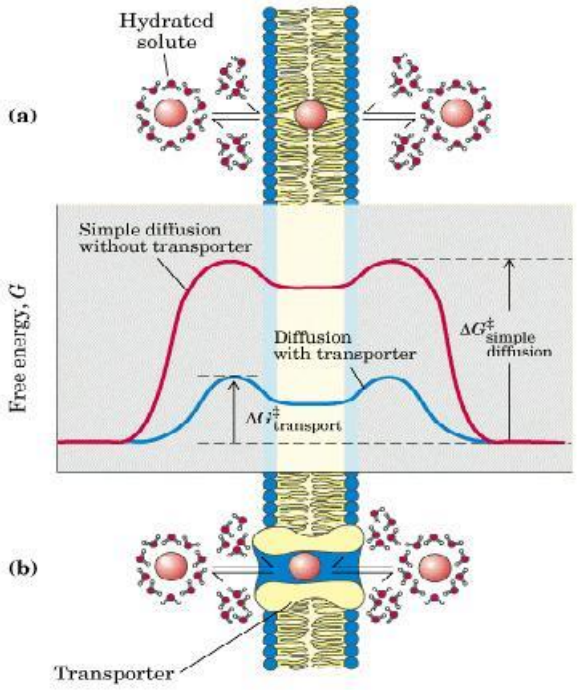


Bicamada

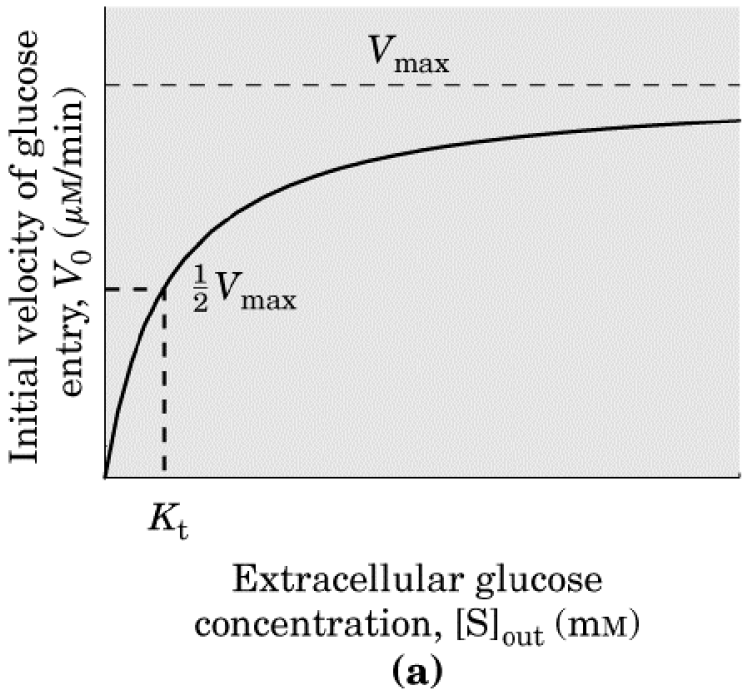
3. As membranas biológicas são compostas por proteínas associadas a uma matriz de bicamada lipídica. As proteínas que compõe as membranas pertencem a duas categorias: a) integrais ou intrínsecas e b) periféricas ou extrínsecas. Este arranjo estrutural foi originalmente proposto em 1972 por Singer e Nicholson como o modelo de mosaico fluído para as membranas biológicas, que foi plenamente confirmado por resultados experimentais estruturais e funcionais.



Modelo de mosaico fluído para membranas biológicas



4. As membranas são barreiras hidrofóbicas que oferecem grande resistência à passagem de solutos hidrofílicos, cuja permeação exige proteínas transportadoras específicas, conforme esquematizado na figura abaixo. Desta maneira a membrana, através de transportadores específicos, regula o transporte de metabolitos entre compartimentos celulares.



5. Um exemplo clássico de transporte é a tomada de glicose pela hemácia mediada por um transportador específico, cuja velocidade depende da concentração externa de glicose e

obedece a uma curva hiperbólica de saturação já bem conhecida da cinética enzimática, sendo K_t análogo a K_m:

Esta forma de transporte é conhecida como transporte passivamente mediado ou difusão facilitada. Trata-se de um processo exergônico, pelo qual o soluto, no caso a glicose, atravessa espontaneamente a membrana indo do compartimento de maior para o de menor concentração.

6. Existem 5 transportadores conhecidos que mediam a difusão facilitada de glicose em humanos: GLUT1 a 5, cujos K_ts são diferentes para atender as necessidades funcionais dos tecidos nos quais são expressos. GLUT1 é o transportador em hemácias, já GLUT2 é expresso no fígado e células beta do pâncreas, enquanto GLUT4 aparece no músculo esquelético, tecido adiposo etc.
7. Mas, no epitélio do intestino a glicose obtida da dieta é transportada para dentro da célula contra o gradiente de concentração, portanto através de um processo endergônico que exige consumo de energia metabólica para ocorrer e é referido como transporte ativo. Neste caso o transportador é chamado symport, pelo qual a glicose é transportada junto com Na^+ e é termodinamicamente possível porque existe um gradiente eletroquímico de Na^+ de fora para dentro da célula. Há múltiplas formas de transporte ativo, das quais este exemplo da glicose é apenas uma delas. Grande parte da energia metabólica consumida pelas células se deve á manutenção da enorme diversidade de transportadores que promovem a transferência de metabolitos e íons contra gradientes de concentração.

Exercícios do Módulo 10

1) O que é concentração micelar crítica? Como varia tamanho e forma de micelas formadas por anfifílicos de uma única cauda hidrocarbonada? Explique.

2) Uma hipótese central na pesquisa de membranas é que os lipídeos da membrana devem ser fluídos (em oposição a "congelados") a fim de que a membrana possa desempenhar suas funções. O apoio para esta hipótese é fornecido pela observação de que a composição de ácido graxo das membranas pode ser alterada pelas condições nas quais a bactéria cresce. Por exemplo, se uma bactéria está crescendo em temperatura menor que a normal, as quantidades observadas de ácidos graxos insaturados (relativas ao conteúdo de ácido graxo saturado) estão acima do normal. Contrariamente, se a bactéria está crescendo em temperatura acima da normal, as quantidades observadas de ácidos graxos insaturados nos lipídeos da membrana (relativas aos ácidos graxos saturados) estão abaixo do normal.

a) Sugira razões para o fato de que o conteúdo lipídico na membrana bacteriana deve ser fluido para que a membrana intacta opere apropriadamente.

b) Explique como a alteração observada nos níveis dos ácidos graxos insaturados relativa aos níveis dos ácidos graxos saturados, em diferentes temperaturas de crescimento, apoia a hipótese da fluidez da membrana.

3) Forneça uma explicação termodinâmica para o fato de que moléculas de fosfolipídio difundem rapidamente no plano da bicamada, mas muito lentamente mudam de uma face à oposta.

4) Descreva os mecanismos pelos quais detergentes extraem proteínas integrais de membrana, mantendo-as em solução.

5) Explique porque soda funciona bem para desentupir pias entupidas com gordura animal.

6) Para saber se uma bactéria aceitava leucina e etileno glicol por transporte mediado ou não mediado, foram feitas medidas de velocidade inicial de tomada em função da concentração de ambas substâncias, resultando na tabela fornecida abaixo. O que você conclui do exame dessa tabela? Explique e calcule K_t e V_{max} se encontrar evidências de transporte mediado.

Componente	Concentração [M]	Velocidade Inicial (unidades arbitrárias)
Leucina	1×10^{-6}	110
	2×10^{-6}	220
	5×10^{-6}	480
	1×10^{-5}	830
	3×10^{-5}	1700
	1×10^{-4}	2600
	5×10^{-4}	3100
	1×10^{-3}	3200
Etileno glicol	1×10^{-3}	1
	5×10^{-3}	5
	0,01	10
	0,05	50
	0,1	100
	0,5	500
	1,0	1000

7) Células epiteliais de intestino de camundongo isoladas em cultura transportam L-leucina e D-leucina mostrando K_t (mM) e $V_{max,}$ respectivamente iguais a: 0,24 e 420 para L-leucina e 4,7 e 310 para D-leucina, ambos em presença de Na^+ no meio de cultura. Mas na ausência de Na^+ , L-leucina mostra 0,24 e 23 enquanto D-leucina mostra 4,7 e 5 para K_t (mM) e V_{max}, respectivamente. Classifique esse transportador de leucina quanto ao tipo e mecanismos de ação. Que efeitos você

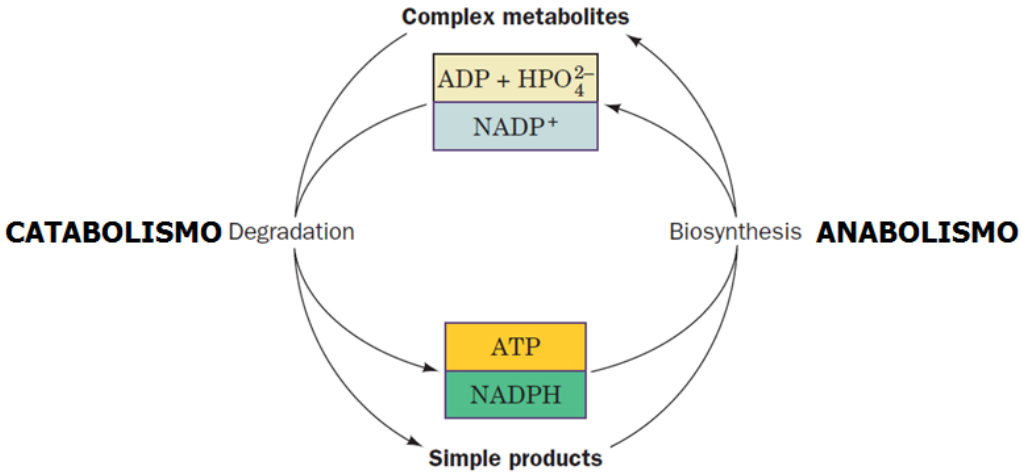
esperaria se nesse meio de cultura fosse colocada valinomicina (ionóforo de Na+)? E se fosse dissolvida ouabaína (inibidor da ATPase Na+/K+) no meio de cultura? Explique.

8) *O pH e a absorção de drogas*. A droga aspirina, intensamente receitada, é um ácido fraco com um pK_a de 3,5. A aspirina é absorvida para o sangue através das células de revestimento do estômago e do intestino delgado. Para uma substância ser absorvida ela deve atravessar facilmente a membrana celular. A passagem através da membrana celular é determinada pela polaridade da molécula: moléculas iônicas (carregadas) e moléculas altamente polares passam lentamente, enquanto aquelas neutras e hidrofóbicas passam rapidamente. Como o pH do suco gástrico é cerca de 1 e o pH no intestino delgado, cerca de 6, pergunta-se:

a) Escreva por fórmulas estruturais a ionização reversível da aspirina.

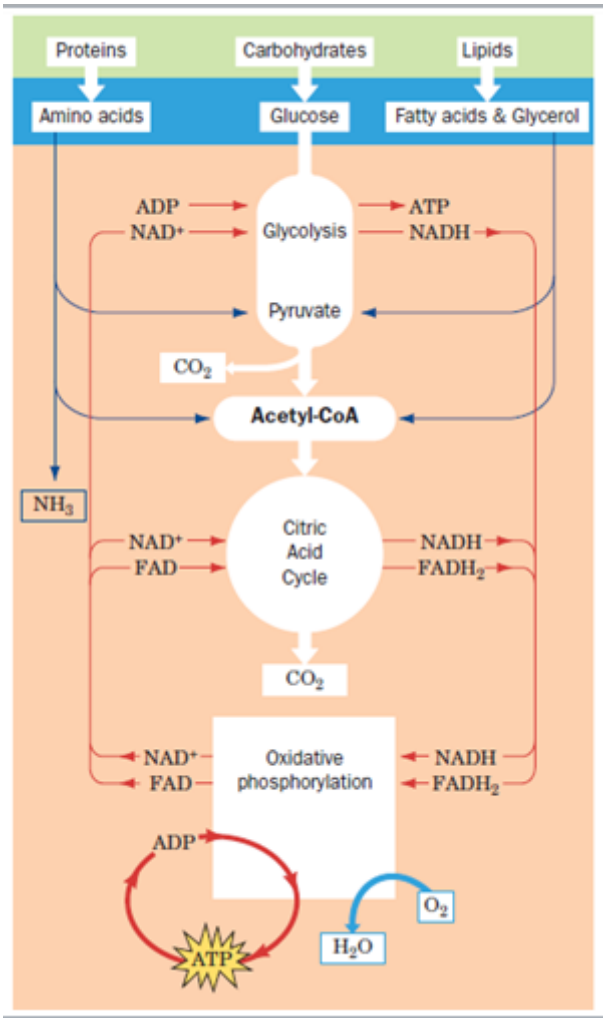
b) Onde a aspirina é mais absorvida para a corrente sanguínea, no estômago ou no intestino delgado? Justifique claramente a sua escolha.

1) Metabolismo é o conjunto das reações químicas que ocorrem num organismo vivo com o fim de promover a satisfação de necessidades estruturais e energéticas. O metabolismo tem quatro funções específicas: (1) obter energia energia química pela degradação de nutrientes ricos em energia oriundos do ambiente; (2) converter as moléculas dos nutrientes em unidades fundamentais precursoras das macromoléculas celulares; (3) reunir e organizar estas unidades fundamentais em proteínas, ácidos nucléicos e outros componentes celulares; (4) sintetizar e degradar biomoléculas necessárias às funções especializadas das células.
2) O metabolismo pode ser dividido em duas "fases": catabolismo e anabolismo. O catabolismo é a fase degradativa do metabolismo; nela, as moléculas orgânicas nutrientes, carboidratos, lipídios e proteínas provenientes do ambiente ou dos reservatórios de nutrientes da própria célula são degradados por reações consecutivas em produtos finais menores e mais simples. O anabolismo é uma fase sintetizante do metabolismo, na qual unidades fundamentais são reunidas para formar as macromoléculas componentes das células, como as proteínas, DNA etc.. Para ocorrer essas duas "fases" do metabolismo, é necessário um trânsito acentuado de energia. No catabolismo, por haver a "quebra" de moléculas, há a liberação de energia; por outro lado, o anabolismo é uma fase de síntese, necessitando de energia para sua ocorrência.
3)

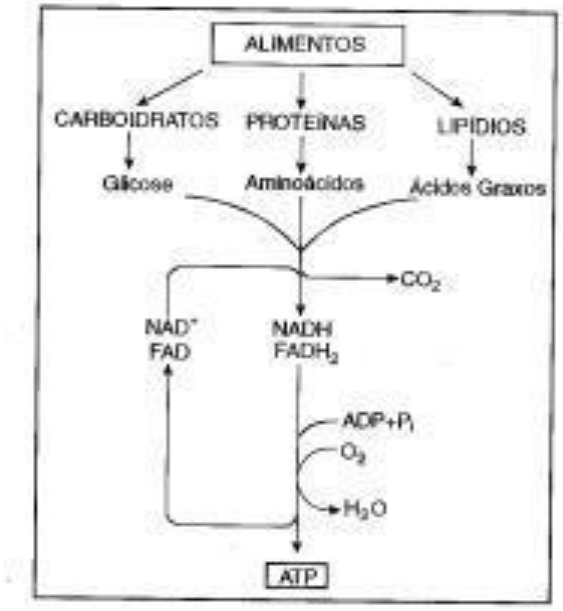


Vias metabólicas:

São Irreversíveis: Síntese e degradação são diferentes; apresentam diversos pontos de regulação; Todas as vias são rigidamente reguladas; Compartimentalização das reações.



Exercícios do Módulo 11



MAPA I: DEGRADAÇÃO (OXIDAÇÃO) DE ALIMENTOS

1) Qual a finalidade biológica dos processos representados no mapa?

2) Analisar a função das coenzimas e do oxigênio na oxidação dos alimentos.

3) Discutir as seguintes afirmações:

3a. A energia dos alimentos é obtida por oxidação.

3b. A oxidação biológica consiste na retirada de hidrogênio (2H) do substrato.

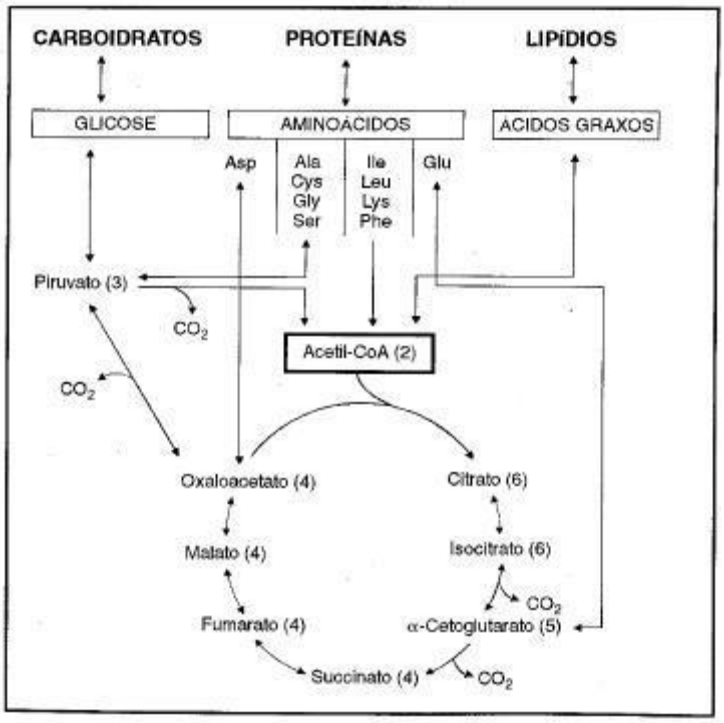
3c. Uma parte da energia derivada da oxidação dos alimentos é usada para sintetizar um composto rico em energia (ATP).

3d. A única função dos alimentos é fornecer energia.

4) Por que hidrocarbonetos, plásticos e metais não são alimentos para o homem?

5) Qual o destino dos átomos de carbono presentes nos macronutrientes quando eles sofrem metabolismo degradativo?

6) Resuma: por que é necessário alimentar-se e respirar?



MAPA II: INTERCONVERSÃO DE MACRONUTRIENTES

Um paciente com sobrepeso foi admitido a um hospital portando uma patologia que o impedia de se alimentar por via oral. Durante os dias do seu tratamento, a equipe que o atendia prescreveu a aplicação intravenosa de soro glicosilado. O paciente, que pretendia perder algum peso, solicitou que o soro não fosse aplicado. Seu pedido não foi atendido. Para julgar a correção da conduta adotada pela equipe de atendimento, resolva as questões seguintes (1 a 4) consultando unicamente o Mapa II, que mostra, 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 qual(is) grupo(s) de animal(is) sobreviveria(m), verificando se é possível sintetizar:

3a. ácido graxo a partir de glicose

3b. proteína a partir de glicose

3c. proteína a partir de ácido graxo

3d. glicose a partir de proteína

3e. ácido graxo a partir de proteína

3f. glicose a partir de ácido graxo

Indicar no mapa a via utilizada para cada conversão.

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

1. A glicólise é a principal via catabólica da glicose compreendendo as 10 reações enzimaticamente catalisadas que são mostradas na figura abaixo e cuja estequiometria total pode ser observada na equação química seguinte:

   Glicose + 2 NAD^+ + 2 ADP + 2 P_i $\rightarrow$ 2 Piruvato + 2 NADH + 2 ATP + 2 H_2O + 2 H^+

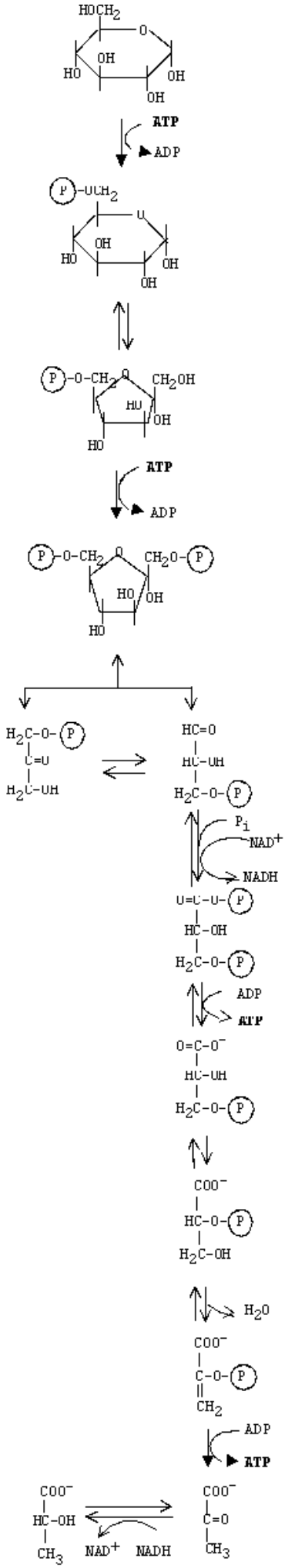
   A glicólise, como todas as vias catabólicas, é exergônica e a equação acima corresponde a $\Delta G^{o'}$ = -43,4 kJ/mol. Mas o dado da variação de energia livre mais interessante é em termos de ΔG, cujo valor exato depende de cada célula específica, por exemplo, em músculo cardíaco estima-se que seja igual a –74,0 kJ/mol.
2. A finalidade da glicólise é obtenção de energia, como a equação estequiométrica indica, cada molécula de glicose é degradada a duas de piruvato e parte da energia livre liberada nesta degradação é retida nos produtos na forma de 2 NADH e 2 ATP.
3. A reação que permite a obtenção de NADH é a única de oxido-redução da glicólise, pela qual gliceraldeído-3-P é oxidado a glicerato-1,3-bisP, através da ação oxidante de NAD^+ catalisada pela enzima gliceraldeído desidrogenase. A manutenção da capacidade oxidante da glicólise exige que NADH seja re-oxidada a NAD^+ , uma alternativa para isso é apresentada na figura, através da reação pela qual NADH reduz piruvato a lactato, recuperando NAD^+. Esta alternativa ocorre no músculo esquelético com baixos níveis de O_2.
4. Já ATP é produzido em duas reações distintas pelas quais um radical fosforil é transferido de, respectivamente, glicerato-1,3-P e P-enolpiruvato para ADP, em transferências catalisadas por glicerato-1,3-P-quinase e P-enolpiruvato-quinase. Esta maneira de fosforilação de ADP é conhecida como fosforilação a nível do substrato, para distingui-la da fosforilação oxidativa da mitocôndria que será vista mais adiante.

1. Na glicólise, há 3 reações de fosforilação irreversíveis catalisadas, respectivamente, pela hexoquinase, fosfofrutoquinase e piruvato-quinase, que funcionam como marca-passos da via, cuja regulação se dá por um elaborado sistema de controle alostérico das enzimas.
2. Diversas outras hexoses, como frutose, galactose e manose, também são metabolizadas pela via glicolítica.
3. A glicólise em condições anaeróbicas tem energética e funções variadas, conforme o organismo. Cabe fazer dois destaques importantes.
4. Em vertebrados, encontram-se músculos esqueléticos muito pobres em mitocôndria, que são especializados para produzir ATP a partir de glicólise anaeróbica, cuja energética obedece a seguinte reação geral: Glicose $\rightarrow$ 2Lactato + 2H^+ ; $\Delta G^{o'}$ = -196kJ/mol. Mas, parte dessa energia livre liberada que seria dissipada (61kJ/mol) é retida na forma de 2ATP produzidos por mol de glicose degradada. Deve-se ainda enfatizar que o lactato não é descartado, pois vai ser aproveitado

no fígado, aonde é reoxidado a piruvato, alternativa metabólica importante a ser examinada mais à frente.

5. Leveduras mostram um exemplo de glicólise anaeróbica na forma da fermentação alcoólica, segundo a reação geral: Glicose $\rightarrow$ 2Etanol + CO^{2}; $\Delta G^{o'}$ = -235kJ/mol. Aqui também parte da energia livre, +61kJ/mol, é mantida com a produção de 2ATP. A parte final da fermentação alcoólica compreende duas reações: a primeira envolve a descarboxilação de piruvato e liberação de acetaldeído, catalisada pela enzima piruvato-carboxilase, que não existe em animais. Na segunda reação a desidrogenase alcoólica catalisa a redução do acetaldeído por NADH.

GLICÓLISE


Glicose
ATP
ADP
Glicose 6-fosfato
Frutose 6-fosfato
ATP
ADP
Frutose 1,6 bisfosfato
Diidroxiacetona fosfato
Gliceraldeído 3-fosfato
Pi
NAD+
NADH
1,3 Bisfosfoglicerato
ADP
ATP
3-Fosfoglicerato
2-Fosfoglicerato
Fosfoenolpiruvato
ADP
ATP
Lactato
Piruvato
NAD+ NADH

Exercícios do Módulo 12

1) Classifique as reações da glicólise, destacando as que são de óxido-redução.

2) Equacione a reação de oxidação de gliceraldeído-3-fosfato, destacando o oxidante e o redutor.

3) Na reação do item **2)** parte da energia é utilizada para produzir ATP. Mostre como isso é possível, equacionando as etapas relevantes da reação. Defina fosforilação ao nível do substrato.

4) Equacione a reação líquida da transformação de glicose em piruvato. Como é regenerada a capacidade oxidante do sistema NAD^+/NADH necessária à atividade glicolítica nos glóbulos vermelhos humanos (que não têm mitocôndria) e na cultura de levedo sem O_2 (fermentação).

5) Examine uma tabela com as 10 reações da via glicolítica que contenha, respectivamente, o $\Delta G^{0'}$ e o ΔG das reações. Quais são as reações irreversíveis da glicólise?

6) Porque os valores de $\Delta G^{0'}$ e de ΔG da mesma reação podem ser diferentes? Para decidir se a via glicolítica numa determinada célula é reversível ou irreversível, que valor é mais relevante, $\Delta G^{0'}$ ou ΔG?

7) Uma pessoa incapaz de executar exercícios físicos intensos e prolongados teve suas enzimas analisadas. Todas as enzimas da via glicolítica estavam em concentração normal, com exceção da fosfoglicerato mutase muscular.

a) Como será afetada a produção de energia metabólica em uma célula que apresenta baixos níveis desta enzima?

b) Como será afetada a produção de Lactato na ausência desta enzima? [Referência: Di Mauro, S.; Miranda, A.F.; Kahn, S.e Gitlin, K. - Human muscle phosphoglycerate mutase deficiency *Science* 1981, vol. 212, 1277-1279.

8) Calcular a porcentagem de energia armazenada pela célula ao degradar glicose pela via glicolítica. Sabe-se que:

$$\text{Glicose} \rightarrow 2 \text{ lactato} \qquad G^{o'} = -47.000 \text{ cal/mol}$$

MÓDULO 13: CICLO DE KREBS

1. Em condições aeróbicas, o destino do piruvato produzido na glicólise é sofrer uma descarboxilação oxidativa catalisada pela piruvato desidrogenase, que é um complexo multienzimático existente no interior da mitocôndria de eucariotos. Portanto, o piruvato precisa entrar na mitocôndria para ser degradado por essa via. A reação geral é a seguinte:

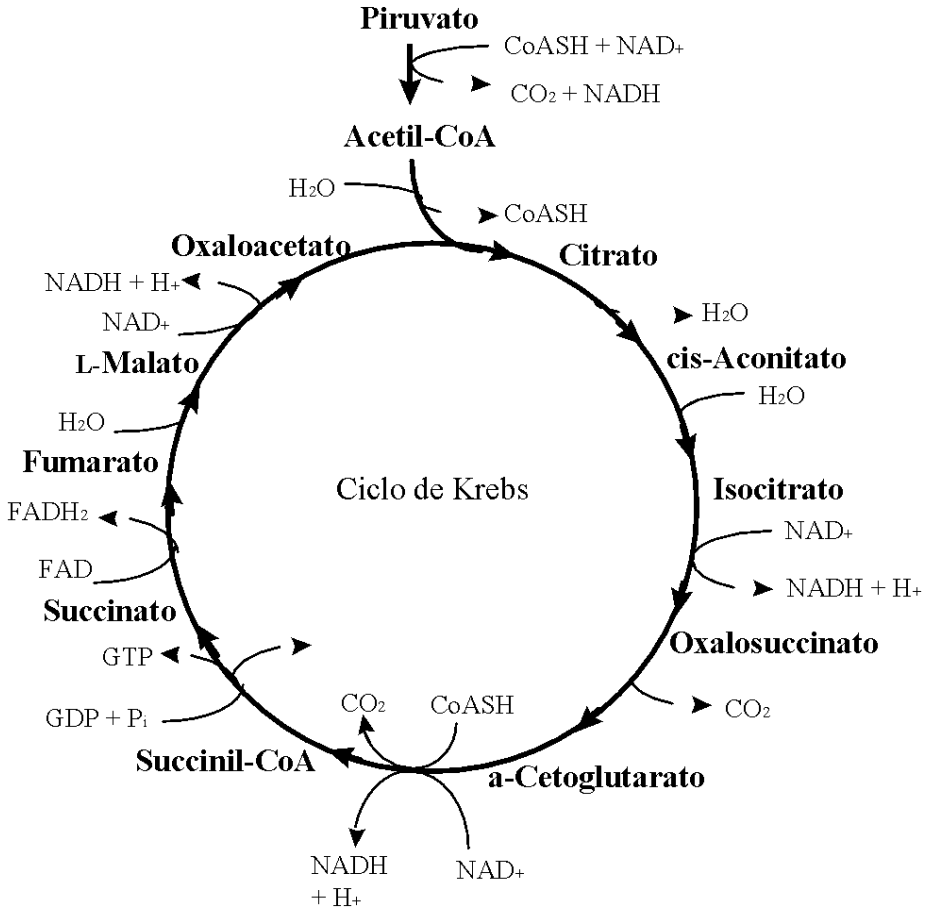
$$\textbf{Piruvato + CoA + NAD}^{+} \rightarrow \textbf{Acetil-CoA + NADH + CO}_2$$

2. O acetilCoA resultante da metabolização do piruvato é totalmente oxidado no ciclo do ácido cítrico, também chamado ciclo de Krebs, conforme a seguinte reação geral:

   $$\textbf{Acetil-CoA + 3 NAD}^{+} \textbf{ + FAD + GDP + P}_i \textbf{ + 2 H}_2\textbf{O} \rightarrow \textbf{2 CO}_2 \textbf{ + 3 NADH + FADH}_2 \textbf{ + GTP + CoA + 2 H}^{+}$$

   O ciclo de Krebs, esquematizado na figura, compreende 8 reações, envolvendo 8 enzimas e 8 ácidos carboxílicos, di e tri-ácidos, todos dispersos na matriz da mitocôndria. Portanto, começando no piruvato e passando pelo acetilCoA, ocorre oxidação completa desses metabolitos liberando $3CO_2$ sem participação de O_2 molecular. Os agentes oxidantes em todas as reações são NAD^+ ou FAD e as formas reduzidas destas coenzimas (NADH + $FADH_2$), resultantes do processo, só são reoxidadas na cadeia respiratória, uma via especializada que se localiza na membrana mitocondrial interna e será considerada mais adiante.

1. O ciclo de Krebs, conforme sua reação geral indica, é essencialmente catabólico, pois promove a oxidação do radical acetil a $2CO_2$ e retém parte da energia livre desta reação na forma de coenzimas reduzidos que, posteriormente, servirão à produção de ATP através da fosforilação oxidativa. Para cumprir esta função basta que os 8 intermediários do ciclo ocorram em concentrações catalíticas. Mas, o ciclo possui outra função, além da catabólica, diversos de seus intermediários alimentam as vias de síntese de aminoácidos, lipídeos e glicose, isto é, o ciclo tem também função anabólica e, portanto, deve ser classificado como anfibólico. Para que o ciclo desempenhe concomitantemente ambas as funções, catabólica e anabólica, as concentrações dos intermediários são mantidas e controladas através de um complexo sistema de reações auxiliares, conhecidas como reações anapleróticas. Um exemplo de reação anaplerótica é a carboxilação de piruvato para obter oxalacetato, catalisada pela enzima piruvato carboxilase.
2. A transformação de piruvato em acetil-CoA, é uma reação para a qual convergem diversas vias catabólicas e anabólicas, além da glicólise. Por esse motivo a piruvato desidrogenase está sujeita a um controle altamente elaborado, compreendendo dois níveis de regulação: a) controle alostérico através da inibição pelo produto, exercido por NADH e acetil-CoA; b) modificação covalente reversível da subunidade E_1 da enzima, por fosforilação/desfosforilação.
3. As enzimas citrato sintase, isocitrato desidrogenase e α-cetoglutarato desidrogenase são as reguladoras do fluxo metabólico através do ciclo de Krebs e estão sujeitas a controle alostérico, envolvendo NADH como inibidor e Ca^+ e ADP como ativadores.



Exercícios do Módulo 13

1) Escrever a reação de formação de acetil-CoA a partir de piruvato e indicar:

a) as 5 coenzimas necessárias

b) as vitaminas envolvidas

c) a sua localização celular

2) Como é a equação química, estequiometricamente equilibrada, que representa a oxidação de acetil-CoA no ciclo de Krebs? Como se pode medir o rendimento do ciclo de Krebs em termos de coenzimas reduzidos (poder redutor) e ATP (“ligações de fosfato de alta energia”).

3) Identifique os tipos de reações que ocorrem no ciclo de Krebs, mostrando as respectivas equações químicas.

4) Equacione a descarboxilação oxidativa de α-cetoglutarato a succinato, respeitando a estequiometria da reação. Mostre as etapas que compõem esta reação com as respectivas enzimas e coenzimas.

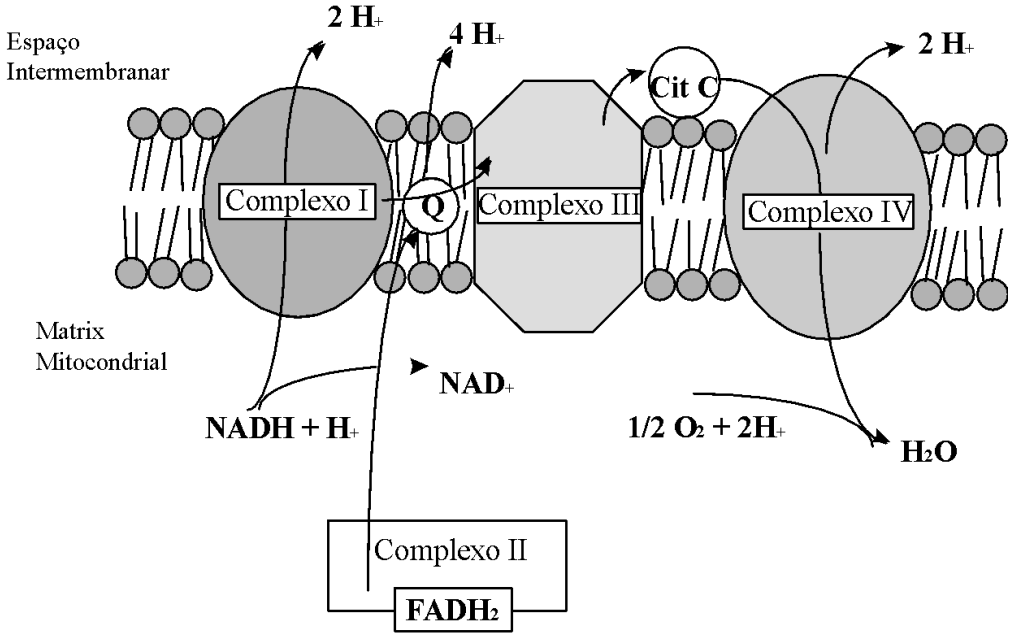
5) Quais são as enzimas do ciclo de Krebs sujeitas a regulação? Explique como cada uma delas é regulada.

6) Explique porque piruvato é estequiometricamente convertido a CO_2 na respiração de fatias de músculo mantidas em solução fisiológica, enquanto oxalacetato e citrato tem efeito catalítico neste mesmo processo. Mostre porque a respiração pode ser sustentada pelo consumo estequiométrico de citrato, mas não de acetato, quando o ciclo de Krebs é inibido por malonato.

7) Dispondo das enzimas necessárias, a adição de que compostos fará aumentar a concentração de oxaloacetato em um sistema “in vitro” que contém mitocôndrias: acetil-CoA, piruvato, glutamato, citrato ou ácidos graxos?

8) Uma suspensão de mitocôndrias, suplementada com acetil-CoA marcada com C^{14}, produz CO_2 marcado apenas quando suprida de oxigênio. Em condições anaeróbias, a adição de azul de metileno restaura a produção de CO_2 marcado, observando-se também a descoloração do corante (azul de metileno reduzido é incolor). Explique estes dados.

1. Fosforilação oxidativa é o processo bioquímico pelo qual a oxidação de NADH e $FADH_2$, produzidos na glicólise e ciclo de Krebs, ocorre acoplada à produção de ATP, a partir de ADP + Pi. Este processo se dá na cadeia respiratória ou cadeia de transporte de elétrons, que compreende um conjunto ordenado de enzimas e transportadores de elétrons inseridos na membrana interna da mitocôndria.
2. A cadeia respiratória contem 4 complexos, **I,II, III** e **IV,** ordenados por ordem crescente de potencial redox, indo do potencial padrão de NAD^+/NADH ($E^{0'}$= -0,315V) ao do O_2/H_2O ($E^{0'}$= +0,815V). Os elétrons são transferidos do **complexo I** ou **II** para o **complexo III** pela **coenzima Q** (ou ubiquinona), e do **complexo III** para o **complexo IV** pelo **citocromo C** para chegar ao **O_2**. NADH e $FADH_2$, cedem elétrons, respectivamente, aos complexo I e II. A transferência exergônica de elétrons do nível redox de NADH para o de O_2 ($\Delta E^{0'}$= 1,130V) envolve uma diferença de energia livre liberada ($\Delta G^{0'}$= -218kJ/mol) que é em parte retida pelo transporte de H^+ do lado interno para o externo da membrana, criando o gradiente eletroquímico de prótons que permitirá "empurrar" o processo endergônico de fosforilação de ADP por Pi para gerar ATP, através da bomba de prótons que constitui a ATP sintase (também conhecida com F_1F_0- ATPase).



3. A ATP sintase é distinta e fisicamente separada da cadeia de transporte de elétrons. A transferência de 2e de NADH até O_2 envolve um $\Delta G^{0'}$= -218kJ/mol, que gera um incremento no gradiente de prótons suficiente para mover a ATP sintase, permitindo a produção de 3 ATP ($\Delta G^{0'}$= +30,5kJ/mol). Nestas condições, a ATP sintase trabalha com uma eficiência termodinâmica igual a 42%. É, no entanto, necessário destacar que quando os 2e saem do nível redox de $FADH_2$,

formam-se apenas 2ATP. Naturalmente, para uma melhor medida da real eficiência termodinâmica da fosforilação oxidativa seria preciso estimar o ΔG da transferência de elétrons em vez do $\Delta G^{0'}$.

4. A grande quantidade de energia livre que seria dissipada na oxidação completa da glicose a CO_2 e H_2O **[$C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2 \rightarrow 6\ CO_2 + 6\ H_2O$; $\Delta G^{0'} = -2823$ kJ/mol]** é aproveitada para produção de ATP, graças quase exclusivamente ao processo de fosforilação oxidativa, rendendo 38ATP por mol de glicose (incluindo neste total 2ATP da glicólise e 2 do ciclo de Krebs).
5. Vários mecanismos da cadeia de transporte de elétrons e de seu acoplamento à síntese de ATP foram elucidados através da utilização de inibidores e desacopladores, entre os quais estão: rotenona, amital, antimicina A, cianeto e DNP.
   - Rotenona e amital inibem a redução do complexo I por NADH.
   - Malonato e Oxaloacetato – Inibem competitivamente o Complexo II
   - Antimicina A inibe o transporte de elétrons no complexo III.
   - Cianeto, Monóxido de Carbono, Azida e Sulfeto de Hidróxido inibe o transporte no complexo IV.
   - DNP é desacoplador, pois promove o vazamento de H^+ ,levando à dissipação do gradiente de prótons e contínuo transporte de elétrons, desacoplado da síntese de ATP.
6. A síntese de ATP a partir de ADP e P_i na mitocôndria, que é catalisada pela ATP sintase, é dirigida pelo processo de transporte de elétrons. Mas como a ATP sintase é fisicamente separada das proteínas do transporte de elétrons, a energia livre liberada no transporte de elétrons deve ser conservada em uma forma que possa ser utilizada pela ATP sintase. A energia livre do transporte de elétrons é conservada pelo bombeamento de H^+ da matriz mitocondrial para o espaço intermembranar, criando um gradiente de H^+. A volta dos prótons ao interior da mitocôndria é termodinamicamente favorável. A membrana interna da mitocôndria é impermeável a prótons em toda sua extensão, exceto na ATP sintase; e é então por este canal que os prótons atravessam a membrana, de volta à matriz mitocondrial. A variação de energia livre associada ao transporte de um próton através da membrana interna da mitocôndria pode ser determinada através de medidas da diferença de pH e do potencial de membrana estabelecidos em mitocôndrias consumindo oxigênio.

Exercícios do Módulo 14

1) Definir potencial de óxido-redução (E), potencial de óxido-redução padrão (E^o) e potencial de óxido-redução padrão bioquímico ($E^{o'}$).

2) Entre os transportadores universais de elétrons da cadeia respiratória estão NAD^+ e os nucleotídeos de flavina (FAD e FMN), quais são as diferenças entre estes transportadores de elétrons quanto a potencial redox e forma de interação com as enzimas com as quais atuam?

3) Classifique os seguintes inibidores quanto a seus mecanismos de ação na cadeia respiratória: **a)** rotenona; **b)** antimicina A; **c)** oligomicina e **d)** DNP (2,4-dinitrofenol).

4) Descreva o mecanismo de ação do DNP (2,4-dinitrofenol), mostrando porque o mecanismo de ação deste inibidor é uma demonstração experimental importante da hipótese quimiosmótica da fosforilação oxidativa.

5) Porque F_1 e F_o são ambos necessários para a síntese de ATP?

6) Em mitocôndrias isoladas, o transporte de elétrons não ocorre na ausência de ADP e Pi, mesmo que haja abundância de succinato para fornecer elétrons. Como se explica que mitocôndrias nessas condições passam a transportar elétrons e consumir oxigênio se forem tratadas com DNP?

7) A relação entre energia livre padrão de uma reação e o potencial redox é:

$\Delta G^{o'} = -nF\Delta E_0'$ onde n é o número de elétrons transferidos
F é a constante de Faraday (F = 23.60 cal V^{-1})
$\Delta E_o'$ é o, diferença de potencial padrão da dupla redox.

A uma solução 1 M de NAD^+, NADH, Piruvato e Lactato, adicionou-se lactato desidrogenase:

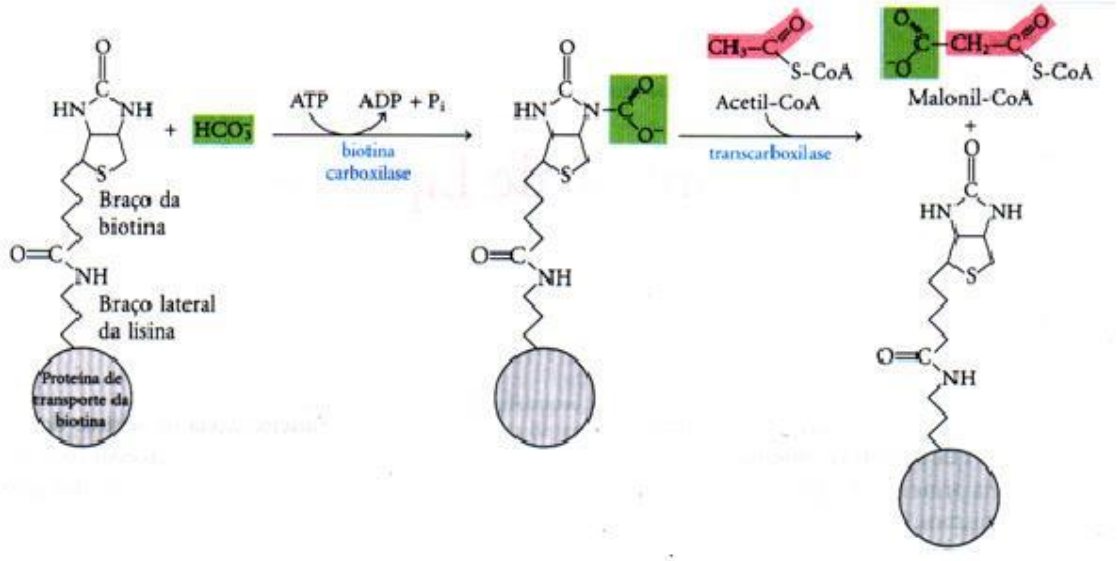
Lactato + $NAD^+ \rightarrow$ Piruvato + NADH + H^+
E_o' (NAD^+/NADH) = -0,32 V
E_o' (Piruvato/Lactato) = -0,19 V

a) Em que sentido a reação ocorrerá?

b) À medida que a reação ocorre, como variam esses potenciais redox?

9) Na hipótese do acoplamento quimiosmótico, a energia que começa na forma de potencial químico de redução/oxidação, é convertida na forma de potencial próton-motriz e finalmente é convertida na forma de potencial químico de ATP. Qual é a diferença entre o potencial químico (G) e o potencial elétrico (ϕ) de um soluto distribuído dos dois lados de uma membrana? Defina “força próton-motriz”.

1. Muitas funções celulares que envolvem reações endergônicas são efetuadas graças à hidrólise exergônica de ATP. Outras reações endergônicas, como a síntese de ácidos graxos e colesterol e a fotossíntese, requerem NADPH, que tem um grande poder redutor.
2. Os ácidos graxos são sintetizados no citosol por via anabólica própria que adiciona sequencialmente unidades de 2C à cadeia em crescimento. Esta via é alimentada por acetil-CoA, mas só a primeira unidade de 2C entra como acetil-CoA, as subsequentes são na forma de malonil-CoA. Portanto, o acetil-CoA precisa ser previamente ativado a malonil-CoA, por carboxilação e consumo de 1 ATP, para permitir a reação de condensação, levando ao crescimento da cadeia do ácido graxo de uma unidade de 2C, por ciclo de síntese. A ativação de acetilCoA é catalisada pela acetilCoA-carboxilase, uma enzima sujeita a controle complexo, envolvendo regulação alostérica e ativação / desativação por modificação covalente (fosforilação / desfosforilação).
3. O primeiro passo no processo de síntese de ácido graxo ocorre com a síntese de malonil-CoA a partir de acetil-CoA (2C). Isso corre através da carboxilação da biotina (vitamina B7) pelo bicarbonato e conseguinte descarboxilação da biotina que doa um carbono ao acetil-CoA que formará o malonil-CoA (3C).



4. O malonil-CoA se ligará a um sítio da ácido graxo sintase e o grupo acetil se ligará ao outro sítio, neste momento ocorrerá a condensação destes dois compostos com a liberação de uma molécula de CO2. Ocorrerá a redução do composto condensado realizada pelo NADPH com adição de $2H^+$. Seguida a essa redução ocorrerá uma desidratação com saída de uma molécula de H_2O. Ocorrerá uma nova redução realizada pelo NADPH com nova adição de $2H^+$.
5. Novos grupamentos malonil-CoA serão adicionados realizando as 4 etapas: **condensação, redução, desidratação e redução**, criando um ácido graxo, adicionando cada vez 2 carbonos. Toda vez que ocorrer uma condensação haverá liberação de um CO2. O ácido graxo com 16

carbonos (palmitato) pode dar origem a outros ácidos graxos através de processos que envolvem dessaturação e alongamento.

6. A síntese de palmitato (16 C) é altamente endergônica, obedecendo a seguinte estequiometria:
AcetilCoA + 7 malonil-CoA + 14 NADPH + $7H^+$ → palmitato + 7 CO_2 + 14 $NADP^+$ + 8 CoA + $6H_2O$
7. A elongação da cadeia além de 16 C e a inserção de duplas ligações é feita por outros sistemas enzimáticos especializados, que se localizam na membrana do retículo endoplasmático. Mas, mamíferos não possuem enzimas para introduzir duplas ligações em cadeias de ácidos graxos acima do C9. Por isso, linoleato (18:2) e linolenato (18:3), são ácidos graxos essenciais que precisam ser adquiridos pela dieta.

8. O grupo fosforila no carbono 2 de uma das unidades de ribose do NADPH o diferencia de NADH. NADH é oxidado pela cadeia respiratória para gerar ATP, enquanto que NADPH serve como um doador de elétrons em reações biossintéticas redutoras.
9. Na via das pentoses, NADPH é gerado quando a glicose-6-fosfato é oxidada a ribose-5-fosfato, que é um açúcar de 5 carbonos, componente de vários compostos importantes, como ATP, CoA, NAD^+, FAD, RNA e DNA.
10. A via das pentoses também catalisa a interconversão de açúcares de 3, 4, 5, 6 e 7 carbonos, em uma série de reações não oxidativas que ocorrem no citosol.
11. As reações da via das pentoses são as seguintes:
   - glicose-6-fosfato é desidrogenado e convertido a ribulose-5-fosfato, em três reações, produzindo 2 NADPH + H^+.
   - ribulose-5-fosfato é isomerizada a ribose-5-fosfato.

Nestas reações, 2 NADPH + H^+ e uma ribose-5-fosfato são gerados para cada glicose-6-fosfato oxidada.

   - ribose-5-fosfato é convertida a gliceraldeído-3-fosfato e frutose-6-fosfato pela transcetolase e transaldolase. A transcetolase catalisa a transferência de unidades de C2 de uma cetose para uma aldose. A transaldolase transfere unidades de C3 de uma aldose para uma cetose.

   As reações de transcetolase e transaldolase criam uma ligação reversível entre a via das pentoses e a via glicolítica. O resultado dessas reações é a formação de 2 hexoses e 1 triose a partir de 3 pentoses:

   $C_5 + C_5 \rightleftharpoons C_3 + C_7$ Transcetolase

   $C_7 + C_3 \rightleftharpoons C_4 + C_6$ Transaldolase

   $C_5 + C_4 \rightleftharpoons C_3 + C_6$ Transcetolase

12. O excesso de ribose-5-fosfato formado pelas vias das pentoses pode ser completamente convertido em intermediários da via glicolítica.
13. A primeira reação da via das pentoses, a desidrogenação da glicose-6-fosfato, é praticamente irreversível. É nessa reação em que a via das pentoses é controlada. O fator regulatório mais

importante é o nível de $NADP^+$, o receptor de elétrons na oxidação da glicose-6-fosfato a 6-fosfogluconolactona. Além disso, NADPH compete com $NADP^+$ pela ligação à enzima. A parte não oxidativa da via das pentoses é controlada principalmente pela disponibilidade de substratos.

14. A via percorrida pela glicose-6-fosfato depende da necessidade celular de NADPH + H^+, ribose-5-fosfato e ATP:
    - Quando muito mais ribose-5-fosfato é requerida que NADPH + H^+, a maior parte de glicose-6-fosfato é convertida a frutose-6-fostato e gliceraldeído-3-fosfato pela via glicolítica, a transaldolase e a transcetolase convertem estes em ribose-3-fosfato.
    - Quando a necessidade de NADPH + H^+ e ribose-5-fosfato estão balanceadas, a reação predominante é a formação de 2 NADPH e uma ribose-5-fosfato de glicose-6-fosfato pela fase oxidativa da via das pentoses.
    - Quando muito mais NADPH + H^+ é requerido que ribose-5-fosfato, a glicose-6-fosfato é completamente oxidada a CO_2, ou convertida a piruvato.

Exercícios do Módulo 15

1) Mostre a parte oxidativa do ciclo das pentoses com as equações das reações envolvidas, indicando os agentes oxidantes e a origem do carbono presente no CO_2 liberado.

2) Compare NADH e NADPH, indicando suas funções no metabolismo de carboidratos. Explique porque a via da pentose-fosfato é muito mais ativa no tecido adiposo que no músculo.

3) Quando há necessidade de NADPH, o ciclo das pentoses pode funcionar dando um resultado líquido que equivale à oxidação total de glicose a CO_2. Explique este processo através das respectivas reações estequiometricamente equilibradas.

4) Ribose 5-fosfato pode ser obtida para a síntese de nucleotídeos através da via das pentoses, com ou sem oxidação da glicose. Mostre como isso é possível com as respectivas equações químicas.

4.) Explique como a via da pentose–fosfato é controlada, tendo em vista que grande parte das reações desta via é reversível.

6) Compare as reações catalisadas por transaldolases e transcetolases, indicando reagentes, produtos e a natureza das reações.

MÓDULO 16: GLICONEOGÊNESE

1. O fígado humano precisa manter níveis mínimos da glicose circulante, pois cérebro e hemácias dependem quase exclusivamente de glicose para produção de energia. No entanto, a reserva de glicogênio hepático não é suficiente para essa finalidade. Por isso, o fígado sintetiza glicose *de novo* a partir de lactato, piruvato, glicerol, intermediários do ciclo de Krebs e aminoácidos, através de uma via anabólica chamada de gliconeogênese. No jejum, mesmo o jejum de poucas horas, a gliconeogênese é a principal fonte da glicose liberada pelo fígado na circulação.
2. A glicólise, como já foi visto, é uma via catabólica com a finalidade de produzir energia na forma de **2 NADH + 2 ATP** a partir da degradação de glicose a piruvato de acordo com a equação química seguinte:

$$\textbf{Glicose + 2 NAD}^{+}\textbf{ + 2 ADP + 2 Pi} \rightarrow \textbf{2 Piruvato + 2 NADH + 2 ATP + 2 H}_2\textbf{O + 2 H}^{+}$$

   A gliconeogênese tem a finalidade de sintetizar glicose a partir de piruvato, isto é, faz o caminho metabólico inverso ao da glicólise. Mas, a gliconeogênese, contrariamente à glicólise, é muito endergônica. Para produzir glicose a partir de piruvato necessitam-se **2 NADH + 4 ATP +2 GTP,** conforme a estequiometria indicada na equação abaixo:

$$\textbf{2 Piruvato + 2 NADH + 4 ATP + 2 GTP + 2 H}_2\textbf{O} \rightarrow \textbf{Glicose + 2 NAD}^{+}\textbf{ + 4 ADP + 2 GDP + 6 P}_i\textbf{ + 2 H}^{+}$$

3. A gliconeogênese utiliza enzimas glicolíticas reversivelmente, mas três dessas enzimas, a hexoquinase, a fosfofrutoquinase e a piruvato quinase, catalisam reações com ΔG^{-} muito negativo, sendo essencialmente irreversíveis. Estas reações são substituídas na gliconeogênese por reações exergônicas, tornando termodinamicamente favorável a síntese de glicose a partir de piruvato. Destas reações, as duas primeiras correspondentes às enzimas hexoquinase e fosfofrutoquinase, são substituídas por reações simples de hidrólise de ligação fosfo-éster, catalisadas, respectivamente, pelas enzimas glicose-6-P-fosfatase e frutose-1,6-bis-fosfatase. Já a terceira reação, que permite a volta de piruvato para fosfoenolpiruvato é mais complexa e se dá em duas etapas catalisadas, respectivamente, por piruvato-carboxilase e fosfoenolpiruvato-carboxiquinase.
4. O balanceamento entre glicólise e gliconeogênese é coordenadamente controlado por um complexo sistema de regulação enzimática, envolvendo interações alostéricas e modificações covalentes. Todo esse controle está concentrado nas 3 reações nas quais glicólise e gliconeogênese seguem reações independentes, irreversíveis e opostas, que são: 1) glicose / glicose-6-P; 2) frutose-6-P / frutose-1,6-bisP; 3) fosfoenolpiruvato / piruvato.

Exercícios do Módulo 16

1) Explique como a hemácia mantém glicose a 5 mM e G-6P a 0,0083 mM, se a conversão de glicose em G-6P é muito exergônica. Como seriam afetadas as concentrações relativas dos intermediários da glicólise se a glicoquinase (K_m = 5mM) fosse colocada artificialmente na hemácia em lugar da hexoquinase (K_m = 0,1mM)?

2) Na gliconeogênese, como são revertidas as reações de glicose $\rightarrow$ G6P e F6P $\rightarrow$ F-1,6-BP, que são altamente exergônicas. Conceitue ciclo fútil.

3) A reversão da reação de PEP + ADP $\rightarrow$ piruvato + ATP não pode ocorrer por um processo relativamente fácil como a reversão de glicose + ATP $\rightarrow$ G6P + ADP. Qual é a solução bioquímica que os sistemas biológicos utilizam para ir de piruvato a PEP?

4) Qual é o consumo de energia na síntese de glicose a partir de piruvato, medido em equivalentes de ATP. Indique as reações onde há consumo. Compare o rendimento da via glicolítica com o consumo da gliconeogênese, são iguais ou diferentes?

5) Um procedimento comum para determinação da efetividade de compostos como precursores da glicose é colocar um animal em jejum até que os estoques de glicogênio do fígado sejam depletados e então administrar o substrato em questão. Um substrato que leva a um aumento líquido no glicogênio hepático é chamado de glicogênico pois ele deve primeiro ser convertido em glicose-6-fosfato. Mostre por meio de reações enzimáticas conhecidas quais das seguintes substâncias são glicogênicas:

a) succinato,
b) glicerol,
c) acetil CoA,
d) piruvato e
e) butirato.

Escreva as fórmulas estruturais das substâncias relacionadas de (a) a (e).

6) Citar os efetuadores alostéricos positivos e negativos de fosfofrutoquinase e frutose 1,6-bisfosfatase no fígado. Quais são as consequências destes efetuadores no fluxo relativo dos metabolitos através da gliconeogênese e da glicólise?

7) O nível de frutose-2,6-bisfosfato nos hepatócitos varia com a disponibilidade da glicose: é baixo no jejum e alto após as refeições. Como isso se explica em termos das reações catalisadas por fosfofrutoquinase-2 e frutose-2,6-bisfosfatase?

MÓDULO 17: METABOLISMO DO GLICOGÊNIO

1. O glicogênio é um polissacarídeo que funciona como forma de reserva de energia em animais e microrganismos. Em animais, o glicogênio está depositado no fígado, um órgão central de reserva de energia, e, também, nos músculos, onde é degradado localmente. O glicogênio hepático é exportado para manter a glicemia.
2. A natureza polimérica e semi-solúvel do glicogênio constitui-se numa maneira perfeita de armazenar energia na forma de glicose. O estoque de glicogênio do fígado na forma de glicose causaria tamanha pressão osmótica, que a viabilidade do hepatócito seria impossível.
3. O glicogênio é um polímero de α-D-glico-piranose altamente ramificado. Na cadeia os monômeros são interligados por ligações glicosídicas α (1$\rightarrow$4); nos pontos de ramificação a ligação também é glicosídica, mas α (1$\rightarrow$6).
4. A glicose, na forma de glicose-1-P, é liberada da reserva de glicogênio pela fosforólise da ligação α (1$\rightarrow$4) da extremidade não redutora do polímero. Esta reação é catalisada pela glicogênio fosforilase.
5. A glicogênio fosforilase degrada até restarem 4 resíduos antes de uma ramificação até que a enzima desramificadora transfere 3 dos 4 resíduos para outra extremidade da cadeia de glicogênio formando uma nova ligação α (1$\rightarrow$4). O resíduo restante está ligado a cadeia pela ligação α (1$\rightarrow$6) que é hidrolisada pela enzima desramificadora através de sua atividade α (1$\rightarrow$6) glicosidase.
6. Glicose-1-fosfato é convertida a glicose-6-fosfato pela fosfoglicomutase, esta pode ser liberada pela circulação no fígado pela ação da glicose-6-fosfatase ou degradada pelo músculo.
7. A síntese do glicogênio se dá através de via uma diferente da de degradação. A glicose-1-P é primeiro ativada à uridinadifosfato-glicose, ou simplesmente UDP-G. UDP-G é o substrato da glicogênio sintase que catalisa a adição de um resíduo de glicose ao carbono 4 da glicose de uma extremidade não redutora do glicogênio, liberando ainda como produto UDP. Esta reação necessita de cadeias glicogênicas pré-existentes que funcionam como *primer* da reação, oferecendo extremidades não redutoras para reagir com UDP-G.

   Gli 6-P $\rightleftharpoons$ Gli 1-P

   Gli 1-P + UTP $\rightarrow$ UDP-Gli + PP_I (1-fosfato uridil transferase)

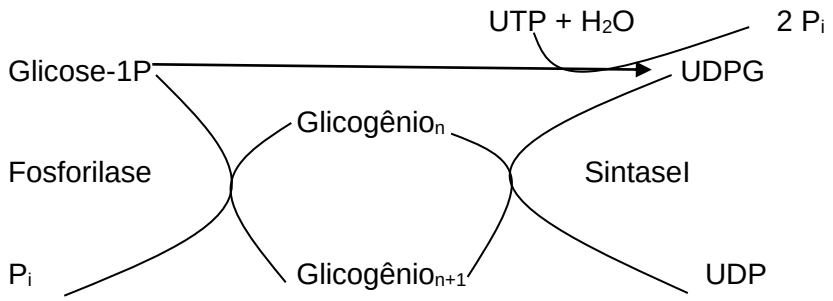
   UDP-Gli + glicogênio $_{(n)}$ $\rightarrow$ UDP + glicogênio $_{(n+1)}$

   O UDP é convertido a a UTP as custas da utilização de ATP:

   $PP_I + H_2O \rightarrow 2\ P_I$ (pirofosfatase)

   UDP + ATP $\rightarrow$ UTP + ATP (nucleosídeo difosfato quinase)

8. A glicogênio fosforilase e glicogênio sintase formam um ciclo que, respectivamente, libera e deposita glicose-1-P no estoque da glicogênio:



É fácil notar que se estas enzimas funcionarem concomitantemente o ciclo será FÚTIL, cujo único resultado líquido será dissipação de energia através da reação:

$$UTP + H_2O \rightarrow UDP + P_i$$

Conclui-se que, necessariamente, no hepatócito estas enzimas são coordenadamente reguladas, isto é, quando a fosforilase é ativada para mobilizar glicose-1-P, a sintase é desativada, e vice-versa, conforme a necessidade celular.

9. Ambas fosforilase e sintase são reguladas por fosforilação (modificação covalente) em resíduos específicos de serina, reações catalisadas pela mesma proteína-quinase que possui dupla especificidade, sendo por isso chamada de sintase-fosforilase quinase. A fosforilase e a sintase são espécies fosforiladas, portanto a fosforilação, catalisada pela sintase-fosforilase quinase, causa ativação da fosforilase e inativação da sintase.
10. A fosforilase a e a sintase I (formas ativas), por um lado, e a fosforilase b e a sintase D (formas não ativas), por outro, são, respectivamente interconversíveis. Para tanto é necessário que fosforilase a e a sintase I sejam desfosforiladas, através de uma reação que requer catálise. A principal enzima, catalisadora comum destas desfosforilações, é a fosfoproteína fosfatase 1.
11. A integração metabólica requerida pelo bom funcionamento do organismo faz com que as interconversões coordenadas da fosforilase e sintase do glicogênio no fígado, por fosforilação, sejam controladas extracelularmente por hormônios específicos, principalmente: adrenalina, glucagon e insulina.
12. As formas inativas fosforilase b e sintase D são intracelularmente estimuladas por fatores alostéricos positivos, por razões de economia interna do metabolismo celular, independentemente de controle hormonal. São estimuladores alostéricos da fosforilase b e sintase D, respectivamente, 5'-AMP e glicose-6P.

Exercícios do Módulo 17

1) A ativação de glicose-1-fosfato (G1-P), requer a clivagem de uma ligação de alta energia, liberando PP_i. Considere os passos de ativação de G1-P e a reação de regeneração de UTP e analise o gasto de energia necessário para a síntese de glicogênio. Compare o gasto de energia para a

adição de um resíduo de glicose ao glicogênio, com a obtenção de energia a partir da liberação de glicose na degradação do glicogênio.

2) Qual a finalidade das reservas de glicogênio do fígado e músculo? Qual a principal diferença bioquímica entre esses tecidos?

3) Equacione as etapas de mobilização da glicose a partir do glicogênio no fígado e no músculo. Mostre:

a) no fígado (desde a fosforólise até a liberação de glicose no plasma);
b) no músculo (desde a fosforólise até o aproveitamento na glicólise).

4) Qual a função da hidrólise de PP_i no controle da síntese de glicogênio?

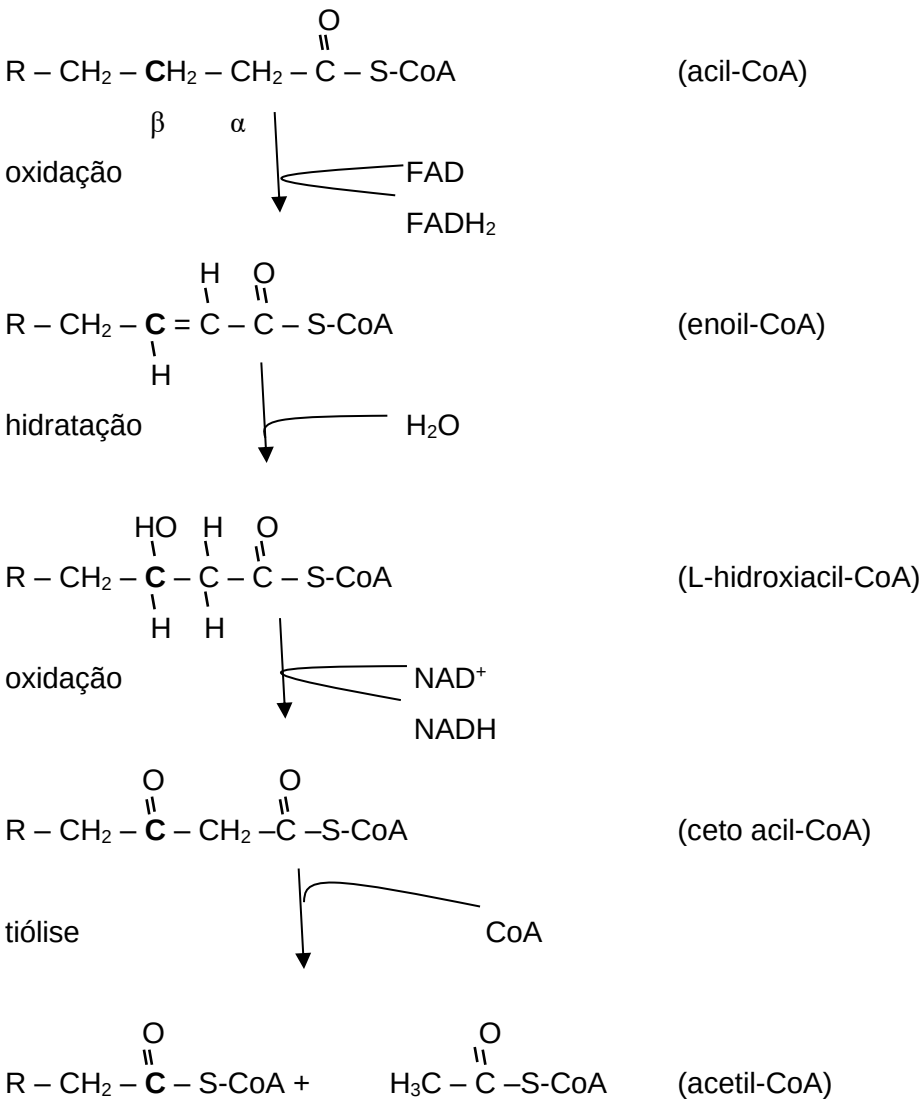
5) Esquematize as etapas de degradação total do glicogênio, indicando as enzimas envolvidas, reagentes e produtos da reação.

6) Mostre como são coordenadas síntese e degradação do glicogênio. Restrinja-se à ativação e inativação da fosforilase e da sintase, explicando a natureza do processo e as enzimas envolvidas (não considere o controle hormonal).

MÓDULO 18: ÁCIDOS GRAXOS: ESTRUTURA, FUNÇÃO E METABOLISMO

1. Lípides ou lipídeos são substâncias biológicas solúveis em solventes orgânicos, como clorofórmio e metanol e, praticamente, insolúveis em água. Os lipídios compreendem: a) ácidos graxos, em geral na forma de triacilglicerois; b) glicerofosfolípides; c) esfingolípides; d) colesterol e derivados. Este módulo se restringe a ácidos graxos e triacilglicerois.
2. Ácidos graxos são ácidos carboxílicos com longas cadeias hidrocarbonadas, encontrados na forma de tri-esteres de glicerol. A maioria possui um número par de C, predominando os de 16 C (ácido palmítico) e os de 18 C (ácido oléico). Grande parte apresenta dupla ligação (insaturado) e muitos são poli-insaturados.
3. As propriedades físicas dos ácidos graxos dependem do grau de insaturação da cadeia hidrocarbonada. As moléculas dos ácidos graxos saturados são muito flexíveis, facilitando a atração e coesão entre si. Duplas ligações entre C impõe rigidez à cadeia, tornando-a menos flexível e limitando a coesividade entre as moléculas do ácido graxo. Em consequência disto, a temperatura de fusão (transição de fase sólido/líquido) diminui com o grau de insaturação dos ácidos graxos.
4. Os triacilgliceróis desempenham um papel de reserva de energia metabólica. Algumas de suas propriedades físico-químicas são ideais para essa função: a) elevado grau de redução de seus C, maximizando a quantidade de energia livre liberada na oxidação e b) alta hidrofobicidade, permitindo estocagem livre de água (estoques anidros). Não é por acaso que os triglicerídeos compõem cerca de 90% da reserva de energia metabólica e também da dieta lipídica dos humanos.
5. A reserva de triacilgliceróis do tecido adiposo é mobilizada através da hidrólise a glicerol e ácidos graxos livres, catalisada por lípase específica. Os ácidos graxos livres são carregados pela corrente sanguínea na forma de complexos com albumina, que representa 50% da proteína do plasma. Ácidos graxos livres são muito insolúveis, a ~1microM formam micelas, que são altamente tóxicas.
6. A via catabólica de degradação de ácidos graxos para produção de ATP ocorre na matriz mitocondrial e se chama beta-oxidação. Esta via leva à clivagem sequencial da cadeia do ácido graxo em pares de C, liberando a cada ciclo: 1 acetilCoA, 1 NADH e 1 $FADH_2$ (ver reações abaixo), que alimentarão, respectivamente, o ciclo de Krebs e a cadeia respiratória. Mas, a beta-oxidação exige previamente uma ativação inicial que consome 1 ATP e libera o ácido graxo na forma de acil-CoA. Esta etapa preliminar de ativação se dá associada à membrana externa da mitocôndria e, a transferência da acil-Coa para dentro da mitocôndria, é mediada pela carnitina.

Reações de um ciclo de beta-oxidação:



7. A oxidação completa de uma molécula de palmitato (16 C) a CO_2 e H_2O, através da beta-oxidação, ciclo de Krebs e cadeia respiratória, rende 129 ATP. É importante destacar que este rendimento, medido em ATP/mol-oxidado, é muito superior ao da oxidação completa de açucares e proteínas, pois a oxidação de um ácido graxo leva á liberação de 37,6 kJ/g de energia livre, enquanto oxidação de açucares ou proteínas libera apenas 16,7 kJ/g.
8. É importante destacar que animais degradam eficientemente glicose até acetilCoA pela glicólise e assim podem converter C de açúcar em cadeias de lipídeo de reserva. Mas, estes organismos não podem fazer o caminho de volta de cadeias de ácido graxo para glicose, pois não possuem reações que convertam acetilCoA em piruvato ou oxalacetato.

Exercícios do Módulo 18

a. Ponto de fusão dos ácidos graxos. Os pontos de fusão de uma série de ácidos graxos de 18 átomos de carbono são: ácido esteárico (69,9^{o}C), ácido oléico (13,4^{o}C), ácido linoléico (-5^{o}C) e ácido linolénico (-11^{o}C). Que aspecto estrutural destes ácidos graxos de 18 carbonos pode ser correlacionado com o ponto de fusão? Forneça uma explicação molecular para esta tendência do ponto de fusão.

b. Mostre como os ácidos graxos são ativados antes de serem degradados. Em que compartimento celular isso ocorre?

c. Aonde e sob que forma são estocados os ácidos graxos? Como os ácidos graxos da reserva metabólica são mobilizados para serem oxidados na matriz mitocondrial?

d. Explique os passos da β-oxidação dos ácidos graxos, partindo de uma molécula de palmitato. Calcule o rendimento energético da oxidação completa de palmitato a CO_2 e H_2O.

e. Na β-oxidação, a cadeia de ácidos graxos é degradada aos pares de carbono. Na síntese de ácidos graxos, a cadeia cresce também aos pares de carbono. No entanto, o precursor na elongação da cadeia, durante a síntese, é malonil-CoA e não acetil-CoA. Explique porquê.

f. Equacione as etapas que compõem o conjunto de reações que permitem adicionar acetil-CoA à cadeia de ácido graxo crescente durante a síntese de palmitato. Mostre que etapa torna o processo favorecido termodinamicamente.

g. Compare a β-oxidação e a biossíntese de palmitato, mostrando diferenças e semelhanças em:

a) carregadores de grupos acila;
b) reações de óxido-redução;
c) coenzimas de óxido-redução;
d) gasto ou produção de energia em termos de equivalentes de ATP e de coenzimas redutoras.

h. Mostre como se dá a oxidação do ácido oléico.

MÓDULO 19: METABOLISMO DE ÁLCOOIS E FERMENTAÇÃO

1. Na atmosfera primordial da Terra, a concentração de oxigênio era desprezível e o metabolismo de produtos por fermentação provavelmente constitui o mais antigo mecanismo biológico de obtenção de energia.
2. Das arquibactérias aos vertebrados, a via glicolítica é uma das vias metabólicas compostas por enzimas de sequência mais bem conservada na evolução. A glicólise difere entre as espécies apenas nos detalhes de sua regulação e no destino metabólico subsequente dado ao piruvato formado. Os princípios termodinâmicos e os tipos de mecanismos regulatórios que governam a glicólise são comuns a todas as vias do metabolismo celular.
3. Para entender a fermentação, vale separar a glicólise em duas etapas:
    a. Primeira etapa: “Fase Preparatória”: Uma glicose é convertida a duas moléculas de gliceraldeído-3-fosfato com gasto de 2 moléculas de ATP.
    b. Segunda etapa: “Fase de Pagamento”: Ocorre conversão oxidativa dos gliceraldeído-3-fosfatos em piruvato e formação de 4 ATP e 2 NADH
4. Podemos então fazer uma supersimplificação da glicólise, a seguir:
    a. Primeira etapa:

$$\text{Glicose} + 2\ \text{ATP} \rightarrow 2\ \text{Gliceraldeído-3-P} + 2\ \text{ADP} + 2\ \text{Pi}$$

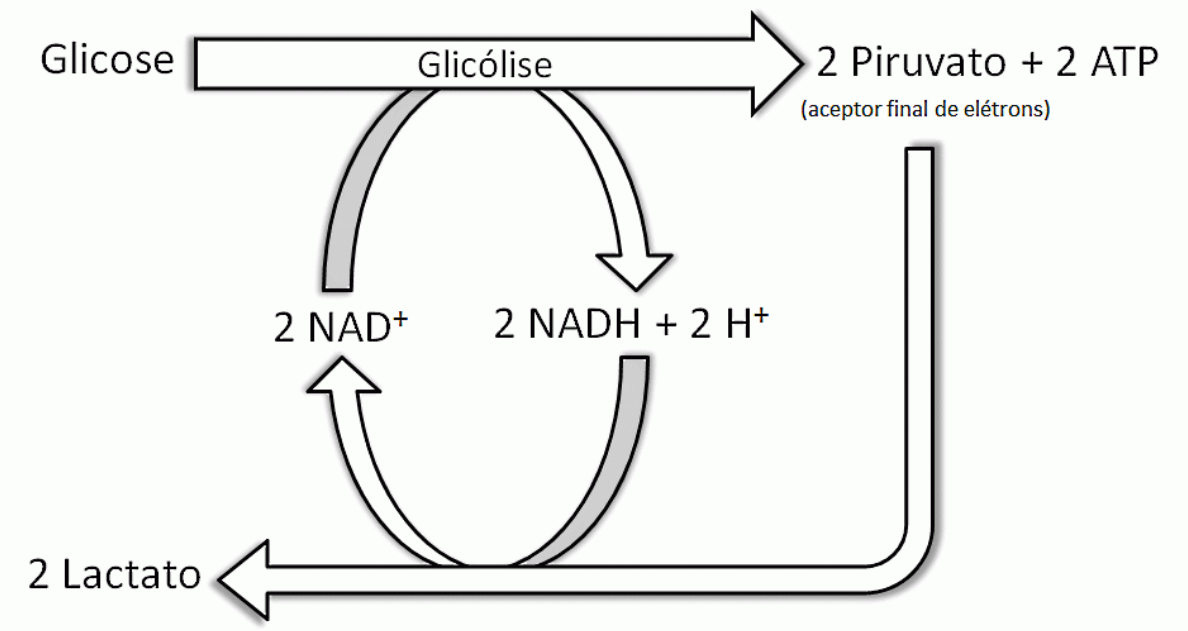
    b. Segunda etapa:

$$2\ \text{Gliceraldeído-3-P} + 2\ \text{NAD}^+ + 2\ \text{H}^+ + 4\ \text{ADP} + 4\ \text{Pi} \rightarrow 2\ \text{Piruvato} + 2\ \text{NADH} + 4\ \text{ATP}$$

A segunda etapa provê ATP suficiente para alimentar a primeira etapa, de modo que a reação poderia ocorrer de modo autônomo. Mas a primeira etapa não reoxida NADH, e sem NAD^+ não pode ocorrer a segunda etapa.

5. Em organismos aeróbios em condição de não-hipóxia, a enorme maior parte deste NADH gerado é destinado, como visto anteriormente, ao complexo I da mitocôndria, o NADH-desidrogenase. Neste complexo, o NADH + H^+ é oxidado à NAD^+ e o elétron doado é transferido de uma flavoproteína (como o cofator FMN) por diversos grupos Fe-S até a Ubiquinona (Q). A maior parte do NADH alimentando este complexo viria do ciclo de Krebs, provido de Acetil-CoA de origem dos piruvato, e o complexo I sozinho é responsável por cerca de 40% do potencial de prótons que resulta em produção de ATP.
6. Organismos não aeróbios ou células aeróbias facultativamente anaeróbias têm outros métodos para regenerar a forma NAD^+ do cofator, permitindo a utilização contínua e desimpedida da glicólise como meio de gerar ATP. Estes seriam a Fermentação à Etanol e a Fermentação à Lactato.

7. Podemos então definir a Fermentação como produção de energia sem utilização de oxigênio que não altera as proporções de NAD^+/NADH
8. A fermentação láctica ocorre em tecidos animais que não são supridos com oxigênio (como músculos em exercícios físicos intensos) ou tem alguma peculiaridade metabólica (como os eritrócitos, que não tem mitocôndrias). A redução do piruvato é catalisada pela **lactato-desidrogenase**, que forma o isômero L em pH

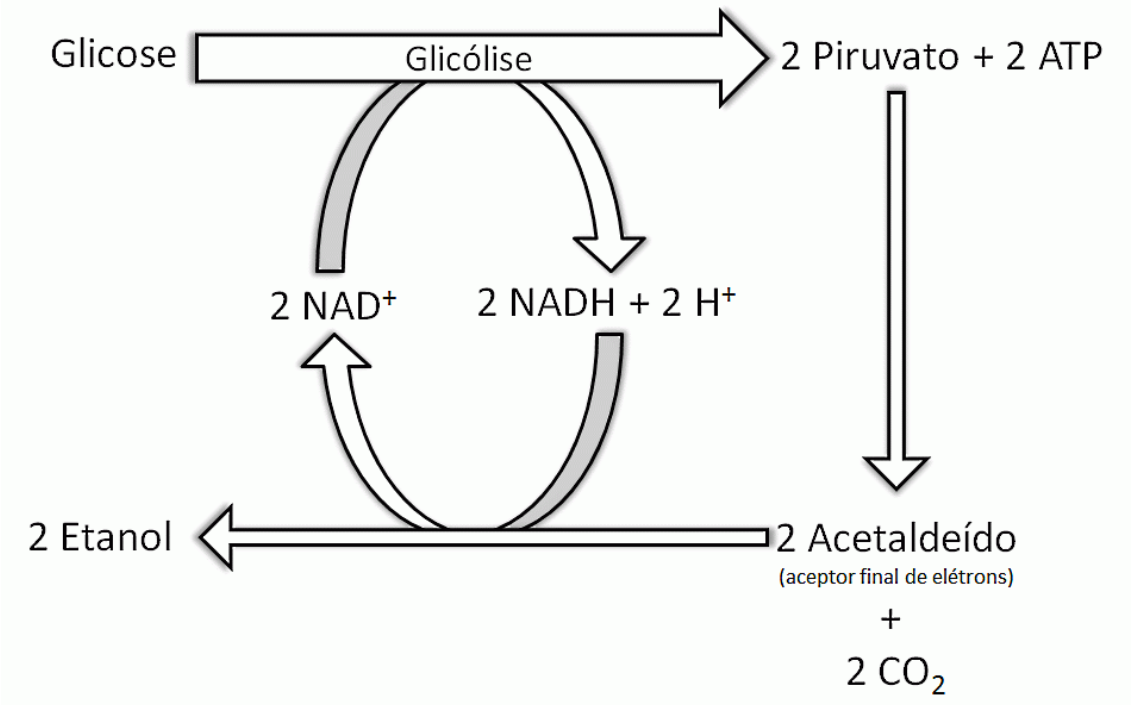


1**: Redução de piruvato à L-Lactato. ΔG'º= -25,1kJ/mol**

9. A acidificação resultante da ionização do lactato nos músculos e no sangue limita o período de atividade vigorosa. Os atletas mais bem condicionados só podem correr por um minuto em velocidade máxima.
10. Note que <u>não ocorre variação líquida no estado de oxidação do carbono</u>: na glicose ($C_6H_{12}O_6$) e no ácido láctico ($C_3H_6O_3$) a relação H:C é a mesma, com parte da energia da molécula de glicose extraída na forma de rendimento líquido de duas moléculas de ATP.
11. A fermentação alcóolica ocorre em leveduras e outros micro-organismos, que fermentam <u>glicose em etanol e CO_2</u> ao invés de lactato. A reação, a partir do piruvato, apresenta duas etapas:
    a. **Descarboxilação irreversível** do piruvato pela **piruvato-descarboxilase**, transformando-o em Acetaldeído e liberando uma molécula de CO_2. Note que esta não é uma reação de oxidação.
    b. **Redução** do acetaldeído à etanol pela **álcool-desidrogenase**, esta sim catalisada com auxílio do $NADH+H^+$, regenerando a forma NAD^+ do cofator.

Exercícios do Módulo 19

1. No músculo esquelético em atividade, sob condições anaeróbias, o gliceraldeído-3-fosfato é convertido a piruvato (a fase de pagamento da glicólise), e o piruvato é reduzido a lactato. Escreva as equações equilibradas para todas as reações desse processo, com a variação de energia livre padrão para cada reação (utilize os livros recomendados). Depois, escreva a equação global ou líquida para a fase de pagamento da glicólise (com o lactato como produto final), incluindo a variação de energia livre padrão líquida.
2. As leveduras (*S. cerevisiae*), quando crescem anaerobiamente em meio com glicose, convertem piruvato em acetaldeído, e então reduzem o acetaldeído em etanol usando elétrons do NADH. Escreva a equação para a segunda reação, e calcule sua constante de equilíbrio a 25ºC, utilizando os potenciais de redução padrão da tabela a seguir:



Semirreação	*E'°(V)*
½ O_2 + 2 H^+ + 2 e^- -> H_2O	0,816
2 H^+ + 2 e^- -> H_2 (em pH 7)	-0,414
Acetaldeído + 2 H^+ + 2 e^- -> Etanol	-0,197
NAD^+ + 2 H^+ + 2 e^- -> NADH	-0,320

3. Um experimento de “pulso e caça” usando fontes de carbono marcadas com ^{14}C é realizado em extrato de levedura mantida em condições rigorosas de anaerobiose para produzir etanol. O

experimento consiste na incubação de pequena quantidade do substrato marcado com ^{14}C (o pulso) com o extrato de levedura, apenas o tempo necessário para cada intermediário da via de fermentação tornar-se marcado. A marcação é então "caçada" ao longo da via pela adição de excesso de glicose não marcada. A caça impede efetivamente qualquer entrada adicional de glicose marcada na via.

a. Se [1-^{14}C] Glicose (Glicose marcada em C-1 com ^{14}C) é utilizada como substrato, qual é a localização do ^{14}C no etanol produzido? Explique.

b. Onde teria que estar localizado ^{14}C na glicose inicial para assegurar que toda atividade do ^{14}C seja liberada como $^{14}CO_2$ durante a fermentação à etanol? Explique.

4. Os fermentadores industriais de larga escala geralmente requerem resfriamento constante e eficaz. Por quê?

5. Molho de soja é preparado por fermentação de uma mistura salgada de feijão de soja e trigo com vários microrganismos, incluindo leveduras, ao longo de um período de 8 a 12 meses. O molho resultante (depois da remoção dos sólidos) é rico em lactato e etanol. Para evitar que o molho de soja tenha um gosto forte de vinagre (vinagre é ácido acético diluído), o oxigênio deve ser mantido fora do tanque de fermentação. Por quê?

6. A transformação de glicose a lactato nos miócitos libera apenas em torno de 7% da energia livre liberada quando a glicose é completamente oxidada a CO_2 e H_2O. Isso significa que a glicólise anaeróbia no músculo é um desperdício de glicose? Explique.

7. Em 1906, Harden e Young, em uma série de estudos clássicos sobre a fermentação da glicose a etanol e CO_2 por extratos de leveduras de cerveja, fizeram as seguintes observações:

a. Fosfato inorgânico foi essencial para a fermentação, quando o suprimento de fosfato esgotava, a fermentação parava antes que toda a glicose fosse utilizada

b. Durante a fermentação nessas condições havia acúmulo de etanol, CO_2 e uma hexose-bifosfato.

c. Quando arsenato era substituído por fosfato, a hexose-bifosfato não se acumulava, e a fermentação ocorria até que toda glicose fosse convertida a etanol e CO_2.

Pergunta-se:

i. Por que a fermentação cessa quando o suprimento de fosfato se esgota?

ii. Por que etanol e CO_2 se acumulam? A conversão de piruvato em etanol e CO_2 é essencial? Por quê? Identifique a hexose-bifosfato que se acumula. Por que ela se acumula.

iii. Por que a substituição de fosfato por arsenato previne o acúmulo da hexose-bifosfato, mas permite que a fermentação a etanol e CO_2 se complete?

8. Adultos engajados em exercício físico intenso requerem, para nutrição adequada, uma ingestão de cerca de 160g de carboidrato diariamente, mas apenas em torno de 20mg de niacina. Dado o papel da niacina na glicólise, como você explica essa observação?

Colesterol

O colesterol é sintetizado a partir da acetil-coenzima A em três estágios. O colesterol é um esteroide componente das membranas animais e um precursor dos hormônios esteroides. A etapa comprometida em sua síntese é a formação de mevalonato a partir da 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (derivada da acetil-CoA e da acetoacetil-Coa). O mevalonato é convertido em isopentenil pirofosfato (C5), que se condensa com o seu isômero, o dimetilalil pirofosfato (C5), formando geranil pirofosfato (C10). A adição de uma segunda molécula de isopentenil pirofosfato produz farnesil pirofosfato (C15), que se condensa com outra molécula de farnesil pirofosfato para formar o esqualeno (C30). Esse intermediário cicliza a lanosterol (C30), que é modificado para produzir colesterol (C27). O colesterol é um constituinte vital das membranas celulares e é o precursor dos hormônios esteroides e dos sais biliares. Sua biossíntese, transporte e utilização são rigidamente controlados.

Detalhando, o colesterol é sintetizado no fígado a partir de acetato, em uma rota que envolve a formação de HMG-CoA, a partir de três moléculas de acetato, seguida por redução, fosforilação, descarboxilação e desidratação, formando as unidades de isopreno isopentenil-pirofosfato e dimetilalil-pirofosfato. Quatro dessas unidades isoprenóides são, então, condensadas por meio de mecanismos catiônicos para formar esqualeno, que, por sua vez, sofre uma reação de ciclização, através de uma cascata catiônica, para formar lanosterol, o precursor esteroide do colesterol. O principal ponto de controle dessa rota está na HMG-CoA redutase. Essa enzima é regulada por mecanismos competitivo e alostérico, por fosforilação e desfosforilação e, de maneira mais importante, pelo controle a longo prazo das velocidades de síntese e degradação enzimática. O controle a longo prazo é mediado pela proteína integral de membrana SREBP (proteína de ligação ao elemento regulador de esterol) que, quando os níveis de colesterol estão baixos, é escoltada pela SCAP (proteína ativadora da clivagem de SREBP) até o aparelho de Golgi por meio de vesículas revestidas por COPll. No aparelho de Golgi, ela é sequencialmente clivada pelas proteases sítio-1 e sítio-2 (SlP e S2P), liberando seu domínio solúvel bHAH/Z para penetrar no núcleo, onde induz a transcrição dos genes que contêm SRE (elemento regulador de esterol), tais como o gene da HMG-CoA-redutase e do receptor de LDL. Em adição, quando os níveis de esterol estão elevados, a velocidade de degradação proteolítica da HMG-CoA-redutase é grandemente aumentada. O fígado secreta colesterol para corrente sanguínea na forma esterificada, como parte da VLDL. Este complexo é sequencialmente convertido a IDL e, então, a LDL. A LDL, que é internalizada pelas células por endocitose mediada por receptor, transporta a maior parte do colesterol aos tecidos periféricos, para utilização. O excesso de colesterol retorna ao fígado a partir dos tecidos periféricos por meio da HDL. O suprimento celular de colesterol é controlado por três mecanismos: (1) regulação a curto e a longo prazo da HMG-CoA-redutase; (2) controle da síntese do receptor de LDL

pela concentração de colesterol; e (3) regulação a curto e a longo prazo da acil-CoA: colesterol-aciltransferase (ACAT), que faz a mediação da esterificação do colesterol. O colesterol é o precursor dos hormônios esteroides, que são classificados como progestinas, glicocorticoides, mineralocorticoides, androgênios e estrogênios. A única rota para a excreção de colesterol é por meio da formação e excreção de sais biliares.

A regulação complexa da biossíntese de colesterol ocorre em vários níveis. No fígado, a síntese de colesterol é regulada por alterações na quantidade e na atividade da 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase. A transcrição do gene, a tradução do mRNA e a degradação da enzima são estritamente controladas. Além disso, a atividade da redutase é regulada por fosforilação. Os triacilgliceróis exportados pelo intestino são transportados por quilomícrons e, a seguir, hidrolisados por lipases que revestem os capilares dos tecidos-alvo. O colesterol e outros lipídios em quantidades acima das necessárias para o fígado são exportados na forma de lipoproteína de densidade muito baixa. Após liberar o seu conteúdo de triacilgliceróis no tecido adiposo e em outros tecidos periféricos, a VLDL é convertida em lipoproteína de densidade intermediária e, a seguir, em lipoproteína de baixa densidade. As IDL e LDL transportam ésteres de colesteril, principalmente colesteril linoleato. O fígado e as células de tecidos periféricos captam a LDL por endocitose mediada por receptor. O receptor de LDL, uma proteína que se estende de um lado a outro da membrana plasmática da célula-alvo, liga-se à LDL e medeia a sua entrada na célula. A ausência do receptor de LDL na forma homozigota da hipercolesterolemia familiar provoca aumento acentuado dos níveis plasmáticos de colesterol LDL e depósito de colesterol nas paredes dos vasos sanguíneos, o que, por sua vez, pode resultar em ataques cardíacos na infância. A apolipoproteína B, uma proteína muito grande, é um componente estrutural essencial dos quilomícrons, das VLDL e das LDL. As lipoproteínas de alta densidade transportam o colesterol dos tecidos periféricos para o fígado

Condições alimentares ou defeitos genéticos no metabolismo do colesterol podem levar à aterosclerose e a doenças cardíacas. No transporte reverso do colesterol, HDL remove colesterol dos tecidos periféricos, transportando-o para o fígado. Por reduzir o conteúdo de colesterol das células espumosas, HDL protege contra aterosclerose.

Sais Biliares

Os sais biliares são derivados polares do colesterol. Esses compostos são detergentes altamente efetivos, visto que eles contêm regiões tanto polares quanto apolares. Os sais biliares são sintetizados no fígado, armazenados e concentrados na vesícula biliar e então liberados no intestino delgado. Os sais biliares, que representam o principal componente da bile, solubilizam os lipídios da alimentação. A solubilização aumenta a área de superfície efetiva dos lipídios, com duas consequências: (1) maior área de superfície fica exposta à ação digestiva das lipases e (2) os

lipídios são mais prontamente absorvidos pelo intestino. Os sais biliares também constituem os principais produtos de degradação do colesterol.

Hormônios Esteroides

O colesterol é o precursor de cinco classes principais de hormônios esteroides: os progestógenos, os glicocorticoides, os mineralocorticoides, os androgênios e os estrogênios. Esses hormônios são moléculas de sinalização poderosas, que regulam inúmeras funções do organismo. A progesterona, um progestógeno, prepara o revestimento do útero para implantação de um óvulo. A progesterona também é essencial para a manutenção da gestação. Os androgênios (como a testosterona) são responsáveis pelo desenvolvimento das características sexuais secundárias masculinas, enquanto os estrogênios (como o estradiol) são necessários para o desenvolvimento das características sexuais secundárias femininas. Os estrogênios, juntamente com a progesterona, também participam no ciclo ovariano. Os glicocorticoides (como o cortisol) promovem a gliconeogênese e a formação de glicogênio, aumentam a degradação dos lipídios e das proteínas e inibem a resposta inflamatória. Eles capacitam os animais a responder ao estresse; com efeito, a ausência de glicocorticoides pode ser fatal. Os mineralocorticoides (principalmente a aldosterona) atuam nos túbulos distais dos rins e aumentam a reabsorção de Na+ e a excreção de K+ e H+, levando a um aumento do volume sanguíneo e da pressão arterial. Os principais locais de síntese dessas classes de hormônios são o corpo lúteo, para os progestógenos; os testículos, para os androgênios; os ovários, para os estrogênios; e o córtex da suprarrenal, para os glicocorticoides e os mineralocorticoides.

Bioquímica - Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Lubert Stryer; com Gregory J. Gatto, Jr.; 7ª Edição
Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. Brasil.

Princípios de Bioquímica de Lehninger - David L. Nelson, Michael M. Cox; 6ª Edição
Porto Alegre: Artmed, 2014, Brasil

Exercícios do Módulo 20

1. Descreva a estrutura do colesterol e dos hormônios sexuais testosterona e estradiol. Aponte as diferenças entre essas 3 moléculas.

2. O colesterol tem uma estrutura molecular bastante rígida. Responda: a. Qual característica da molécula do colesterol que determina essa rigidez? b. Qual a importância da estrutura do colesterol para a membrana plasmática? c. Faça um esquema simplificado de uma molécula de colesterol entre duas moléculas de fosfolipídios na membrana plasmática?

3. Os sais biliares são essenciais para a digestão de gorduras e na regulação dos níveis de colesterol sanguíneo (colesterolemia). Responda:

   a. Qual o papel dos sais biliares na digestão de gorduras?

b. Onde os sais biliares são produzidos e onde são estocados?
c. Por que medicamentos que bloqueiam a reabsorção de sais biliares regulam os níveis de colesterol?

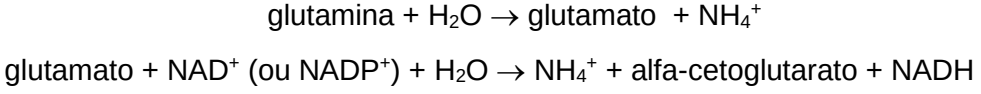
4. Avalie a eficácia da redução do teor de colesterol na dieta como uma forma de diminuir o nível plasmático deste composto. Levar em conta os mecanismos de controle da síntese de colesterol no fígado?

5. Qual seria o efeito no metabolismo de colesterol de uma mutação genética que resultasse numa expressão diminuída do receptor de LDL? Sugira formas de tratamento para amenizar esses efeitos.

MÓDULO 21: DEGRADAÇÃO DE AMINOÁCIDOS E CICLO DA URÉIA

1. Em animais, o N do grupo amino dos aminoácidos é eficientemente obtido a partir de NH_4^+ pelas reações catalisadas pelas enzimas desidrogenase glutâmica e glutamina sintetase, fornecendo, respectivamente, glutamato e glutamina.
2. Ainda em animais de forma geral, os aminoácidos alanina e aspartato podem ser obtidos a partir de, respectivamente, piruvato e oxalacetato, através da reação de transaminação tendo glutamato como doador de grupo amino. Outros aminoácidos exigem reações adicionais, além da transaminação para sua síntese final. Mas, como regra, os esqueletos de C dos aminoácidos são obtidos a partir dos intermediários da glicólise, do ciclo de Krebs e do ciclo das pentoses.
3. Há, no entanto, aminoácidos que não podem ser sintetizados por animais devido a falta do precursor que fornece o esqueleto de C. Estes são ditos aminoácidos essenciais e tem que ser obtidos na dieta. Por exemplo, humanos tem que conseguir da dieta 9 aminoácidos essenciais.
4. Triglicerídeos e glicogênio são compostos de reserva, mobilizados quando há necessidade de energia. Em animais, não existem espécies de proteína com funções de reserva energética, mas no jejum prolongado proteínas são hidrolisadas para liberar aminoácidos que serão metabolizados para produção de energia. O fígado é o centro de metabolização de aminoácidos.
5. O catabolismo de aminoácidos envolve a eliminação de N na forma de NH_4^+ e a transformação dos esqueletos de C em intermediários da glicólise e do ciclo de Krebs.
6. Duas reações principais permitem a eliminação do amino grupo. Diversos aminoácidos podem transferir o grupo amino para o alfa-cetoglutarato numa reação catalisada por transaminases:

Por outro lado, glutamina e glutamato podem ser desaminados em reações catalisadas pela glutaminase e desidrogenase glutâmica, respectivamente:

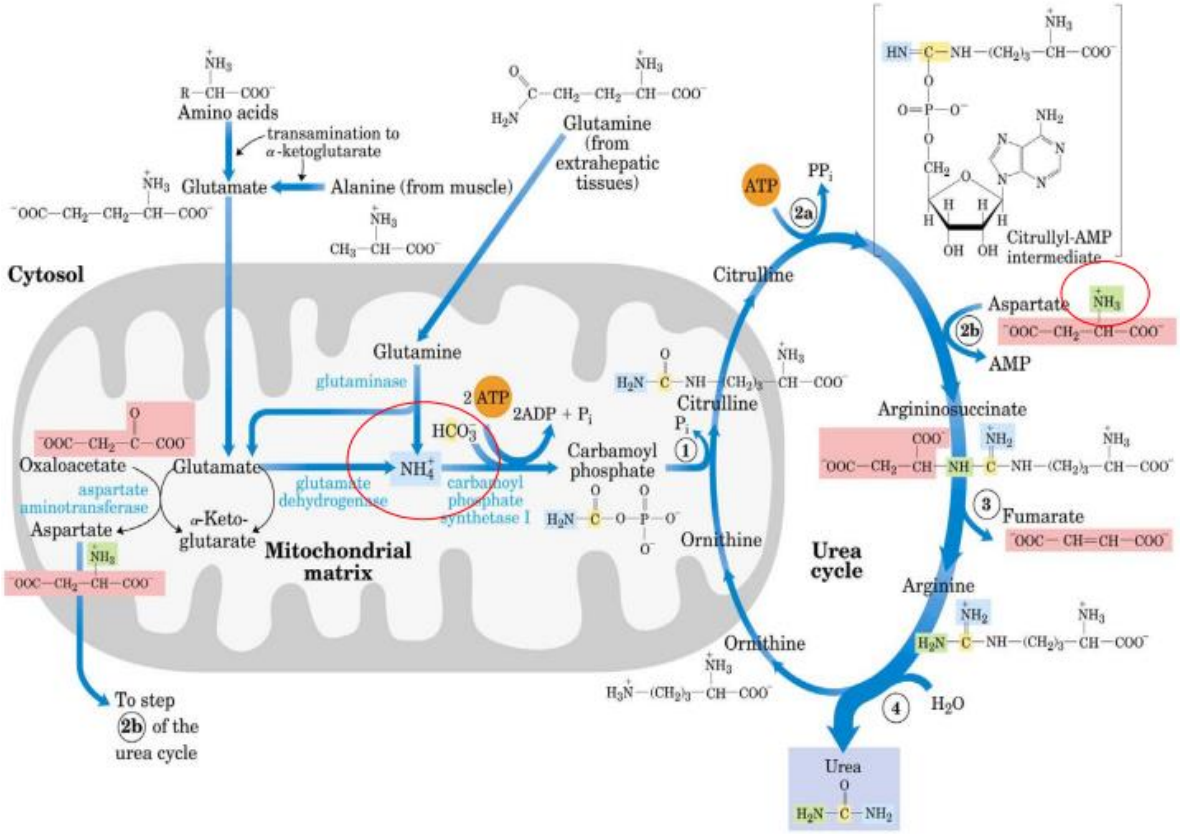


O cátion amônio é tóxico, sendo utilizado para a síntese de glutamina ou convertido em uréia no ciclo correspondente, para fins de excreção.

7. Aminoácidos como alanina, aspartato e glutamato são ditos glicogênicos porque podem ser convertidos em, respectivamente, piruvato, oxalacetato e alfa-cetoglutarato, que, por sua vez, podem ser transformados em fosfoenolpiruvato para síntese de glicose. Já os aminoácidos leucina

e lisina são chamados cetogênicos por produzirem exclusivamente acetil-CoA como produto de degradação, portanto servindo à síntese de corpos cetônicos, mas não de glicose.

8.



Exercícios do Módulo 21

1) Como é a reação de transaminação e qual a sua importância para o metabolismo de aminoácidos?

2) A amônia pode ser tóxica para a mitocôndria hepática? Como se explica bioquimicamente esta toxidez? Que reações e respectivas enzimas protegem a mitocôndria da toxidez de amônia?

3) Uma das duas principais reações de entrada de NH_3 no metabolismo é a reação catalisada pela glutamina sintetase. Mostre a equação dessa reação. Qual a importância da glutamina para o metabolismo? Dê exemplos.

4) O que são aminoácidos glicogênicos e cetogênicos? Dê exemplos e explique mostrando as reações relevantes do metabolismo.

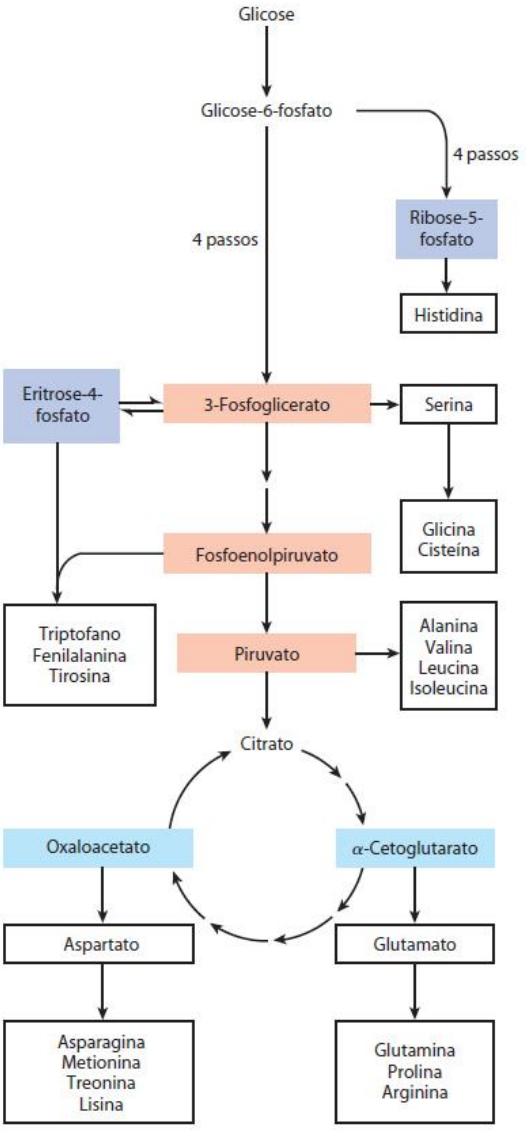
5) Humanos sintetizam parte dos aminoácidos que precisam, o restante é obtido da dieta e por isso, chamados essenciais. Mostre, com as reações pertinentes, porque e como alguns aminoácidos são sintetizados por humanos e qual a limitação que impede a síntese dos essenciais.

6) Animais em geral não possuem reservas na forma de proteínas ou qualquer outra macromolécula nitrogenada. Quais as consequências desse fato para o balanço de nitrogênio nesses organismos em condições de alimentação abundante e de jejum acentuado?

MÓDULO 22: SÍNTESE DE AMINOÁCIDOS

Aviso: As imagens deste capítulo prover-se-ão do livro Princípios de Bioquímica de Lehninger, 6ª Edição.

1. Os aminoácidos são sintetizados a partir de intermediários dos ciclos estudados da glicólise, do ciclo de Krebs e da via das pentoses-fosfato.



Biossíntese de Aminoácidos e seus precursores nas principais rotas metabólicas. Glicólise: cor salmão. Ciclo do ácido cítrico: cor azul. Via das pentoses-fosfato: cor roxa.

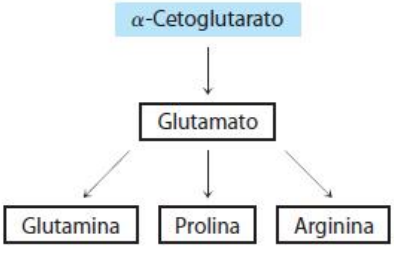
2. Não são todos os organismos que podem sintetizar todos os aminoácidos. Quanto mais derivado um organismo, mais cópias de enzimas essenciais para estes processos foram sendo perdidas durante a evolução. Deste modo, organismos mais derivados dependem da dieta para obter aminoácidos ditos essenciais para os mesmos, geralmente obtendo-os de plantas ou bactérias, ou consumindo proteína animal.

3. Os aminoácidos podem ser agrupados em seis famílias com base nos seus precursores biológicos:

Piruvato	α-Cetoglutarato
Alanina	Glutamato
Valina*	Glutamina
Leucina*	Prolina
Isoleucina*	Arginina
3-Fosfoglicerato	Fosfoenolpiruvato e Eritrose-4-fosfato
Serina	Triptofano*
Glicina	Fenilalanina*
Cisteína	Tirosinaǂ
Oxaloacetato	Ribose-5-fosfato
Aspartato	Histidina*
Asparagina	
Metionina*	
Treonina*	
Lisina*	

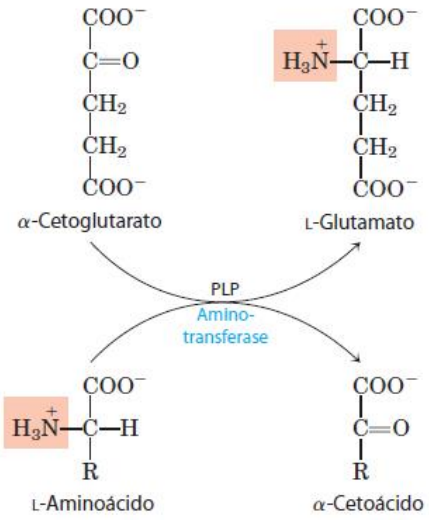
**= Aminoácidos Essenciais em mamíferos. ǂ= Derivado da fenilalanina em mamíferos*

4. Síntese dos aminoácidos:
    a. Originários de α-Cetoglutarato:
        i. Glutamato
        ii. Glutamina
        iii. Prolina
        iv. Arginina



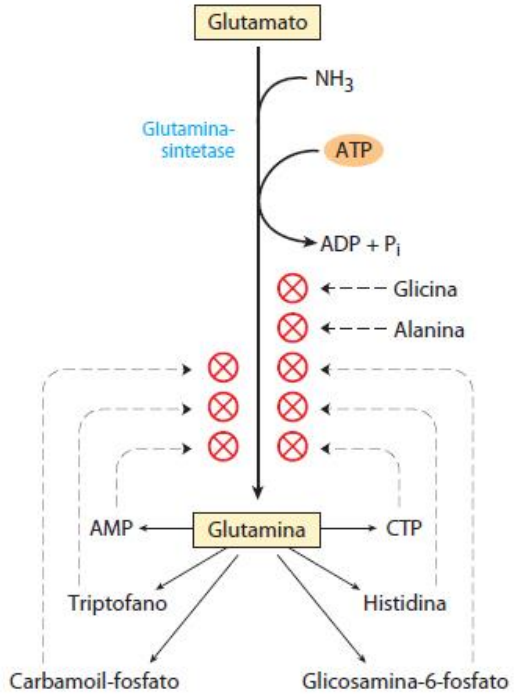
Primeiro, α-Cetoglutarato é convertido em Glutamato através da obtenção de um grupo amina, e Glutamato origina os demais aminoácidos do grupo.

É importante ressaltar que o Glutamato é fonte de nitrogênio para diversos outros aminoácidos, e a Glutamina fonte de nitrogênio para incontáveis processos biossintéticos. Os dois aminoácidos funcionam como transportadores não-tóxicos de grupos NH_3.



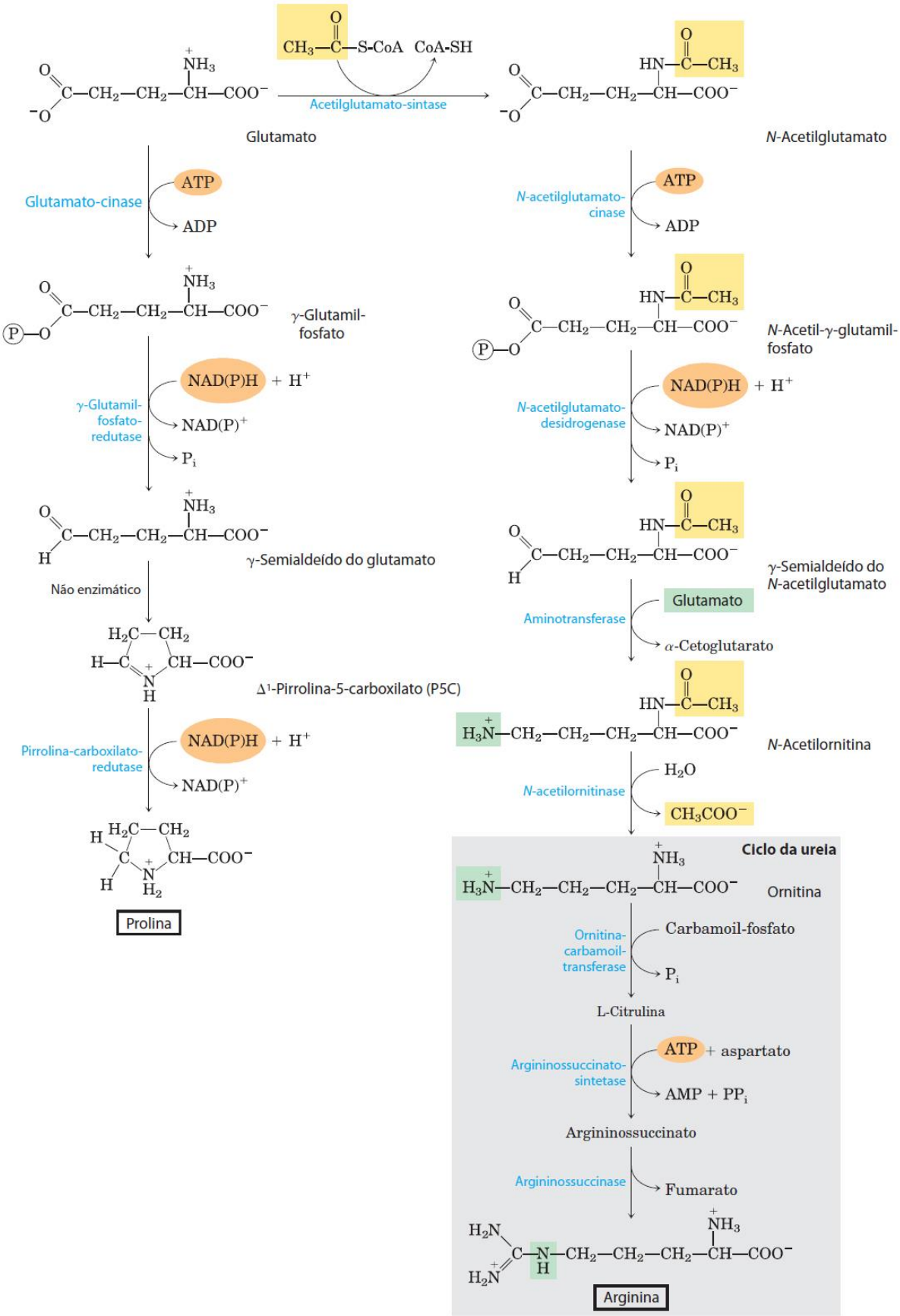
Síntese de Glutamato a partir de α-Cetoglutarato

pela Amino-transferase Piridoxal-Fosfato (PLP)



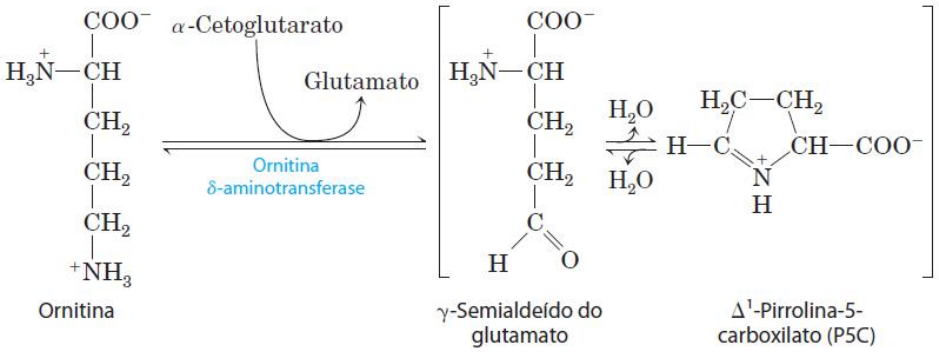
Síntese de Glutamina a partir de Glutamato pela Glutamina-sintetase e suas regulações alostéricas.

a. Na página seguinte, a via metabólica de produção da Prolina e Arginina, extraído da mesma fonte citada. Note o uso tanto de NADH quanto de NADPH como cofatores, o que é incomum.
b. Durante a formação de Prolina, ocorre ciclização espontânea e reversível do composto γ-Semialdeído do glutamato para Δ^1-Pirrolina-5-carboxilato (P5C). O equilíbrio favorece formação de P5C.
c. Como ocorre acetilação do grupo α-amino do glutamato na via da Arginina, não ocorre ciclização nesta via. O grupo acetilado é removido após a transaminação.
d. Algumas bactérias não podem completar o ciclo da uréia por não terem a enzima **arginase**. Elas ainda assim podem sintetizar arginina a partir da ornitina, utilizando citrulina e argininossuccinato como intermediários.



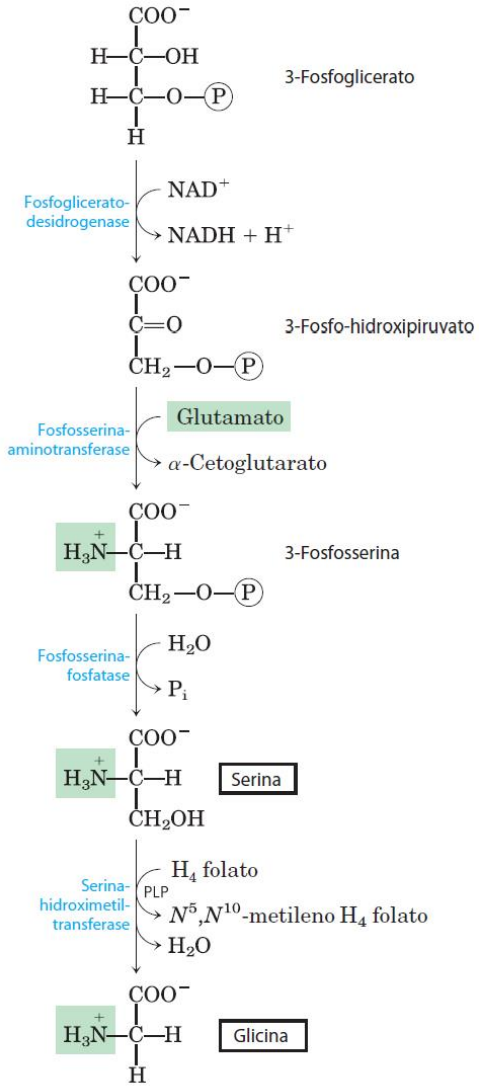
Síntese de Prolina e Arginina a partir de Glutamato. Note a ciclização não-enzimática na via da Prolina e a entrada no Ciclo da Uréia na via da Arginina.

e. Quando os níveis de Arginina estão abaixo do necessário em mamíferos, a reação catalisada pela Ornitina δ-aminotransferase na matriz mitocondrial, que favorece a formação de P5C (ou seja, o caminho contrário), é utilizada para produzir Ornitina, precursora da Arginina, permitindo a continuação da síntese proteica.



Reação de produção de Ornitina com gasto de Glutamato.

b. Originários de 3-Fosfoglicerato
   - **i.** Serina
   - **ii.** Glicina
   - **iii.** Cisteína

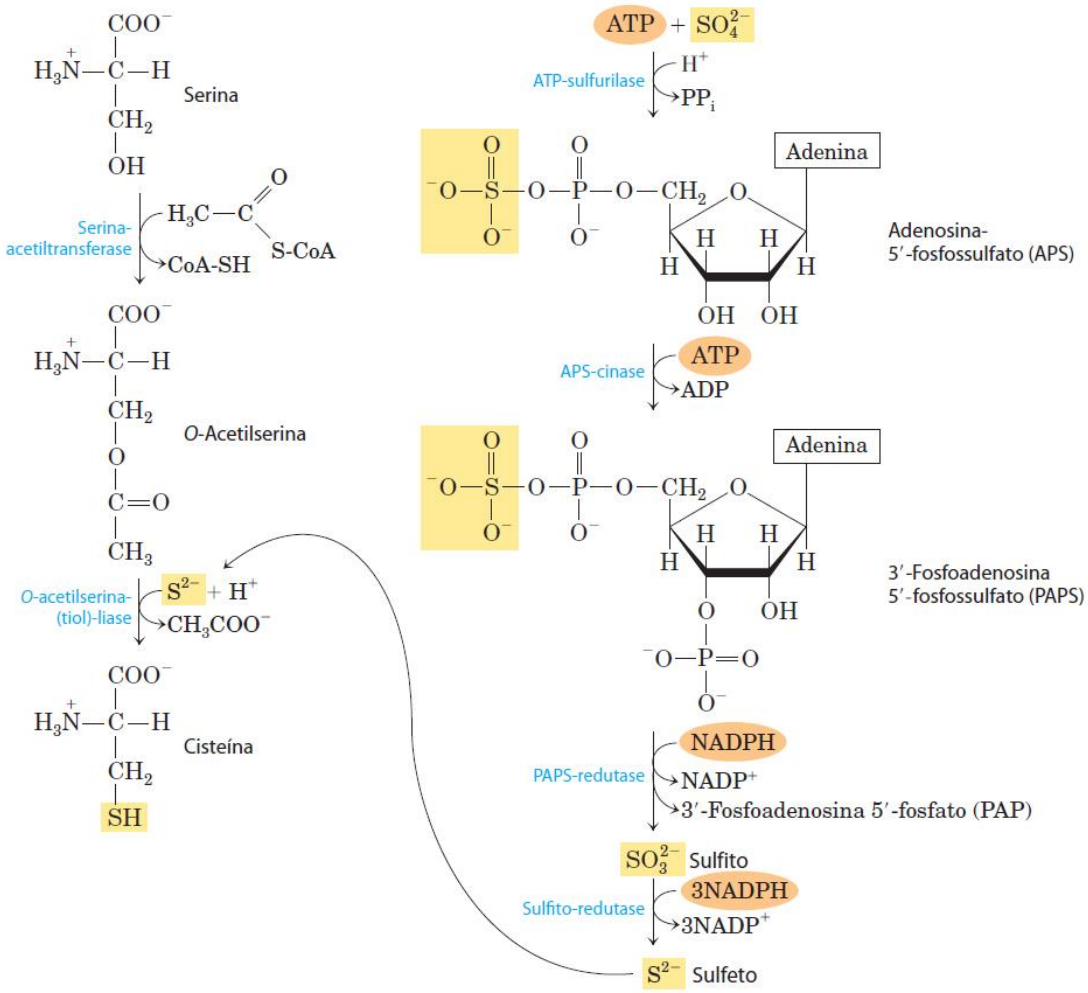


Via de Síntese da Serina e Glicina.

A via de produção de Serina é idêntica em todos os seres vivos. 3-Fosfoglicerato sobre uma desidrogenação por NAD^+ (*fosfoglicerato desidrogenase*) e então recebe um grupo amina do glutamato (*fosfosserina-aminotransferase*), seguida de uma desfosforilação (*fosfosserina-fosfatase*).
Após tornar-se Serina (três carbonos), a remoção de um átomo de carbono dá origem à Glicina pela enzima *Serina-hidroximetiltransferase*.

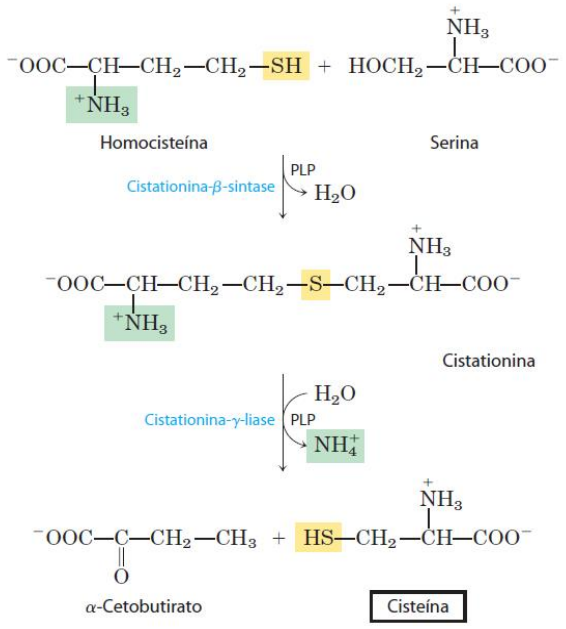
Cisteína (e Metionina, como será visto em breve) requerem um enxofre reduzido, que só é produzido por plantas e bactérias. O sulfato (SO_4^{2-}) é ativado por ATP pela *ATP-sulfurilase*, produzindo uma Adenosina-5`-fosfossulfato (APS). A APS recebe mais um grupo fosfato de outra ATP através da APS-cinase, tornando-se 3`-fosfoadenosina 5`-fosfossulfato (PAPS). PAPS é reduzida pela *PAPS-redutase* com auxílio de um NADPH, liberando PAP (3`-Fosfoadenosina 5`-fosfato) e Sulfito (SO_3^{2-}). Finalmente, Sulfito é reduzido com auxílio de **três** moléculas de NADPH à Sulfeto (S^{2-}), onde pode ser incorporado a partir da serina em cisteína. Todo este processo está representado na próxima imagem. É importante compreendê-lo, mas não o decorar.

Para a produção de Cisteína, Serina recebe um grupo acetil (transportado pela S-CoenzimaA), reação catalisada pela *Serina-acetiltransferase*. A resultante O-Acetilserina recebe o Sulfeto pela enzima *O-acetilserina-(thiol)-liase*, tornando-se uma Cisteína.



Processo de redução do enxofre e adição do mesmo à O-Acetilserina para formar Cisteína.

Em mamíferos, a cisteína é produzida a partir de Metionina e Serina. Metionina cede o enxofre, e Serina o esqueleto de carbono. Metionina primeiro é convertida à Homocisteína num ciclo de ativação de grupo metila. As duas moléculas são então condensadas em Cistationina, e um grupo NH_4^+ é removido por uma liase, que produz uma Cisteína e um α-Cetobutirato.

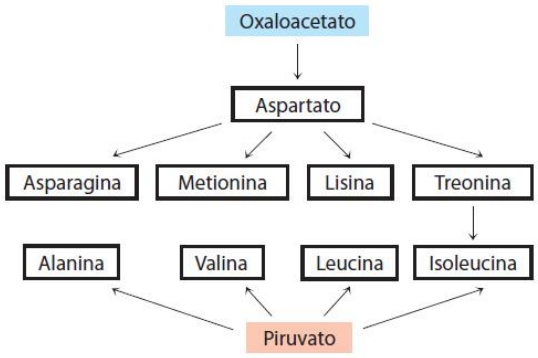


Formação de Cisteína em Mamíferos, por um precursor derivado de Metionina, a Homocisteína, e Serina.

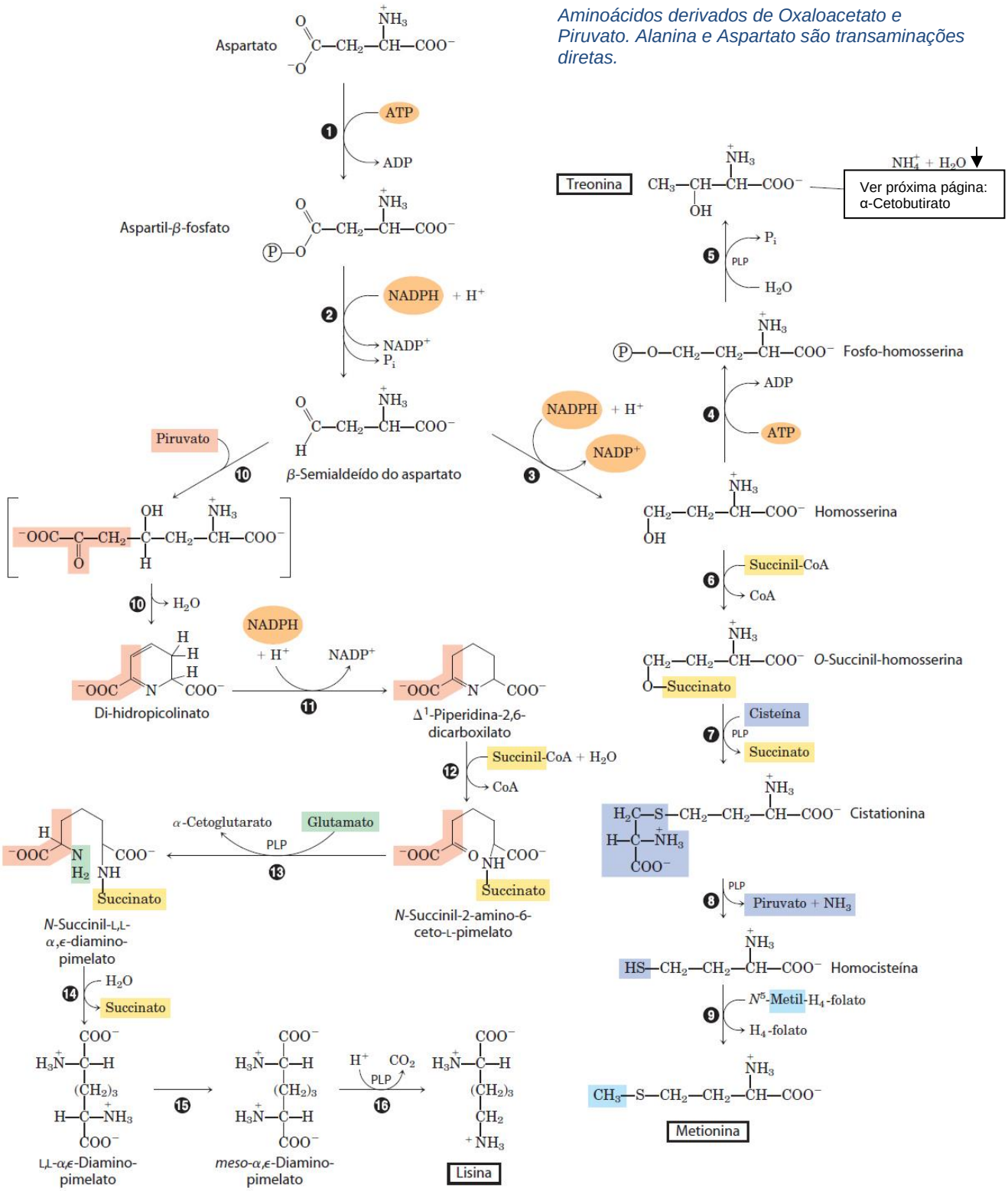
c. Originários de Oxaloacetato e Piruvato
1. Oxaloacetato:
   i. Aspartato
   ii. Asparagina
   iii. Metionina
   iv. Lisina
   v. Treonina
2. Comum entre Oxaloacetato e Piruvato:
   i. Isoleucina
3. Piruvato:
   i. Alanina
   ii. Valina
   iii. Leucina

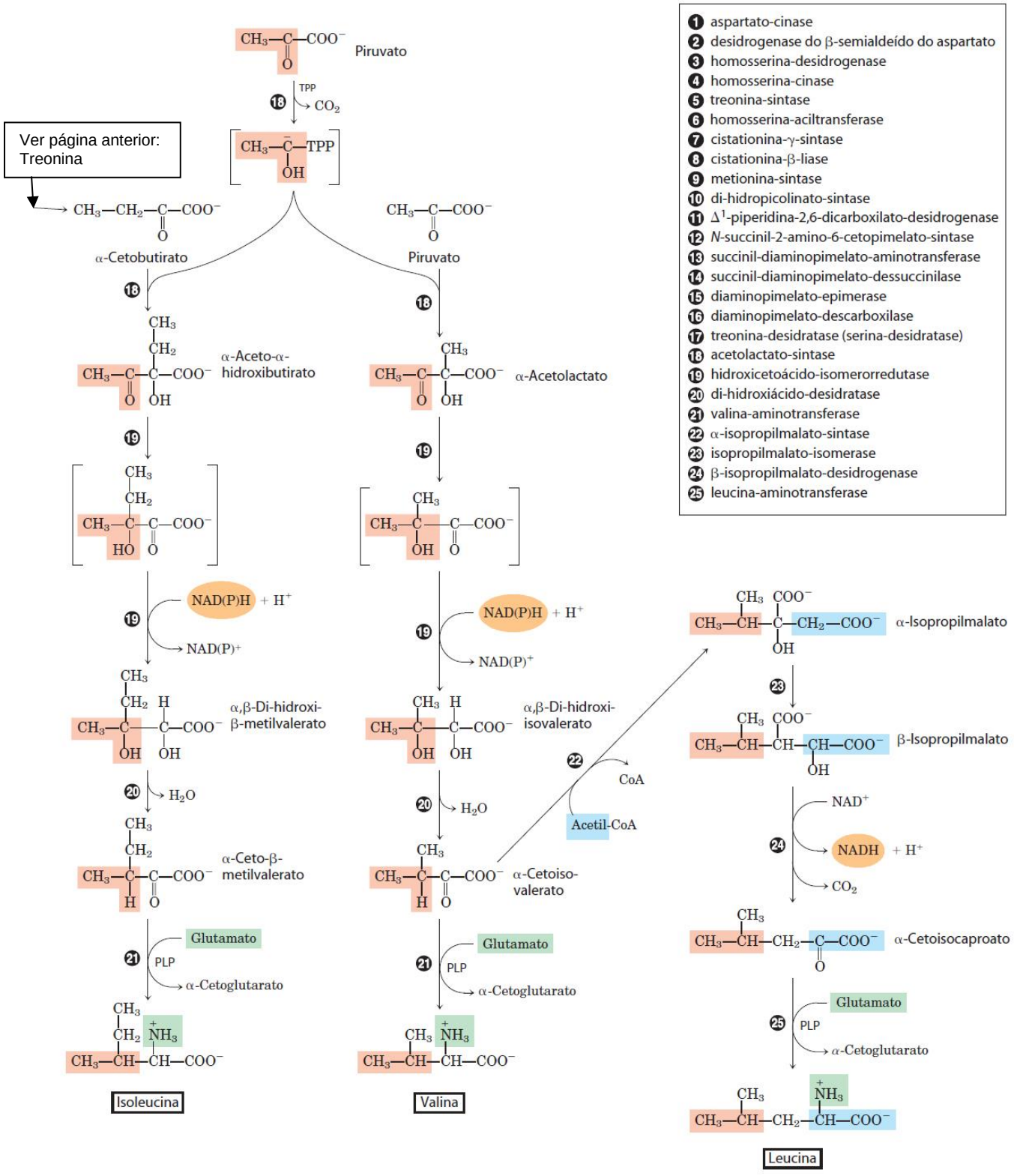
Alanina é uma transaminação direta do Piruvato por Glutamato, assim como Aspartato é de Oxaloacetato. Estas duas reações são universais em seres vivos e muito simples.

Nas imagens abaixo, estão as vias de biossíntese de Metionina, Treonina, Lisina, Isoleucina, Valina e Leucina, realizadas por bactérias.



Aminoácidos derivados de Oxaloacetato e Piruvato. Alanina e Aspartato são transaminações diretas.

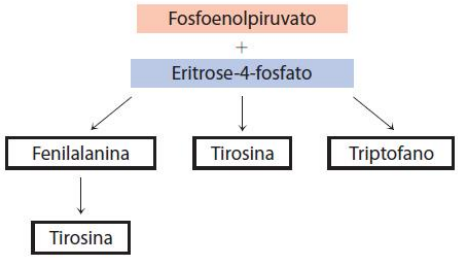




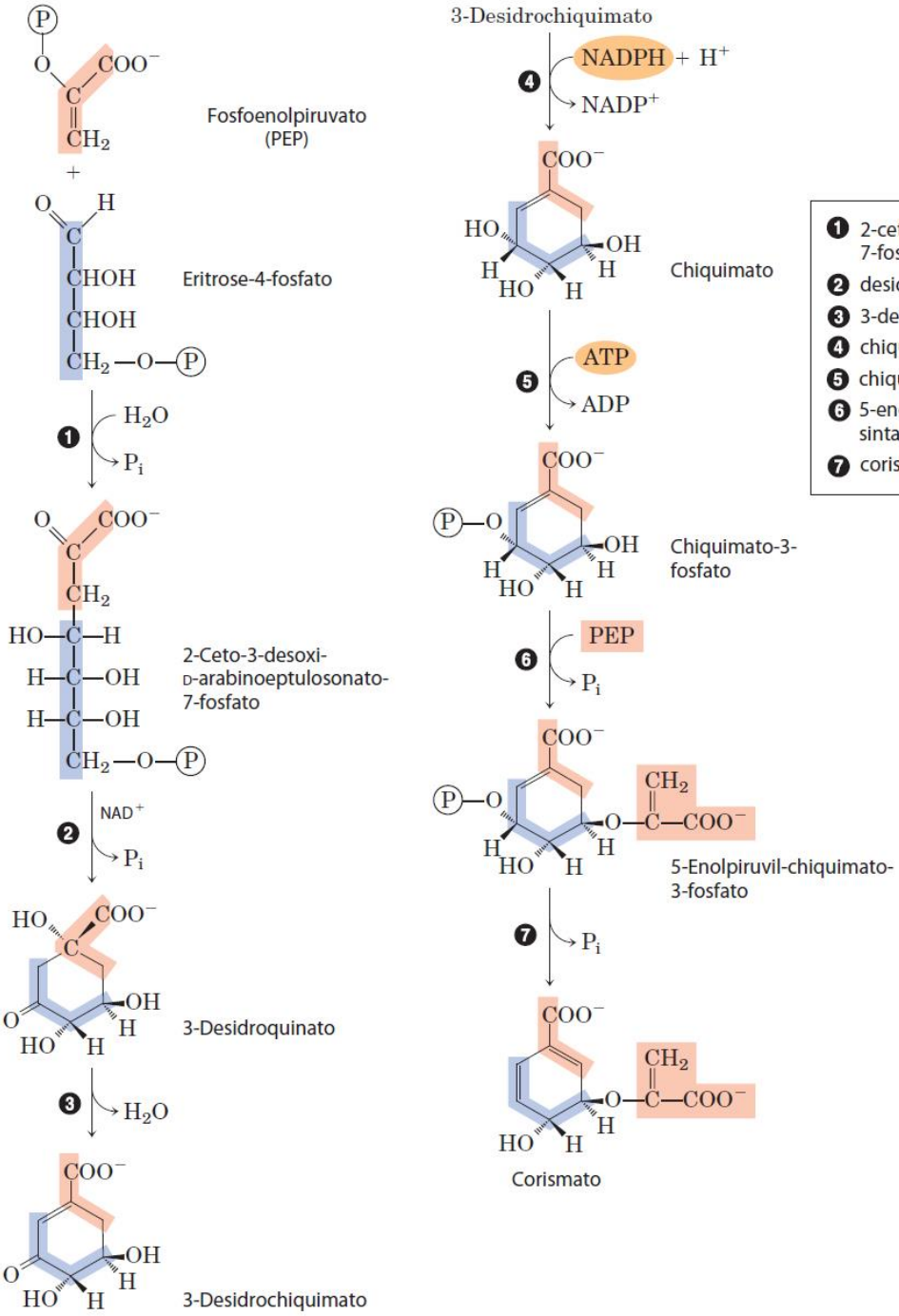
É importante saber que as vias de biossíntese de plantas e bactérias podem diferir muito entre si, de modo que estas de bactéria aqui expostas são apenas uma referência de funcionamento.

d. Originários de Fosfoenolpiruvato e Eritrose-4-fosfato
   i. Fenilalanina
   ii. Tirosina
   iii. Triptofano

Os aminoácidos derivados de Fosfoenolpiruvato e Eritrose-4-fosfato contém um grupo aromático, o que torna sua síntese bastante convoluta, pois anéis aromáticos, por mais estáveis que sejam, tem baixa disponibilidade no mundo natural. Eles são formados por bactérias e plantas por um processo de condensação (uso de NADPH), que produz uma molécula de 7 carbonos, o Chiquimato. Esta molécula com gato de energia, tem duas ligações duplas adicionadas a ela até tornar-se o precursor destes aminoácidos, o Corismato.



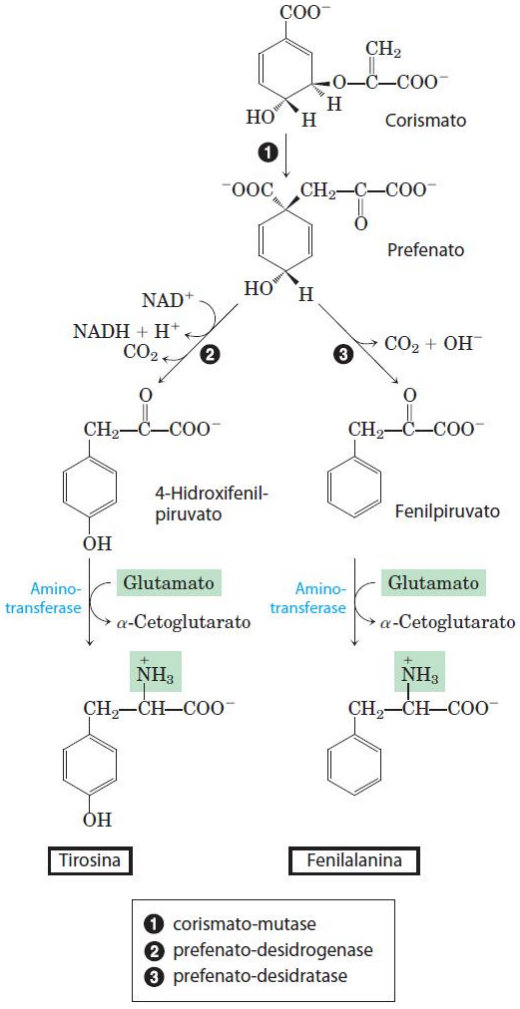
Aminoácidos derivados de Fosfoenolpiruvato e Eritrose-4-fosfato.



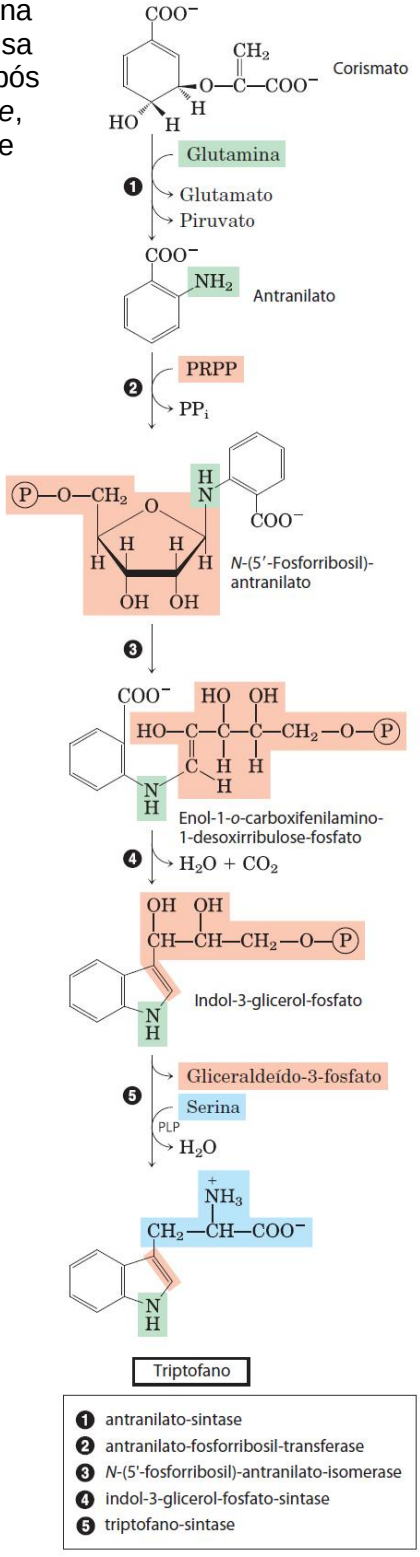
Via de biossíntese do Chiquimato e do Corismato, o último sendo o precursor do aminoácidos aromáticos.

O Corismato é o primeiro ponto da via que apresenta uma ramificação: uma via leva ao Triptofano, e outra leva à Tirosina e Fenilalanina.
Na produção de Triptofano, Corismato recebe um nitrogênio da glutamina no que se torna um anel indólico, formando antranilato. Este se condensa com PRPP (liberando PPi), formando N-(5`-Fosforribosil)-antranilato. Após a formação do anél indólico por mais duas enzimas, a *triptofano sintase*, uma complexa enzima com múltiplas subunidades catalisa reações que removem um gliceraldeído-3-fosfato do Indol-3-glicerol-fosfato e condensam uma Serina, formando o Triptofano.

Tirosina e Fenilalanina são sintetizadas por outro lado da via: Corismato torna-se Prefenato pela *Corismato-mutase*.
Se houver uma desidrogenação (*prefenato-desidrogenase*), com auxílio de NAD^+, formar-se-á 4-Hidroxifenil-piruvato, que pela ação de uma aminotransferase obtém um grupo NH_3 do glutamato, formando Tirosina.
Se houver desidratação (*prefenato-desidratase*), obtem-se do Prefenato um Fenilpiruvato. Novamente, por uma aminotransferase, se obtém um grupo NH_3 de uma molécula de glutamato, formando Fenilalanina.



Via de Biossíntese de Tirosina e Fenilalanina a partir do precursor Corismato.



Via de Biossíntese de Triptofano a partir do precursor Corismato.

e. Originários de Ribose-5-Fosfato
   i. Histidina

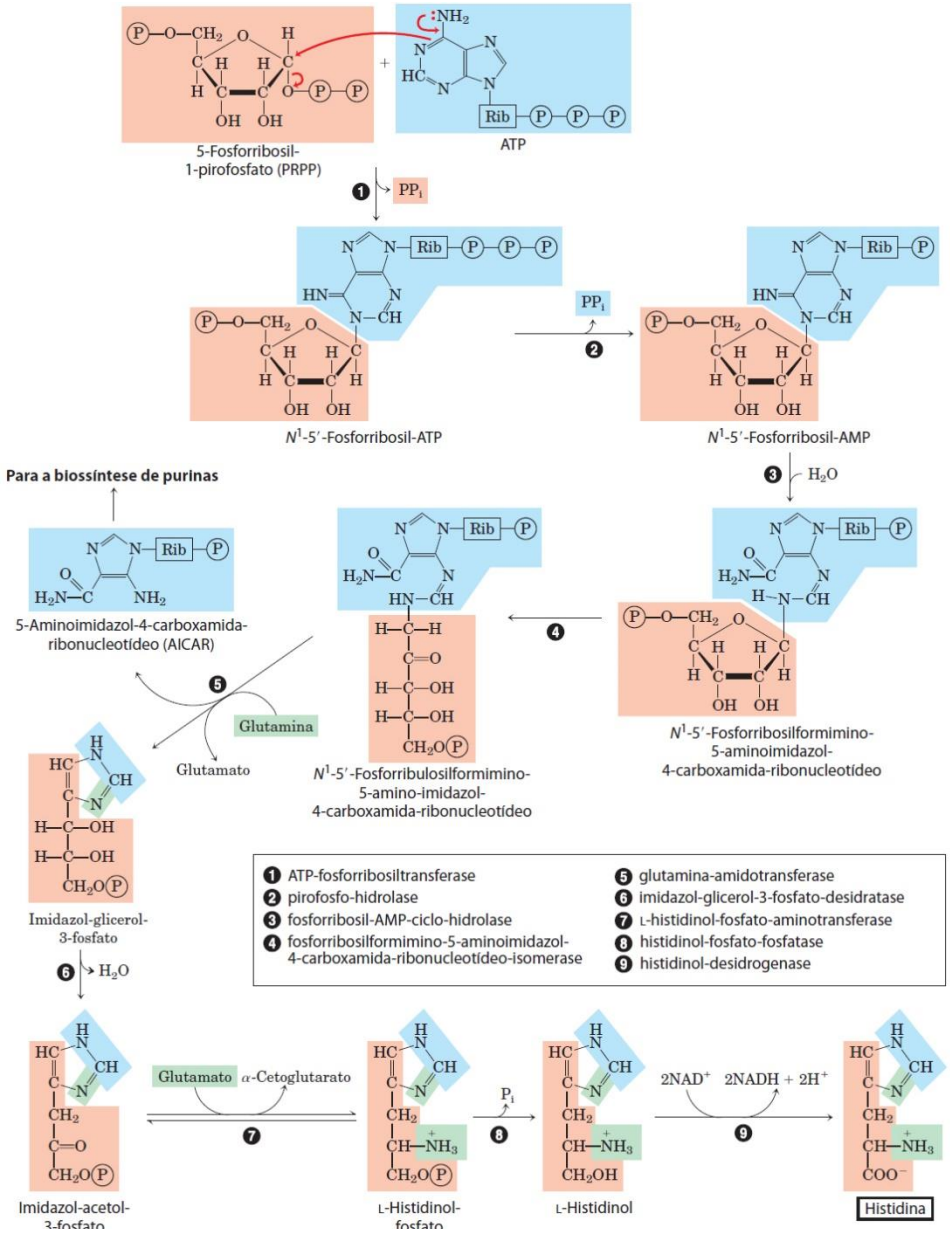
A histidina, sintetizada por plantas e bactérias, tem via de biossíntese muito distinta dos demais aminoácidos.
Ela tem três precursores:

1-Glutamina, que fornece um nitrogênio para o imidazol, e posteriormente como Glutamato fornece um outro nitrogênio para a cadeia principal.

2-PRPP, que fornece 5 carbonos.

3-ATP, que fornece 1 carbono e 1 nitrogênio para o imidazol.

Primeiro ocorre condensação do PRPP e ATP, com N-1 do anel púrico ligando-se ao C-1 ativado da ribose do PRPP. Após esta etapa, abre-se o anel púrico, remanescendo o N-1 e o C-2 ligados à ribose. Numa última etapa, o anel imidazol ocorre pela doação de um nitrogênio da glutamina. Vale ressaltar que é incomum o ATP participar como metabólito e não como cofator energético, no entanto a estrutura que remanesce do ATP é utilizada na síntese de bases purínicas, podendo ser reciclado à ATP ou outras bases.



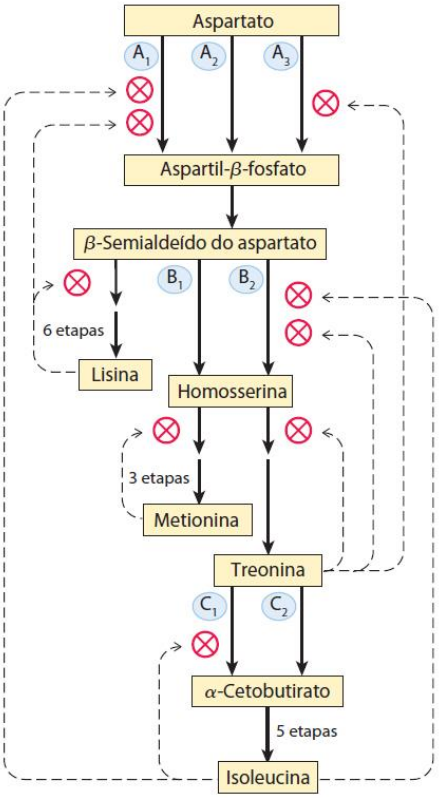
Biossíntese da Histidina a partir de seus três precursores, PRPP, ATP e Glutamina.

Exercícios do Módulo 22

1. Quanto mais derivado um organismo, mais aminoácidos essenciais (obrigatórios de serem obtidos da dieta) ele apresenta. Pergunta-se:
   - **a.** À que se deve a perda de capacidade de sintetizar aminoácidos?
   - **b.** Como se explica que até hoje plantas e bactérias sejam capazes de sintetizar todos os aminoácidos, enquanto que animais têm que obter muitos da dieta? Qual a explicação evolutiva para isto?

2. Suponha que um ser humano passou por terapia gênica avançada de CRISPR/CAS9 para obter em seu genoma todas as enzimas de produção de aminoácidos e todas as centenas de proteínas intermediárias reguladoras, funcionando tão eficazmente quanto uma planta ou bactéria neste sentido. Este indivíduo pode alimentar-se exclusivamente das seguintes substâncias, conseguindo fabricar todos seus aminoácidos? Explique:
   - **a.** Lipídeos
   - **b.** Glicose
   - **c.** Corpos Cetônicos

3. O controle da produção de aminoácidos é muito estrito e regulado com diversos ciclos de retroalimentação negativa. Veja este exemplo:



Pergunta-se:

a. Qual a necessidade da redundância nas enzimas A1, A2 e A3? Explique com exemplos do que aconteceria com a via em determinadas concentrações de certos aminoácidos se houvesse apenas uma enzima genérica "A".
b. Como se dá a regulação negativa nestas enzimas? Qual é o tipo mais comum de inibição que estes aminoácidos impõem nas enzimas, inibição de expressão gênica, inibição competitiva ou inibição alostérica?
c. Considerando o tipo de regulação imposta, qual o intervalo de tempo médio para que uma alta concentração de um aminoácido tenha efeito em diminuir a ação das enzimas de sua rota biossintética? Justifique.
d. Visto que os níveis de aminoácidos apenas sobem quantitativamente de modo significativo após uma refeição, e fazem-se de modo gradual de acordo com a absorção no trato digestório, o tipo de inibição é apropriado para responder à velocidade de flutuação dos níveis de aminoácidos? Justifique.

4. O que são Porfirias, e qual a relação destas doenças com a via biossintética dos aminoácidos? Dica: você pode encontrar bons artigos (Papers) e reviews pesquisando no Google Scholar / NCBI / PubMed.
   a. Quais os sintomas comuns das porfirias?
   b. Pesquise a diferença entre porfirias hepáticas agudas e a porfiria hepática crônica.
   c. Quais são as possíveis causas das porfirias?

5. Algumas espécies de bactérias mutantes foram desenvolvidas sem as enzimas para sintetizar determinados aminoácidos. Se estes aminoácidos não forem fornecidos na dieta, além de proteínas, quais outros compostos estas espécies não conseguiriam sintetizar?
   a. Espécie auxotrófica para Aspartato
   b. Espécie auxotrófica para Glicina
   c. Espécie auxotrófica para Glutamina

Nutrientes são os constituintes dos alimentos necessários para sustentar as funções normais do organismo. Toda a energia é fornecida por três classes de nutrientes: gorduras (lipídios), carboidratos, proteínas. A ingestão dessas moléculas ricas em energia é maior que a ingestão dos demais nutrientes da dieta. Assim sendo, eles são chamados de macronutrientes. O aporte dietético recomendado é a ingestão média de nutrientes energéticos prevista para manter um balanço energético (isto é, quando as calorias consumidas são iguais à energia gasta) em um adulto sadio, em determinados gênero, idade e altura, e cujo peso e nível de atividade física são consistentes com uma boa saúde. Diferenças na genética, no metabolismo e no comportamento dos indivíduos tornam difícil predizer com precisão as necessidades calóricas de um indivíduo. Entretanto, algumas aproximações simples podem nos dar estimativas úteis: por exemplo, adultos sedentários requerem cerca de 30 kcal/kg/dia para manter seu peso corporal; adultos moderadamente ativos necessitam 35 kcal/kg/dia; e adultos muito ativos requerem 40 kcal/kg/dia. (Nota: A média das necessidades diárias de energia, utilizada em etiquetas de alimentos, é 2.000 kcal/dia.) O conteúdo energético dos alimentos é calculado pelo calor liberado pela combustão total do alimento em um calorímetro. Ele é expresso em quilocalorias (kcal ou Cal). Carboidratos e proteínas apresentam 4 kcal/g, já as gorduras 9 kcal/g. Observe que o conteúdo de energia para a gordura é mais que o dobro daquele para os carboidratos ou proteínas, enquanto o conteúdo de energia do etanol é intermediário entre gorduras e carboidratos. (Nota: O Joule é uma unidade de energia amplamente utilizada em vários países. Para uniformidade, muitos cientistas estão promovendo o uso de Joules [J]. em vez de calorias [1 cal = 4,128 J]. Entretanto, kcal ainda predomina e é utilizada neste texto.)

A energia gerada pelo metabolismo dos macronutrientes é utilizada para três processos dependentes de energia que ocorrem no organismo: taxa metabólica de repouso, efeito térmico do alimento e atividade física, os quais compõem o gasto energético total regulando o balanço energético corporal que é a relação entre as ingeridas e gastas, como ilustrado na figura abaixo.

Taxa metabólica de repouso

A energia gasta por um indivíduo em repouso, em um estado pós-absortivo, é chamada de taxa metabólica de repouso (TMR; anteriormente, taxa metabólica basal). Ela representa a energia necessária para manter as funções normais do organismo, como respiração, fluxo sanguíneo, transporte iônico e manutenção da integridade celular. Em um adulto, a TMR é cerca de 1.800 kcal para homens (70 kg) e 1.300 kcal para mulheres (50 kg). Cerca de 50 a 70% do gasto energético diário em indivíduos sedentários são atribuídos à TMR.

Efeito térmico do alimento

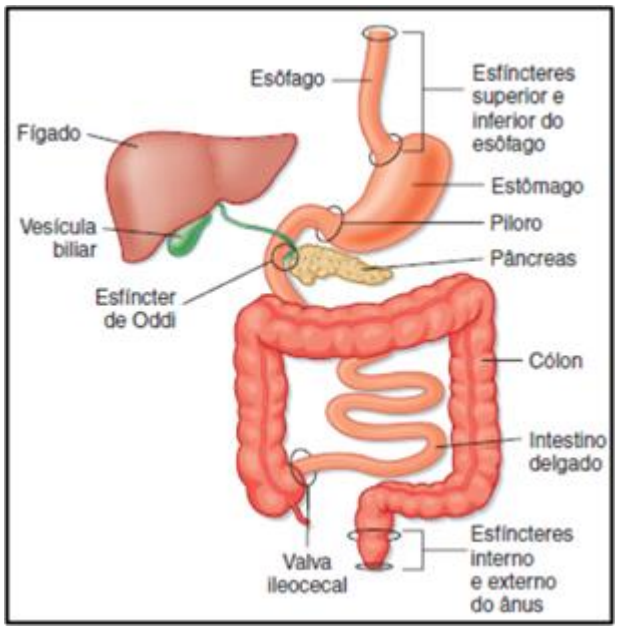
A produção de calor pelo corpo aumenta até 30% acima do nível de repouso durante a digestão e a absorção dos alimentos. Esse efeito é chamado de efeito térmico do alimento ou termogênese induzida pela dieta. Em um período de 24 horas, a resposta térmica à ingestão de alimentos pode perfazer 5 a 10% da energia total consumida.

Atividade física

A atividade muscular fornece a maior variação no gasto energético. A quantidade de energia consumida depende da duração e da intensidade do exercício. O gasto diário de energia pode ser estimado, registrando-se cuidadosamente o tipo e a duração de todas as atividades. Geralmente, uma pessoa sedentária requer de 30 a 50% acima das necessidades calóricas no repouso para um balanço energético (veja a Figura 27.6), enquanto um indivíduo muito ativo pode necessitar 100% ou mais calorias acima da TMR.

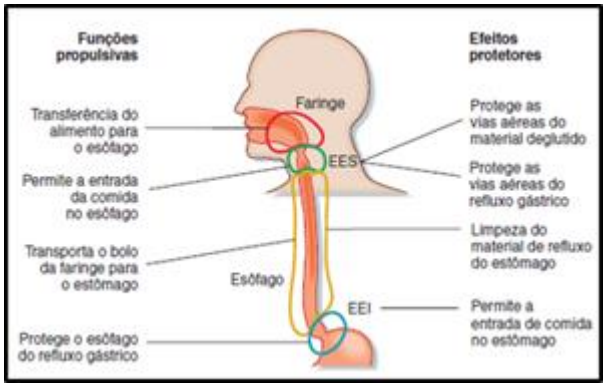
Os alimentos ingeridos devem percorrer o trato digestivo para serem digeridos e liberar nutrientes numa forma disponível para a sua absorção e para a circulação, onde serão distribuídos aos diferentes órgãos, tecidos e células. O percurso direcionado dos alimentos é regulado pelo sistema nervoso, com controle hormonal, que harmoniza a sequência de movimentos. Assim, o bolo alimentar misturado com a saliva entra no trato digestório e vai progredindo no sentido orocaudal. Ao longo desse percurso, secreções digestivas, ajudadas pelas contrações, vão modificando os alimentos, tanto mecânica quanto quimicamente, até partículas pequenas e moléculas que agora conseguem transpor as membranas que as separam da circulação. Esse processo não é apenas uma filtração, mas são envolvidos processos, às vezes, passivos e, em outros casos, ativos. O sistema nervo central e em especial, o sistema nervoso autônomo, juntamente com o sistema endócrino, são os reguladores de todo o conjunto. Também não é um comportamento rígido e sempre igual, mas diversos fatores o modificam. Esses dependem da qualidade dos alimentos, de situações locais, das estruturas da mucosa, do estado de desnutrição, de distúrbios digestivos, da idade e da competição entre os nutrientes. Os alimentos ingeridos alcançam o estômago pela cavidade oral. O trato gastrointestinal

(GI) consiste em trato alimentar que se estende da boca até o ânus e de órgãos glandulares acessórios que lançam seu conteúdo na luz desse trato. A função geral do trato GI é a de absorver nutrientes e água, que passam para a circulação, e eliminar produtos residuais. Os principais processos fisiológicos, que ocorrem no trato GI são a **motilidade,** a **secreção,** a **digestão** e a **absorção.** estrutura do trato GI varia muito de uma região para outra, mas existem características comuns na organização geral do tecido. Na verdade, o trato GI é um **tubo oco,** dividido em alguns segmentos funcionais principais. As estruturas mais importantes desse tubo são: **boca** e **faringe, esôfago, estômago, duodeno, jejuno, íleo, cólon, reto** e **ânus**. As principais estruturas encontradas ao longo do trato GI desempenham várias funções, e uma função que se destaca pela relevância é a de armazenamento. O estômago e o cólon são importantes órgãos de armazenamento para o alimento processado (às vezes, denominado quimo) e exibem especializações, relativas à anatomia funcional (p. ex., forma e tamanho) e aos mecanismos de controle (características do músculo liso, que permitem a produção de contrações tônicas) que os capacitam a realizar essa função, de modo eficiente. As funções predominantes do intestino delgado são a digestão e a absorção, e a principal especialização dessa região do trato GI é a grande área na qual ocorre a absorção. O cólon reabsorve água e íons garantindo que não sejam eliminados do corpo. O alimento ingerido avança pelo trato GI pela ação dos músculos de sua parede, separando as regiões do trato GI, existem também estruturas musculares especializadas, denominadas **esfíncteres.** Estes isolam uma região da seguinte possibilitam a retenção seletiva do conteúdo do lúmen, ou impedem seu refluxo, ou ambos. Uma ilustração geral do trato gastrointestinal está demonstrada abaixo.



Mesmo antes de o alimento ser ingerido, ocorrem mudanças da fisiologia do trato GI e nessa fase, chamada cefálica, assim como na fase oral (quando o alimento ingerido está na boca), as respostas do trato GI para a presença de alimento são principalmente associadas ao preparo do trato GI para a digestão e absorção. Também discutiremos o transporte do sangue da boca para o esôfago, a fase

esofágica da refeição. A principal característica da **fase cefálica** é a ativação do trato GI em prontidão para a refeição. Os estímulos envolvidos são cognitivos e incluem a antecipação e o pensamento sobre o consumo da comida, o estímulo olfatório, o estímulo visual (ver e cheirar uma comida apetitosa, quando se está com fome) e estímulos auditivos. Muitas das características da **fase oral** são distinguíveis da fase cefálica. A única diferença é que a comida está em contato com a superfície do trato GI. Assim, existem estímulos adicionais gerados da boca, ambos mecânicos e químicos **(sabor).** Entretanto, muitas das respostas, que são iniciadas pela presença da comida na cavidade oral, são idênticas às iniciadas na fase cefálica porque a via eferente é a mesma. O **esôfago,** o **esfíncter esofágico superior** (EES) e o **esfíncter esofágico inferior** (EEI) executam duas funções principais (ilustradas na figura abaixo). Primeira, impulsionam o alimento da boca para o estômago. Segunda, os esfíncteres protegem as vias aéreas, durante a deglutição, e protegem o esôfago das secreções gástricas ácidas.



O intestino delgado é a parte crítica do trato intestinal para absorção de nutrientes. Nesse local, o alimento é misturado a diversas secreções que permitem sua digestão e absorção, e as funções de motilidade servem para garantir a mistura adequada e a exposição do conteúdo intestinal **(quimo)** à superfície de absorção. O intestino delgado tem muitas especializações que permitem o desenvolvimento eficiente de suas funções. Uma das especializações mais óbvias é a área substancial da superfície da mucosa. Isso é produzido por diversas maneiras: o intestino delgado é, essencialmente, um longo tubo que fica enrolado na cavidade abdominal; existem pregas ao longo de toda a mucosa e submucosa, e a mucosa tem projeções semelhantes a dedos, chamadas vilosidades por fim, cada célula epitelial tem microvilosidades, em sua superfície apical. Assim, existe grande área de superfície, ao longo da qual ocorrem digestão e absorção.

A principal característica da fase do intestino delgado de resposta à refeição é a liberação controlada do quimo pelo estômago, a fim de atender as capacidades digestiva e absortiva do intestino. Além disso, existem estimulação adicional das secreções pancreática e biliar e a liberação dessas secreções no intestino delgado. Por conseguinte, a função dessa região é bastante regulada por mecanismos de *feedback* negativo, que envolvem vias hormonais, parácrinas e neurais.

Os **carboidratos** da dieta são compostos por várias classes moleculares diferentes. O amido, o primeiro deles, é a mistura de polímeros de glicose, lineares e ramificados. Os polímeros de cadeias retas são chamados **amilose**, e as moléculas de cadeia ramificada são chamadas de **amilopectina** O amido é fonte particularmente importante de calorias, em especial nos países em desenvolvimento, e é encontrado, predominantemente, em cereais. Os dissacarídeos são a segunda classe de carboidratos, e incluem a **sacarose** (consistindo em glicose e frutose) e a **lactose** (consistindo em glicose e galactose), e que é importante fonte calórica para as crianças. Todavia é princípio-chave que o intestino só pode absorver monossacarídeos e não carboidratos grandes. Por fim, muitos itens alimentares de origem vegetal contêm fibras dietéticas, que consistem em polímeros de carboidratos que não podem ser digeridos pelas enzimas humanas. Esses polímeros são digeridos por bactérias presentes no lúmen colônico permitindo, dessa forma, recuperar os valores calóricos.

Os dissacarídeos da dieta são hidrolisados em outros componentes monoméricos, diretamente na superfície das células epiteliais do intestino delgado, no processo conhecido como digestão das bordas em escova e mediado por família de enzimas hidrolíticas, muito glicosiladas ligadas à membrana e que são sintetizadas pelas células epiteliais do intestino delgado. As hidrolases, existentes nas bordas em escova, fundamentais para a digestão dos carboidratos da dieta, incluem a **sacarase,** a **isomaltase,** a **glucoamilase** e a **lactase**

As **proteínas** também são polímeros solúveis em água, que têm que ser digeridas em constituintes menores, antes que seja possível sua absorção. Sua absorção é mais complicada do que a dos carboidratos, porque contém 20 aminoácidos diferentes e pequenos oligômeros desses aminoácidos (dipeptídeos, tripeptídeos e até tetrapeptídeos), que também podem ser transportados pelos enterócitos. O corpo, em particular o fígado, tem capacidade substancial de interconverter vários aminoácidos, sujeitos às necessidades do corpo. Entretanto, alguns aminoácidos, denominados **aminoácidos essenciais,** não podem ser sintetizados pelo corpo nem *de novo* ou de outro aminoácido e, então, têm que ser obtidos da dieta. As proteínas podem ser hidrolisadas em longos peptídeos simplesmente pelo pH ácido que existe no lúmen gástrico. Entretanto, para a absorção de proteínas para o corpo, três fases da digestão, mediadas enzimaticamente, são necessárias. Assim como a hidrólise ácida, a primeira destas fases ocorre no lúmen gástrico e é mediada pela pepsina, o produto das Células Principais, localizadas nas glândulas gástricas. Quando a secreção de gastrina é ativada por sinais coincidentes com a ingestão de uma refeição, a pepsina é liberada das células principais, assim como o precursor inativo, o pepsinogênio. No pH ácido, este precursor é autocataliticamente clivado para originar a enzima ativa. A pepsina é muito especializada para agir no estômago, onde é ativada, em vez de inibida, pelo baixo pH. A enzima quebra as proteínas em sítios de aminoácidos neutros, com preferência por cadeias aromáticas ou por grandes cadeias alifáticas. Como esses aminoácidos só ocorrem com frequência relativamente baixa em determinada proteína, a pepsina não é capaz de digerir completamente uma proteína até uma forma que possa ser absorvida pelo intestino, mas, em vez disso, produz uma mistura de proteínas intactas, grandes peptídeos (a

maioria) e número limitado de aminoácidos livres. O corpo também é dotado de uma série de transportadores de membrana, capazes de promover a captação de produtos da digestão proteica que são solúveis em água. Devido ao grande número de aminoácidos, existe um número relativamente grande de transportadores específicos. Em geral, os transportadores de aminoácidos têm especificidade razoavelmente ampla e, em geral, transportam um subgrupo de aminoácidos possíveis (p. ex., neutros, aniônico ou catiônico), mas com alguma sobreposição de sua afinidade para aminoácidos particulares. Além disso, alguns transportadores de aminoácidos (mas não todos) são simportadores de seus substratos aminoácidos em conjunto de íons Na^+.

Os **lipídios** são a terceira classe principal de macronutrientes da dieta humana. Lipídios são uma grande classe de compostos orgânicos naturais hidrofóbicos ou anfipáticos, que em água agrupam-se, formando micelas, lipossomas ou camadas lipídicas. Podem ser lineares, curvos ou cíclicos. Quando uma refeição gordurosa é ingerida, os lipídios se liquefazem na temperatura corporal e flutuam na superfície do conteúdo gástrico. Isso poderia limitar a área de superfície entre as fases aquosa e lipídica do conteúdo gástrico e restringir o acesso de enzimas capazes de quebrar os lipídios para formar os que poderiam ser absorvidos, pois as enzimas lipolíticas, como as proteínas, ficam na fase aquosa. Por esse motivo, o estágio inicial na absorção dos lipídios é sua emulsificação. A mistura ocorrida no estômago faz com que os lipídios da dieta fiquem na forma de pequenas esferas em suspensão, que aumenta em muito a área da superfície da fase lipídica. A absorção dos lipídios também é facilitada pela formação de solução de micelas, com ajuda dos ácidos biliares, existentes nas secreções biliares. Detalhes desse processo serão discutidos adiante. Acredita-se que os produtos da digestão da gordura sejam capazes de atravessar facilmente as membranas celulares devido à sua lipofilicidade. Entretanto, evidências recentes sugerem que sua absorção pode ser, alternativa ou adicionalmente, regulada pela atividade de transportadores de membrana específicos. Uma proteína ligante de ácidos graxos na membrana das microvilosidades (MVM-FABP) parece ser responsável pela absorção de ácidos graxos de cadeia longa através das células de borda em escova. De igual modo, o Niemann Pick C1 tipo 1 (NPC1L1) foi, recentemente, identificado como via de absorção do colesterol e pode ser alvo terapêutico em pacientes que apresentam aumento patológico dos níveis de colesterol circulante (hipercolesterolemia). Os lipídios também podem diferir dos carboidratos e das proteínas, em termos de seu destino, após a absorção pelos enterócitos. Ao contrário dos monossacarídeos e aminoácidos, que deixam os enterócitos na forma molecular e entram na circulação porta, os produtos da lipólise são reesterificados, nos enterócitos, para formar triglicerídeos, fosfolipídios e ésteres de colesterol. Esses eventos metabólicos ocorrem no retículo endoplasmático liso. Ao mesmo tempo, os enterócitos sintetizam série de proteínas, conhecidas como apolipoproteínas, no retículo endoplasmático rugoso. Essas proteínas são combinadas com os lipídios ressintetizados, para formar estrutura conhecida como **quilomícron,** que consiste em núcleo lipídico (predominantemente triglicerídeo, com muito menos colesterol, fosfolipídio e ésteres de vitaminas lipossolúveis) recoberto por apolipoproteínas. Os quilomícrons são exportados dos enterócitos por

processo de exocitose. Entretanto, ao chegar na lâmina própria, eles são muito grandes (cerca de 750 a 5.000 Å de diâmetro) para permear pelos espaços intercelulares dos capilares da mucosa. Em vez disso, eles são absorvidos por linfáticos da lâmina própria e passam ao longo da circulação porta e do fígado. Por fim, os quilomícrons na linfa entram na corrente sanguínea pelo ducto torácico e servem como veículo para transportar lipídios pelo corpo, para uso pelas células em outros órgãos. A única exceção para esse transporte, mediado pelos quilomícrons, são os ácidos graxos de cadeia média. Esses ácidos são relativamente solúveis em água e podem permear as junções fechadas dos enterócitos, o que significa que se desviam dos eventos de processamento intracelular descritos acima e não são incluídos nos quilomícrons. Por esse motivo, entram na circulação porta e ficam mais facilmente disponíveis para outros tecidos. Dieta rica em triglicerídeos de cadeia média pode ser de particular benefício em pacientes com reservatório inadequado de ácidos biliares. Esses ácidos são relativamente solúveis em água e podem permear as junções fechadas dos enterócitos, o que significa que se desviam dos eventos de processamento intracelular descritos acima e não são incluídos nos quilomícrons. Por esse motivo, entram na circulação porta e ficam mais facilmente disponíveis para outros tecidos. Dieta rica em triglicerídeos de cadeia média pode ser de particular benefício em pacientes com reservatório inadequado de ácidos biliares.

Exercícios do Módulo 23

1 Descreva os principais macronutrientes existentes, desenhe a estrutura de pelo menos dois desses e por último diga a quantidade de energia em kcal/g disponível em cada macronutriente.

2 Quais os componentes que fazem parte do gasto energético total? Conceitue cada um. Supondo que um indivíduo a longo prazo se encontra num balanço energético positivo. O que irá acontecer com o seu peso corporal e por que?

3 Qual o principal órgão responsável pela produção da bile? Onde ela fica armazenada?

E qual sua função durante a digestão dos lipídeos?

4 Descreva as enzimas/proteínas envolvidas na digestão e absorção dos carboidratos oriundos de uma refeição.

5 O que é borda em escova?

6 O que são aminoácidos essenciais? Descreva seus nomes.

7 Qual a importância da emulsificação e da solubilização dos lipídios para o seu processo de absorção?

8 Descreva passo a passo os processos envolvidos durante a digestão e absorção das proteínas.

Referências

Berne & Levy: Fisiologia / editores Bruce M. Koeppen, Bruce A. Stanton; [tradução Adriana Pitella Sudré...[et al.]. – 6 Ed - Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

Ciências Nutricionais / editores J.E Dutra-de-Oliveira, J. Sérgio Marchini. São Paulo: SARVIER, 1998.

Bioquímica / Pamela C. Champe, Richard A. Harvey, Denise R. Ferrier; tradução Carla Dalmaz... [et al]. – 3. Ed. – Porto Alegre: Artmed, 2006.

MÓDULO 24: METABOLISMO MUSCULAR

Metabolismo muscular

Texto extraído de "Bioquímica Médica Básica de Marks" (2º edição; Colleen Smith, Allan D. Marks, Michael Lieberman; Artmed 2007; ISBN 0-7817-2145-8)

"Existem três tipos de células musculares: lisa, esquelética e cardíaca.

Em todos os tipos de músculo, a contração ocorre pelo sistema de filamentos de actina/miosina deslizantes, que é regulado pelas oscilações nos níveis intracelulares de cálcio.

As células musculares utilizam o glicogênio armazenado e glicose, ácidos graxos e aminoácidos circulantes como fontes de energia. A glicólise muscular é regulada diferentemente da glicólise hepática, sendo que a principal diferença é a regulação da fosfofrutoquinase-2 (PFK-2, do inglês phosphofructokinase-2).

Embora as células musculares não sintetizem ácidos graxos, elas possuem uma isoenzima da acetil-CoA-carboxilase (a ACC-2) para regular a velocidade de oxidação de ácidos graxos. A ACC-2 produz malonil-CoA, que inibe a palmitoil-carnitina-transferase I, bloqueando, assim, a entrada de ácidos graxos para o interior da mitocôndria. O músculo também contém malonil-CoA-descarboxilase, que catalisa a conversão de malonil-CoA em acetil-CoA e dióxido de carbono. Assim, tanto a síntese quanto a degradação de malonil-CoA são cuidadosamente reguladas nas células musculares para equilibrar a oxidação de glicose e ácidos graxos. Mecanismos de regulação alostéricos e covalentes são empregados. O citrato ativa a ACC-2 e a fosforilação da ACC-2 pela proteína-quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMP-ativada) inibe a atividade da ACC-2. A fosforilação da malonil-CoA-descarboxilase pela proteína-quinase AMP-ativada ativa a enzima, aumentando ainda mais a oxidação de ácidos graxos quando os níveis energéticos estão baixos.

O músculo utiliza fosfato de creatina para armazenar ligações de alta energia. A creatina é derivada de arginina e glicina no rim, e o guanidinoacetato formado é metilado (usando S-adenosilmetionina) no fígado para formar creatina.

A enzima creatina-fosfoquinase (CPK, do inglês creatine phosphokinase) catalisa, então, a transferência reversível de um fosfato de alta energia de adenosina-trifosfato (ATP) para a creatina, formando creatina-fosfato e difosfato de adenosina (ADP). O fosfato de creatina é instável e cicliza espontaneamente para formar creatinina, que é excretada na urina. A produção espontânea de creatinina ocorre a uma taxa constante e é proporcional à massa muscular corporal. Assim, a quantidade de creatinina excretada por dia (a taxa de depuração de creatinina) é constante e pode ser usada como um indicador de normalidade da função excretora dos rins. As células musculares esqueléticas podem ser divididas em fibras do tipo I e do tipo II. As do tipo I são fibras de contração lenta que utilizam principalmente o metabolismo oxidativo para obter energia, enquanto as fibras do tipo II (de contração rápida) usam a glicólise como a principal rota geradora de energia.

O transporte de glicose para o interior das células musculares pode ser estimulado durante o exercício devido à atividade da proteína-quinase AMP-ativada. A captação de ácidos graxos pelo músculo em exercício é dependente dos níveis circulantes de ácidos graxos, os quais são aumentados pela liberação de adrenalina.

Utilização de Substrato Energético no Repouso:

A utilização de substrato energético pelo músculo em repouso depende dos níveis séricos de glicose, aminoácidos e ácidos graxos. Se a glicose e os aminoácidos sanguíneos estão elevados, a glicose será convertida em glicogênio, e o metabolismo dos aminoácidos de cadeia ramificada estará alto. Os ácidos graxos serão utilizados para a produção de acetil-CoA e irão satisfazer as necessidades energéticas do músculo sob essas condições. Existe um balanço entre a oxidação de glicose e a de ácidos graxos que é regulado por citrato. Quando a célula muscular tem quantidades adequadas de energia, o citrato deixa a mitocôndria e ativa a ACC-2, que produz malonil-CoA. A malonil-CoA inibe

a carnitina-palmitoiltransferase I, reduzindo, assim, a oxidação de ácidos graxos pelo músculo. A malonil-CoA-descarboxilase também está inativa, pois a AMP-PK não é ativa no estado alimentado. Assim, o músculo regula a oxidação de glicose e de ácidos graxos, em parte, pelo monitoramento dos níveis de citrato citoplasmático.

Utilização de Substrato Energético Durante o Jejum:

Com a queda dos níveis de glicose sanguínea, os níveis de insulina diminuem. Isso reduz os níveis de transportadores GLUT4 na membrana do músculo, e a utilização de glicose pelo músculo diminui de forma significativa. Isso poupa glicose para ser utilizada pelo sistema nervoso e pelas células vermelhas do sangue. No músculo cardíaco, a PFK-2 é fosforilada e ativada pela insulina. Da mesma forma, a falta de insulina resulta em utilização reduzida de glicose por essas células. A piruvato-desidrogenase é inibida por altos níveis de acetil-CoA e NADH produzidos pela oxidação de ácidos graxos. Os ácidos graxos se tornam o substrato energético preferencial do músculo sob condições de jejum. A AMP-PK está ativa devido ao fato de os níveis de ATP estarem abaixo do normal, a ACC-2 estar inibida e a malonil-CoA-descarboxilase estar ativada,

Utilização de Substrato Energético Durante o Exercício:

A velocidade de utilização de ATP no músculo esquelético durante o exercício pode ser até 100 vezes maior do que aquela em repouso. Assim, as rotas de oxidação de substratos energéticos devem ser rapidamente ativadas durante o exercício para responder a uma demanda muito maior de ATP. O ATP e o fosfato de creatina podem ser esgotados rapidamente se não forem continuamente regenerados. A síntese de ATP ocorre pela glicólise (aeróbica ou anaeróbica) e pela fosforilação oxidativa (que requer o suprimento constante de oxigênio). A glicólise anaeróbica é especialmente importante como fonte de ATP em três condições. A primeira é durante o período inicial do exercício, antes do aumento do fluxo sanguíneo estimulado pelo exercício e do começo da oferta de substratos e oxigênio, permitindo que o processo aeróbico ocorra. A segunda condição na qual a glicólise anaeróbica é importante é no exercício realizado por músculos contendo predominantemente fibras musculares glicolíticas de contração rápida, pois essas fibras possuem baixa capacidade oxidativa e geram a maioria do seu ATP pela glicólise. A terceira condição é durante a atividade extenuante, quando a necessidade de ATP excede a capacidade oxidativa do tecido e a demanda aumentada de ATP é satisfeita pela glicólise anaeróbica.

GLICÓLISE ANAERÓBICA NO INÍCIO DO EXERCÍCIO

Durante o repouso, a maioria do ATP requerido por todos os tipos de fibras musculares é obtida do metabolismo aeróbico. Entretanto, assim que o exercício começa, a demanda de ATP aumenta. Se não fosse regenerada, a quantidade de ATP presente no músculo esquelético poderia sustentar o exercício por apenas 1,2 segundo, e a de fosfocreatina, por apenas 9 segundos. O suprimento de sangue para o músculo em exercício demora mais de 1 minuto para aumentar de forma significativa devido à vasodilatação, e, portanto, o metabolismo oxidativo da glicose e de ácidos graxos vindos do sangue não pode aumentar rapidamente no início do exercício. Assim, nos primeiros minutos do exercício, a conversão de glicogênio em lactato fornece uma porção considerável do requerimento de ATP.

GLICÓLISE ANAERÓBICA NA FIBRA GLICOLÍTICA DE CONTRAÇÃO RÁPIDA TIPO IIB

Embora os seres humanos não possuam nenhum músculo que contenha apenas esse tipo de fibra muscular, muitos animais o possuem. Exemplos disso são os músculos abdominais do peixe e o músculo peitoral de aves de caça (carne branca de peru). Esses músculos se contraem de forma vigorosa e rápida (a contração rápida se refere ao tempo de pico de tensão), mas apenas por períodos curtos. Assim, eles são usados em atividades como o voo nos pássaros e o *sprinting* e levantamento de peso em seres humanos. Em tais músculos, a capacidade glicolítica é alta, pois as enzimas da glicólise estão presentes em grandes quantidades (assim, a Vmáx [velocidade máxima] global é grande). Os níveis de hexoquinase, entretanto, são baixos, e, assim, pouca glicose circulante é utilizada. Os níveis baixos de hexoquinase nas fibras glicolíticas de contração rápida previnem que o

músculo drene a glicose sanguínea para satisfazer sua alta demanda por ATP, evitando, assim, a hipoglicemia. A glicose-6-fosfato, formada a partir da glicogenólise, inibe ainda mais a hexoquinase. Os tecidos contam com os estoques de substratos energéticos endógenos (glicogênio e fosfato de creatina) para gerar ATP, seguindo a rota da degradação do glicogênio a glicose-1-fosfato, a conversão da glicose-1-fosfato em glicose-6-fosfato e o metabolismo da glicose-6-fosfato a lactato. Assim, a glicólise anaeróbica é a principal fonte de ATP durante o exercício nessas fibras musculares."

Exercícios do Módulo 24

1. Esquematize o sarcômero (unidade de contração da fibra muscular).

2. Descreva sucintamente o mecanismo de contração muscular.

3. Como o Ca^{2+} promove ao mesmo tempo a contração e degradação de glicogênio no músculo? Qual a relevância deste processo para o metabolismo muscular

4. Fosfocreatina:

a. O que é a fosfocreatina e qual a importância desta molécula na contração muscular?

b. Esta figura abaixo é do Lehninger 6ª edição (versão traduzida para o português). Indique o que há de incorreto nesta figura e refaça o esquema.

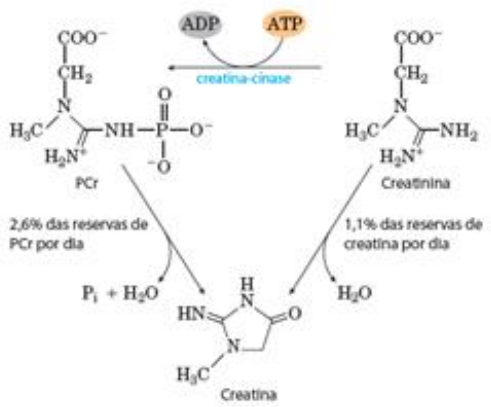


FIGURA Q-2 A formação espontânea (não enzimática) de creatinina a partir da fosfocreatina ou da creatina consome uma porcentagem baixa do total da creatina por dia, o que deve ser reposto pela biossíntese ou pela dieta.

c. Qual tipo de alteração na fisiologia muscular poderia ocorrer se um indivíduo tivesse uma mutação no sítio ativo da fosfocreatina quinase que resultasse em atividade diminuída da enzima?

5. Qual é a origem (sistêmica e local) dos ácidos graxos que são oxidados pelo músculo em exercícios de longa duração?

6. Justifique por que a atividade física é indicada para portadores de diabetes do tipo II? O que ocorre com a AMPK no exercício e por que esta quinase tem papel crucial na regulação do metabolismo do exercício.

7. Qual o principal substrato energético que participa no exercício aeróbico prolongado?

(a) Glicogênio hepático;

(b) Glicogênio muscular;

(c) Glicogênio cerebral;

(d) Triacilglicerol do tecido adiposo;

(e) Lactato produzido pelas células vermelhas do sangue

MÓDULO 25: CONTROLE METABÓLICO

1. A regulação metabólica é feita de interferência direta de determinadas reações químicas que compõem o metabolismo, aumentando ou reduzindo sua velocidade. O resultado direto deste processo é a maior oferta de substratos ou acúmulo de metabólitos que acabará por influenciar outras vidas dependentes destes compostos e a forma mais eficiente de regulação desta rede é aumentar a concentração ou alterar a eficiência da enzima.
2. Pode-se controlar a síntese ou degradação enzimática; também se pode modular a atividade enzimática através de mudanças conformacionais da própria enzima provocada através da ligação de compostos ou grupos na cadeia peptídica: regulação alostérica e regulação por modificação covalente. A concentração enzimática também pode variar conforme a oferta do substrato; alteração mediada através de hormônios.
3. Hormônios são sinais químicos que permitem a comunicação entre células. São sintetizados em células glandulares para atingir células alvo através da circulação sanguínea. As células alvo respondem a hormônios específicos por possuírem os respectivos receptores hormonais. A ligação do hormônio ao receptor segue uma reação de equilíbrio semelhante à interação enzima-substrato: $H + R \rightarrow [RH]$: a constante de dissociação de RH (K_D), correspondente à reação inversa é muito baixa - (10^{-12} a 10^{-9} M) - devido à alta afinidade entre hormônio e receptor.
4. Uma parte importante dos receptores hormonais são proteínas integrais de membrana, muitas da quais tem, atualmente, sua estrutura primária conhecida e sua estrutura tridimensional modelada, em consequência da clonagem e sequenciamento dos seus respectivos genes. Por exemplo, o receptor β-adrenérgico do hormônio adrenalina, encontrado em hepatócito e outros tipos celulares, possui um peso molecular de 64 kD, compreendendo uma única cadeia peptídica que, de maneira serpentiforme, atravessa a membrana 7 vezes, deixando do lado extracelular, a extremidade N-terminal e 3 alças, e do lado intracelular, outras 3 alças mais a extremidade C-terminal. A porção extracelular do receptor contém o sítio de ligação da adrenalina, enquanto a porção intracelular se associa a um trímero de proteínas conhecidas como proteína-G, por ter um sítio específico para ligação do nucleotídeo GTP. São hoje conhecidos mais de 1000 receptores, de múltiplos hormônios, com esta estrutura básica formando a superfamília chamada dos receptores associados a proteína-G. A função deste receptor é transduzir o sinal “adrenalina” de fora para dentro da célula, processo que é mediado pelas proteínas-G. Há também receptores presentes no citoplasma nuclear e citoplasmático e neste caso, o hormônio precisa ter alta solubilidade a lipídeos, atravessando a membrana plasmática como os hormônios esteroides para encontrar o seu receptor dentro da célula.
5. Os hormônios estão envolvidos no metabolismo em dois níveis: indução ou repressão gênica de determinadas enzimas ou através da modificação covalente: A fosforilação é mediada pelas proteínas quinases que transferem o grupo fosfato do ATP para resíduos específicos de serina, treonina e tirosina, formando uma ligação éster fosfórico ou a retirada do grupo fosfato é catalisada pela ação de fosfoproteínas fosfatases através da hidrólise.

6. A ligação de adrenalina ao receptor β-adrenérgico acoplado a proteína G ativa a enzima adenilato ciclase através da ativação da subunidade α (por ligação de GTP), presente na face interna da membrana citoplasmática, qual ativa a adenilato ciclase, catalisando a formação de cAMP a partir de ATP e desencadeando a transdução de sinal. A descoberta de cAMP, por Sutherland e colaboradores há cerca de 40 anos, levou à criação do conceito do segundo mensageiro da ação hormonal, sendo cAMP o primeiro a ser descrito, e permitiu dar início à progressiva compreensão dos mecanismos de ação do receptor de adrenalina. Devemos lembrar que os primeiros mensageiros químicos extracelulares são os hormônios. cAMP tem efeito transiente e é hidrolisada pela ação da fosfodiesterase. Na célula, o balanço entre as reações de síntese (a) e degradação (b) regula a concentração intracelular do cAMP.

   a) ATP + $H_2O \rightarrow$ cAMP + 2 P_i; catalisada pela adenilato ciclase

   b) cAMP + $H_2O \rightarrow$ AMP; catalisada pela fosfodiesterase.

7. A base da ação metabólica do cAMP é a ativação alostérica de uma quinase cujos substratos são proteínas, sendo conhecida como proteína quinase dependente de cAMP, ou simplesmente PKA (***P****rotein* ***K****inase dependent on c****A****MP*). A PKA, uma vez ativada, catalisa a fosforilação ativadora (modificação covalente) de uma cascata de proteínas quinases que terminam na fosforilação da fosforilase e da sintase do glicogênio, causando, respectivamente, a ativação e a inativação dessas enzimas. O resultado final dessa sequência de ativações enzimáticas, com alternância de regulação alostérica e modificação covalente, é a fosforólise do glicogênio liberando glicose-1P, comandada por sinais hormonais extracelulares.
8. Os efeitos de ativação ou não da via dependem do receptor ativado, no caso dos receptores α adrenérgicos, os efeitos de α1 são mediados através dos íons cálcio e a ativação de α2 leva a inibição da via de adenilato ciclase. Há casos onde a proteína G é do tipo G_s sendo ativadora de adenilato ciclase e do tipo G_R inibindo a adenilato ciclase. Algumas toxinas podem ativar ou bloquear a via de transdução de sinal: toxina da cólera e a toxina da coqueluche.
9. Dois hormônios são os principais responsáveis pelo equilíbrio da concentração da glicose circulante: glucagon e insulina.
10. O glucagon é um hormônio que tem efeitos equivalentes aos da adrenalina no controle do metabolismo do glicogênio: possui um receptor da família dos receptores acoplados a proteína-G e ativa a cascata que se inicia com cAMP/PKA. Este é liberado em condições de hipoglicemia ativando processos degradativos para manutenção da glicemia sanguínea. A PKA (proteína quinase ativada por cAMP) fosforila a *fosforilase quinase* tornando-a ativa. A *fosforilase quinase* fosforila agora *glicogênio fosforilase*. A *glicogênio fosforilase* ativada (quando fosforilada, glicogênio fosforilase b $\rightarrow$ a) catalisa a hidrólise de resíduos de glicose do glicogênio liberando grupos de glicose-1-fosfato. No mesmo tempo, a fosforilase quinase, ativada pela cascata do receptor de glucagon-proteína-G, cAMP/PKA, fosforila a glicogênio sintase, a qual se torna inativa quando fosforilada (síntase I $\rightarrow$ sintase D).

11. A insulina tem efeito oposto, promove a absorção de glicose pelo fígado e músculos e usa deposição nas reservas de glicogênio. Mas é importante notar que a insulina tem mecanismos de ação totalmente diferentes da adrenalina e do glucagon. Os receptores de insulina não pertencem à família dos receptores acoplados a proteína-G e não têm ação sobre a adenilato ciclase. Seus receptores são do grupo de receptores cujo domínio intracelular apresenta atividade intrínseca de proteína-quinase de tirosina. A insulina estimula fosfoproteínas fosfatases. Para reverter a ação do glucagon, a insulina promove a ativação da fosfoproteína fosfatase que catalisa a desfosforilação da *glicogênio fosforilase* e da *glicogênio sintase*, levando a inativação da primeira (fosforilase a $\rightarrow$ b) e ativação da segunda (síntase D $\rightarrow$ sintase I). Desta forma o fluxo glicose$\rightarrow$glicogênio é favorecido. O transporte da glicose no interior das células com a atuação da insulina é um processo passivo mediado por uma família de permeases denominadas GLUT (**Glu**cose **T**ransporter).
12. Respostas celulares rápidas desencadeadas por hormônios só podem ser obtidas através da ativação, ou da inibição, de enzimas pré-existentes. Hormônios esteroides (por exemplo cortisol) quando secretados difundem-se pela membrana citoplasmática e ligam-se ao seus receptores intracelulares os quais, quando ativados, promovem no núcleo a regulação do metabolismo pela indução da transcrição de genes que codificam enzimas específicas, levando à síntese de novo das proteínas correspondentes, fenômeno conhecido como indução enzimática. Mas o mecanismo de indução enzimática desencadeado por hormônios resulta necessariamente numa resposta celular lenta, uma vez que os RNAs mensageiros (mRNAs) precisam ser transcritos, processados, transportados para o citoplasma e finalmente traduzidos para produzir as proteínas enzimáticas exigidas.

13. A adrenalina estimula uma resposta local no músculo. A liberação de adrenalina é induzida por estímulo nervoso autônomo em situações de perigo, exercício físico e hipoglicemia, ela induz a degradação do glicogênio com o fim de fornecer glicose-1-fosfato como fonte de energia para atividades musculares que permitem ao animal reagir a estas situações.

14. Regulação da glicólise e gliconeogênese. A glicólise é uma das vias metabólicas principais para o fornecimento de energia. No fígado, encontra-se também a gliconeogênese, a qual é, de forma geral, uma via antagônica da glicólise. A regulação das duas vias é feita de forma reciproca, isto é, quando uma delas está ativa, a outra está inibida. Há três vias sob controle metabólico: as conversões reversíveis de: (i) glicose para glicose-6-fosfato (hexoquinase e glicose-6-fosfatase); (ii) frutose-6-fosfato e frutose-1,6-bisfosfato (fosfofrutoquinase e frutose-1,6-bisfosfatase; e (iii) fosfoenolpiruvato e piruvato (piruvato quinase e fosfoenolpiruvato carboxiquinase, piruvato carboxilase). A fosfofrutoquinase é o principal ponto de regulação da glicólise. AMP e frutose-2,6-bisfosfato agem como efetuadores alostéricos positivos. A formação de frutose-2,6-bisfosfato está sob controle hormonal. Em condições de hipoglicemia, o glucagon estimula a produção de cAMP

no fígado. Isso ativa a PKA a fosforilar e inativar a fosfofrutoquinase e ativar a frutose-bisfosfatase-2, diminuindo a concentração de frutose-2,6-bisfosfatase. Como resultado, o equilíbrio entre as reações de fosfofrutoquinase é alterado, em favor da síntese de frutose-6-fosfato, aumentado o fluxo gliconeogênico e a síntese de glicose-6-fosfato. Ao contrário, em condições de hiperglicemia, as concentrações de cAMP diminuíram, e o consequente aumento de frutose-2,6-bisfosfato ativa a fosfofrutoquinase e promove a glicólise.

Exercícios do Módulo 25

1) Os hormônios podem ser de natureza química muito diferente, por exemplo, adrenalina, uma catecolamina, e glucagon, um peptídeo. Apesar disso, desencadeiam o mesmo processo metabólico no fígado, isto é, mobilização de glicose da reserva de glicogênio. Se um hormônio é um sinal químico, como é possível que substâncias quimicamente tão diferentes transmitam a mesma sinalização metabólica para o hepatócito?

2) O sinal hormonal, por exemplo, da adrenalina no hepatócito, é rapidamente decodificado e amplificado numa cascata que alterna ativações alostéricas e reações enzimáticas. Mostre quais são os fundamentos desse processo que garantem essa rapidez e amplificação.

3) As vias metabólicas clássicas como, por exemplo, a glicólise e a via de biossíntese de ácidos graxos, cuidam da grande massa do trabalho metabólico, como, respectivamente, produção e armazenamento de energia. Há, no entanto, vias ou circuitos, quantitativamente insignificantes, mas fundamentais, para o controle das vias metabólicas massivas. Os circuitos, ou vias regulatórias, acionados pelos hormônios pertencem a este grupo. Que circuito regulatório permite à adrenalina promover a glicólise no músculo e a gliconeogênese no fígado?

4) O nível de glicose no sangue após um período de jejum é de aproximadamente 0,8 mg/ml (4 mM). Depois da ingestão de alimentos, o nível de glicose passa a ser de aproximadamente 1,2 mg/ml (6 mM). Explique porque os níveis de glicose variam tão pouco em situações alimentares tão diferentes. Como esses níveis são controlados?

5) A indução enzimática é uma importante forma de adaptação do hepatócito às necessidades metabólicas do organismo, mas não serve para respostas ultra-rápidas como a mobilização de glicose da reserva de glicogênio. Explique o motivo.

6) A concentração de ATP na célula está em torno de 5 mM. A quantidade total de ATP é pequena e é fonte primária de energia para o funcionamento celular. Por outro lado, o ATP é também o reagente que permite gerar cAMP, um dos mais importantes sinais químicos intracelulares de regulação metabólica. Além disso, cabe lembrar que todos os efeitos regulatórios do cAMP decorrem da ativação da enzima quinase de proteína dependente de cAMP, conhecida como

PKA. Tendo em conta todos estes fatos conhecidos, qual deve ser a ordem de grandeza da constante de ativação (K_a, semelhante a K_m) de PKA por cAMP? Justifique sua resposta.

MÓDULO 26: DIABETES, OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA.

1. Quando a ingestão de uma refeição rica em carboidratos gera uma concentração de glicose sanguínea excedente àquela comum entre as refeições (cerca de 5 mM) o excesso de glicose é captado pelos miócitos dos músculos cardíaco e esquelético (que armazenam como glicogênio) e pelos adipócitos (que a convertem em triacilgliceróis).
2. A captação de glicose pelos miócitos e adipócitos é mediada pelo transportador de glicose **GLUT4**. Entre as refeições, alguns GLUT4 estão presentes na membrana plasmática, mas a maioria encontra-se sequestrada nas membranas de pequenas vesículas intracelulares. A insulina, liberada pelo pâncreas em resposta à alta concentração de glicose sanguínea, desencadeia o movimento dessas vesículas intracelulares à membrana plasmática, com a qual elas se fundem, levando as moléculas de GLUT4 para a membrana plasmática. Com mais moléculas de GLUT4 em ação, a taxa de captação de glicose aumenta em 15 vezes ou mais. À medida que os níveis de glicose retornam à normalidade, as moléculas de GLUT4 vão sendo removidas e re-armazenadas em vesículas.
3. Na **Diabetes Melitus Tipo I** (ou diabetes melito insulina-dependente **DMID**), a incapacidade em liberar insulina (e, portanto, de mobilizar transportadores de glicose) resulta em baixas taxas de captação de glicose pelo músculo e tecido adiposo. Uma consequência é o período prolongado de glicose sanguínea alta após uma refeição rica em carboidratos, condição base para o teste de diagnóstico. Para suplantar o defeito na produção de insulina pelas células β-pancreáticas, geralmente causado por efeito autoimune, pacientes de diabetes tipo I devem injetar insulina exógena diariamente e exercer dieta rigorosa para não ter complicações excessivamente graves.
4. Na **Diabetes Melitus Tipo II** (ou diabetes melito não insulina-dependente **DMNID**) há produção de insulina efetivamente, mas a resposta metabólica está inefetiva. Estas pessoas são ditas resistentes à insulina. A injeção de insulina é inefetiva, pois sua produção não está com déficit em primeiro lugar, mas sim a resposta, frequentemente o receptor GLUT4.
5. Nas Diabetes Melitus, não ocorre captação eficiente de glicose do sangue para as células. Isto leva à diversas alterações metabólicas essenciais:
   i. Sem glicose, os ácidos graxos tornam-se o combustível principal.
   ii. Ocorre oxidação excessiva, mas incompleta, dos ácidos graxos no fígado.
   iii. A acetil-CoA produzida pela β-oxidação não pode ser oxidada completamente pelo ciclo do ácido cítrico, porque a alta relação [NADH]/´[NAD^+] inibe o ciclo (lembre-se que três etapas do ciclo convertem NAD^+ em NADH).
   iv. O acúmulo de acetil-CoA leva à superprodução dos corpos cetônicos, acetoacetato e β-hidroxibutirato, que não podem ser utilizados pelos tecidos extra-hepáticos na velocidade com que são produzidos no fígado. Este acúmulo denomina-se **cetose**. A concentração aumentada destes compostos no sangue chama-se cetonemia e na urina cetonúria.

v. Acetoacetato descarboxila-se espontaneamente em acetona, que circula pelo sangue do diabético e por ser volátil é exalada, dando hálito similar ao de etanol. Isto pode gerar diagnóstico errôneo de intoxicação por etanol e levar à morte do paciente.

vi. Os corpos cetônicos são ácidos carboxílicos que se ionizam, liberando prótons. No diabetes não controlado, esta produção de ácido pode superar a capacidade do sistema tampão bicarbonato do sangue e produzir uma redução no pH sanguíneo (acidose) ou em combinação com a cetose, **cetoacidose**, combinação potencialmente letal.

6. Na **Diabetes Insipidus**, um defeito genético no gene de uma aquaporina (AQP2) que reveste o ducto coletor renal resulta numa reabsorção de água deficiente pelos rins, causando os pacientes a excretarem volumes copiosos de urina muito diluída. A AQP2 está sob controle muito similar à GLUT4, mas para com **vasopressina (ADH)**, não insulina. A presença do hormônio causa vesículas com o transportador a fundirem-se na membrana plasmática, gerando seu efeito. A Diabetes Insipidus gera frequente desidratação, e a não reposição adequada da água perdida pelo organismo pode levar à morte.
7. A **Leptina** é um hormônio essencial produzido pelo tecido adiposo que inibe o consumo de alimentos e a síntese de gordura, e estimula a β-oxidação. Os receptores para leptina encontram-se majoritariamente no cérebro, nas regiões que regulam o comportamento alimentar, os <u>neurônios do núcleo arqueado do hipotálamo</u>. A leptina, através do hipotálamo:
    a. Estimula o Sistema Nervoso Simpático.
    b. Aumenta a pressão sanguínea.
    c. Aumenta a frequência cardíaca
    d. Aumenta a termogênese.
    e. Estimula a produção de hormônios peptídicos anorexigênicos (Hormônio Estimulante de Melanócito α, **α-MSH).**
8. A leptina controla a expressão gênica pelo sistema JAK-STAT. O receptor de leptina é composto de dois monômeros. Ao ligar-se ao hormônio, estes se dimerizam e são fosforilados pela **Janus-cinase (JAK)**. Em um resíduo específico de Tyr. Este P-Tyr torna-se ponto de ancoragem para três proteínas transdutoras de sinal e ativadoras de transcrição: **STAT 3, 5 e 6**, às vezes chamadas de *fat*-STAT. Estas STAT são fosforiladas também em resíduos de Tyr pela mesma JAK e então dimerizam-se, deslocando-se para o núcleo onde se ligam a sequências específicas do DNA, estimulando a transcrição de genes-alvo específicos (como o da **α-MSH**).
9. Parte do aumento do catabolismo e da termogênese provocado pela leptina é devido em parte ao aumento da síntese da proteína desacopladora mitocondrial termogenina (UCP1) nos adipócitos marrons. A leptina altera as transmissões sinápticas dos neurônios no núcleo arqueado para o tecido adiposo e outros tecidos, estimulando a síntese de termogenina pelo sistema nervoso simpático. A liberação aumentada de noradrenalina resultante nesses tecidos age por meio dos receptores β_3-adrenérgicos, estimulando a transcrição do gene UCP1. O

resultante desacoplamento da transferência de elétrons da fosforilação oxidativa consome gordura e é termogênico.

10. A **Síndrome Metabólica** ou **Síndrome X** constitui um estágio intermediário que precede o Diabetes Melitus Tipo II grave. É caracterizada por:

- **i.** Obesidade
- **ii.** Hipertensão
- **iii.** Lipídeos sanguíneos anormais (altos TAG e LDL, baixa HDL)
- **iv.** Glicose sanguínea levemente elevada
- **v.** Capacidade reduzida de remover glicose do sangue

11. Frequentemente uma síndrome metabólica evolui para Diabetes Tipo II. De acordo com a hipótese da "toxicidade lipídica", a ação do **PPARγ** (Peroxisome proliferator-activated receptor) sobre os adipócitos normalmente mantém as células preparadas para sintetizar e armazenar triacilgliceróis – os adipócitos são sensíveis à insulina e produzem leptina, o que leva à deposição intracelular contínua de TAG. Contudo, o excesso de ingestão calórica em pessoas obesas faz os adipócitos ficarem repletos de TAG, tornando o tecido adiposo incapaz de receber uma demanda aumentada para estocar TAG. O tecido adiposo repleto de lipídeos libera fatores proteicos que atraem macrófagos que se infiltram no tecido e podem chegar a representar, em massa, até 50% do tecido adiposo. Os macrófagos desencadeiam a resposta inflamatória, que prejudica a deposição dos ácidos graxos nos adipócitos e favorece sua liberação para o sangue. Esse excesso de ácidos graxos entra nas células hepáticas e musculares, onde é convertido em TAG que se acumulam como gotículas lipídicas. Essa deposição ectópica (fora de lugar) de TAG leva à insensibilidade à insulina no fígado e no músculo, característica da diabetes tipo II.

Exercícios do Módulo 26

1. Observa-se que uma linhagem de camundongos, sem o receptor específico de insulina hepático, apresenta moderada hiperglicemia de jejum (glicemia de 132 mg/dL, com comparação com 101 mg/dL nos controles) e hiperglicemia mais marcante no estado alimentado (glicemia de 363 mg/dL, em comparação com 135 mg/dL nos controles). Os camundongos apresentam níveis de glicose-6-fosfatase acima do normal no fígado e níveis elevados de insulina no sangue. Explique essas observações.
2. Os fármacos acarbose e miglitol, utilizados no tratamento do diabetes melitus tipo II, inibem α-glicosidases da membrana em forma de escova do intestino delgado. Essas enzimas degradam oligossacarídeos resultantes da digestão do glicogênio ou do amido em monossacarídeos. Sugira um possível mecanismo para o efeito salutar desses fármacos em

pessoas com diabetes. Quais efeitos colaterais, se for o caso, você esperaria desses fármacos? Por quê?

3. Certos tumores malignos do pâncreas causam produção excessiva de insulina nas células β. Pessoas afetadas apresentam tremores, fraqueza e fadiga, sudorese e fome.
    a. Qual o efeito do hiperinsulinismo sobre o metabolismo de carboidratos, aminoácidos e lipídeos no fígado?
    b. Quais as causas dos sintomas observados? Sugira a razão pela qual essa condição, se prolongada, leva a dano cerebral.
4. Pesquisadores podem conectar os sistemas circulatórios de dois camundongos por meio de uma cuidadosa cirurgia, de modo que o mesmo sangue circula em ambos os animais. Nesses camundongos **parabióticos**, os produtos liberados no sangue por um animal atingem o outro animal via circulação compartilhada. Ambos os animais são livres para comer de forma independente. Se um camundongo mutante *ob/ob* e um camundongon normal *OB/OB* são unidos tornando-se parabióticos, o que ocorre com o peso de cada camundongo?

   Nota: OB:Obese Gene (Gene da Leptina). “OB” determina cópia selvagem e “ob” cópia defeituosa.

MÓDULO 27 – INTEGRAÇÃO DO METABOLISMO

1. Toda e qualquer comunicação dentro do nosso organismo deve ocorrer através do sistema nervoso ou sistema endócrino. Ao sistema endócrino pertencem todas as glândulas que secretam hormônio.
2. Hormônios

   Definição: Toda substância química (mensageiro) produzida em um tecido específico (glândula) onde ele é secretado para agir em uma célula alvo.

   •Características:

   –Coordenação do metabolismo nos órgãos separados dos mamíferos é alcançada por uma sinalização hormonal e neuronal (células endócrinas secretam hormônios e neurônios secretam neurotransmissores);

   –Meia vida curta;

   –Baixas concentrações no sangue;

   –Produzem respostas fisiológicas e bioquímicas

   –Possuem ação lenta (expressão gênica) e ação rápida (ação na atividade de uma ou mais enzima –mecanismo alostérico (retroalimentação) ou modificação covalente.

   Exemplos de hormônios peptídicos ou proteicos = glucagon e insulina

   Esses hormônios agem especialmente no fígado, músculo e tecido adiposo para manter o nível da glicose sanguínea ajustado.

3. INSULINA

   A insulina avisa os tecidos: fígado, músculo e adiposo que a concentração de glicose sanguínea é maior que a necessária, isto resulta na captação do excesso de glicose presente no sangue pelas células e sua conversão em composto de armazenamento: Glicogênio e Triacilgliceróis (TAGs).

   Quando o nível de glicose no sangue está alto, o metabolismo ativo da glicose nas células β aumenta a concentração intracelular de ATP, provocando o fechamento dos canais de K+ presentes na membrana plasmática e a consequente despolarização da membrana. Em resposta a essa mudança no potencial de membrana, os canais de Ca2+ sensíveis a voltagem na membrana plasmática abrem-se, permitindo que o Ca2+ entre dentro da célula, isto eleva a concentração citossólica de Ca2+ o suficiente para acionar a liberação da insulina por exocitose.

   Imediatamente após uma refeição rica em calorias, glicose, ácidos graxos e aminoácidos chegam ao fígado. A insulina liberada em resposta à alta concentração da glicose no sangue estimula a captação dela pelos tecidos. Alguma glicose é exportada para o cérebro para suprir suas necessidades de energia, e uma parte da glicose vai para os tecidos muscular e adiposo. No fígado, a glicose em excesso é oxidada até acetil-CoA, que é empregado na síntese ácidos graxo para a exportação para o tecido muscular e adiposo, na forma de TAGs integrando VLDL. O NADPH necessário para a biossíntese desses lipídios é obtido pela oxidação de parte da glicose disponível

na via das pentoses fosfato. Os aminoácidos em excesso são convertidos em piruvato e acetil-CoA, que também será empregado na síntese de lipídios. As gorduras da dieta são transportadas pelo sistema linfático, na forma de quilomícrons, do intestino até os tecidos muscular e adiposo.

A insulina estimula a captação da glicose pelos tecidos aumentando o transportador GLUT4 na superfície celular, permitindo maior entrada de glicose na célula, onde é convertida em glicose 6-fosfato pela hexoquinase no músculo e glicoquinase no fígado, primeira enzima da via glicolítica (reação irreversível).

No fígado, a insulina também ativa a glicogênio sintase e inativa a glicogênio fosforilase, de forma que a maior parte da glicose 6-fosfato seja canalizada para glicogênio.

4. GLUCAGON

   O glucagon inibe a degradação da glicose pela glicólise no fígado e estimula a síntese de glicose pelo gliconeogênese. Ambos os efeitos resultam da diminuição do nível de frutose 2,6-bisfosfato, um inibidor alostérico da enzima gliconeogênica: a frutose 1,6-bisfosfato e um ativador da fosfofreutoquinase-1. Lembre-se que a concentração da frutose 2,6-bisfosfato é, em última instância controlada pela reação da fosforilação de proteínas dependentes do cAMP

   Ao contrário do que acontece quando os níveis de insulina estão altos, o glucagon favorece a formação de glicose no fígado aumento a atividade da glicogênio fosforilase e inativado a glicogênio sintase.

   O glucagon induz um aumento na concentração de glicose sanguínea de várias maneiras. Da mesma forma que a epinefrina age no músculo, o glucagon estimula a degradação de glicogênio hepático ativando a glicogênio fosforilase e inativando a glicogênio sintase, ambos os efeitos são resultado da fosforilação de enzimas reguladas, desencadeada pelo AMPc. * A glicogênio sintase está inativa quando fosforilada.

5. No metabolismo absortivo prevalece a ação da insulina. Síntese de compostos de reserva: GLICOGÊNIO e TAGs.

   Nas primeiras poucas horas de uma refeição, a concentração de glicose no sangue diminui levemente e os tecidos recebem glicose liberada pela degradação do glicogênio hepático. A síntese de lipídios é pequena ou não ocorre. Ocorre a degradação dos TAGs nos adipócitos e degradação de glicogênio no fígado para suprir necessidade energética cerebral e no músculo para sua própria utilização. No fígado também ocorre a gliconeogênese a partir da degradação de proteínas não-essenciais e do glicerol dos TAGs.

   Eventualmente, o uso de intermediários do ciclo de Krebs na gliconeogênese esgota o oxaloacetato, impedindo a entrada da acetil-CoA no ciclo. O acetil-CoA produzido pela oxidação do ácido graxo acumula-se favorecendo a formação de acetoacetil-CoA e corpos cetônicos no fígado. Depois de alguns dias de jejum, os níveis de corpos cetônicos no sangue se elevam à medida que estes combustíveis são exportados do fígado para o coração, músculo esquelético e cérebro, que os usam no lugar da glicose.

Diabetes melito: Os indivíduos com qualquer um dos tipos de diabetes são incapazes de captar eficientemente a glicose do sangue, por isso o metabolismo se assemelha ao de um jejum prolongado.

Exercícios do Módulo 27

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 beta-oxidação porque o nível de triacilglicerol plasmático está elevado.

1b. O nível de triacilglicerol plasmático 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 dos corpos cetônicos intensifica-se nos períodos de jejum prolongado porque há necessidade de fornecer estes compostos para o cérebro.

2) Descrever as alterações metabólicas decorrentes da falta de insulina (diabetes).

3) Descreva ação dos hormônios peptídicos no período pós-absortivo.