

QBQ0215N – Prova 2 – 20/10/20 – Gabarito

1) A glicólise e a gliconeogênese são duas vias que atuam em direções opostas. Pergunte-se:

a) Qual o principal regulador molecular não-hormonal que determina qual das vias é efetuada?

O principal regular molecular não-hormonal é a molécula Frutose-2,6-bisfosfato. Sua presença determina a ocorrência da via glicolítica. Sua produção é estimulada por AMP e inibida por citrato e fosfoenolpiruvato.

b) Quais são os dois principais mecanismos que determinam a ativação/atividade ou desativação/inatividade de enzimas?

Os dois principais mecanismos são a regulação alostérica e a fosforilação. Na regulação alostérica, um ligante específico, seja um hormônio ou um substrato/produto da via em questão se liga numa região específica da enzima para aumentar ou diminuir sua eficiência, podendo até mesmo inibir completamente sua ação ou ativar uma enzima previamente inativa. Na fosforilação, a transferência de um grupo fosforila causa uma mudança de conformação enzimática que altera a afinidade da enzima pelo substrato, efetivamente modulando a presença ou intensidade de sua atividade.

2. Quando O₂ é adicionado a uma suspensão anaeróbia de células consumindo glicose em alta velocidade, essa velocidade diminui marcadamente à medida que o O₂ é consumido e o acúmulo de lactato cessa. Esse efeito, primeiramente observado por Louis Pasteur na década de 1860, é característico da maioria das células capazes tanto de catabolismo aeróbio quanto anaeróbio da glicose.

a) Por que o acúmulo de lactato cessa depois que o O₂ é adicionado?

Enquanto que a fermentação da glicose é um processo que gera 2 ATP por molécula de glicose processada, a oxidação de cofatores gerados no ciclo Krebs pela fosforilação oxidativa gera aproximadamente 38 ATP por molécula de glicose. Deste modo, todo organismo que é aeróbio facultativo realiza respiração aeróbia quando há possibilidade de fazê-lo, pois é 19 vezes mais favorável energeticamente para o organismo.

b) De que forma o início do consumo de O₂ reduz a taxa de consumo de glicose? Explique em termos de reações específicas.

Resposta Completa:



Na ausência de O₂, ocorre apenas regeneração do NAD⁺:



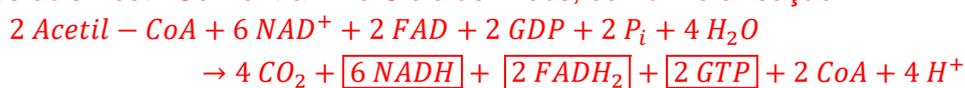
Consumo de glicose por ATP: 1/2ATP

Na presença de O₂:

Primeiro, ocorre descarboxilação do piruvato com associação à Coenzima-A:



Depois, os dois Acetil-CoA entram no Ciclo de Krebs, conforme a reação:



Na cadeia de fosforilação oxidativa, os cofatores NADH e FADH₂ serão reoxidados, cedendo seus elétrons para que ocorra o bombeamento de prótons. Cada NADH resultará

em, aproximadamente, 3 ATP, e cada FADH₂, em aproximadamente 2 ATP, enquanto que 1 GTP é equivalente a 1 ATP. Assim, temos que:

| Cofatores | Equivalente |
|---------------------|-------------|
| 8 NADH | 24 |
| 2 FADH ₂ | 4 |
| 2 GTP | 2 |
| Total: | 30 |

Ao total somam-se os 2 ATPs gerados na glicólise para um total de 32 ATPs.

Resposta simplificada:

Fermentação:



Respiração Aeróbia:



Deste modo, a respiração aeróbia é 16 vezes mais efetiva que a fermentação láctea.

3. Faça uma previsão dos estados de oxido-redução de NAD⁺/ NADH, FAD/FADH₂, coenzima Q e citocromo c numa preparação de mitocôndria de fígado suplementado com os substratos isocitrato e succinato, Pi, ADP e oxigênio, mas inibido por:

a) rotenona

Rotenona inibe o Complexo I, inibindo a entrada de elétrons provenientes do NADH. Este permanecerá reduzido, enquanto que os demais componentes da cadeia estarão sendo oxidados e estará havendo produção de ATP graças à entrada de elétrons pelo complexo II, com redução de O₂ à água. Deste modo, FAD é a forma prevalecente e coenzima Q e citocromo c estão reduzidos, carregando elétrons.

b) antimicina A

Antimicina A inibe o Complexo III. Este complexo, o Citocromo C e o Complexo IV estarão em suas formas oxidadas; não ocorre síntese de ATP e, portanto, redução de O₂. Isto se deve ao fato do complexo III ser de passagem obrigatória dos elétrons, e, se bloqueado, interrompe a cadeia inteira, impedindo o bombeamento de prótons e muito rapidamente desfazendo o gradiente favorável à formação de ATP. As formas prevalecentes são NADH e FADH₂ (reduzidos), pois não conseguem doar seus elétrons nos complexos I e II respectivamente, e coenzima Q está reduzida sem conseguir dar vazão a seu elétron para o complexo III.

c) cianeto

Cianeto inibe o Complexo IV. Este complexo estará em sua forma reduzida. Assim como no caso anterior, toda a cadeia de fosforilação oxidativa está bloqueada. NADH e FADH₂ são as formas que prevalecem (reduzidas), e coenzima Q e citocromo C estão reduzidos e não conseguem doar elétrons para o complexo IV.

d) dinitrofenol na presença de oligomicina

A Oligomicina inibe a ATP Sintase, o que saturaria o espaço intermembranar de prótons, impedindo a cadeia de fosforilação oxidativa de continuar seu funcionamento normal, uma vez que esta enzima dá vazão ao acúmulo de prótons para sintetizar ATP. No entanto, o Dinitrofenol (DNP) consegue se ligar à íons hidrogênio e atravessa a membrana plasmática, atuando como um desacoplador, ou seja, ele leva à vazão de prótons do espaço intermembranar o ato acoplado da síntese de ATP. Deste modo, a cadeia de fosforilação oxidativa, que compreende além de outros, todos os componentes citados no enunciado da

questão 3, estará em pleno funcionamento, como se a ATP Sintase estivesse também funcionando, pois há vazão de prótons, mesmo que desacoplada. Assim, os substratos estariam oxidados, tendo doado seus elétrons para a coenzima Q e Citocromo c, reduzidos, e O_2 estaria sendo reduzido à água.

Justifique a sua resposta.

4. Assinale se as afirmações abaixo são verdadeiras (V) ou falsas (F).

ATENÇÃO: Duas respostas erradas anulam uma certa!

| | |
|---|---|
| A | Durante a gliconeogênese, uma alta concentração de acetilCoA na mitocôndria ativa a piruvato carboxilase. Verdadeiro |
| B | Frutose-2,6-Bisfosfato é um intermediário da gliconeogênese, mas não da glicólise. Falso, Frutose-2,6-Bisfosfato não é um intermediário de nenhuma das vias, é uma molécula de sinalização produzida por uma catálise alternativa da frutose-6-fosfato. |
| C | A conversão de isocitrato a α -cetoglutarato é um passo importante na regulação da velocidade da oxidação da acetil-CoA na mitocôndria. Verdadeiro |
| D | É possível realizar gliconeogênese a partir de aminoácidos. Verdadeiro |
| E | A regulação alostérica das enzimas responsáveis pelas reações reversíveis da glicólise e gliconeogênese decide qual dessas vias é seguida no hepatócito. Falso. As reações reguladas são as reações irreversíveis. |
| F | O lactato formado no músculo é reconvertido a glicose em passos realizados no citosol e na mitocôndria das fibras musculares. Falso. Este lactato será reprocessado nas células hepáticas e não nas células das fibras musculares. |
| G | O oxaloacetato é um intermediário do ciclo de Krebs, da glicólise e da gliconeogênese. Falso, o Oxaloacetato não é um intermediário da glicólise. |
| H | Altas razões ATP/ADP inibem alostericamente a fosfofrutoquinase 1 e diminuem a velocidade do ciclo de Krebs. Verdadeiro |

| | |
|---|---|
| I | O ciclo de Krebs tem papel tanto no catabolismo quanto na síntese de biomoléculas. Verdadeiro |
| J | A presença de O ₂ não é necessária para o funcionamento do ciclo de Krebs. Falso. O ciclo de Krebs funciona apenas na ocorrência da renovação de cofatores na fosforilação oxidativa, que por sua vez depende da presença de O₂, de modo que o ciclo depende indiretamente de oxigênio para seu funcionamento. |
| K | Excesso de NADPH impede a formação de Ribose-5-fosfato. Falso, Ribose-5-fosfato pode ser sintetizada pela via não-oxidativa da via das pentoses-fosfato. NADPH inibe apenas a via oxidativa da via |

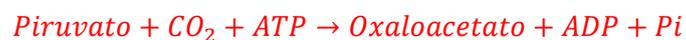
Justifique as alternativas falsas.

5. Avidina é uma proteína presente na clara do ovo. Esta proteína possui alta afinidade com a biotina. De fato, esta proteína é um inibidor específico de enzimas de biotina. Qual das seguintes reações podem ser bloqueadas pela adição de avidina no homogenato celular. Justifique sua resposta indicando a enzima bloqueada e a reação onde está envolvida.

a) Glicose → Piruvato

b) Piruvato → Glicose

Reação Bloqueada: Piruvato Carboxilase

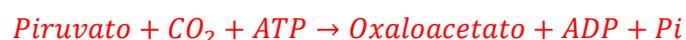


c) Oxaloacetato → Glicose

d) Glicose → Ribose 5-fosfato

e) Piruvato → Oxaloacetato

Reação Bloqueada: Piruvato Carboxilase



f) Ribose 5-fosfato → Glicose

6. A comparação das vias energéticas do metabolismo em duas espécies de aves deu os seguintes resultados em relação a V_{max} das seguintes enzimas de extrato de músculo peitoral de ambas as espécies:

| Enzima | V_{max} | V_{max} |
|------------------------|--|--|
| | [mmol substrato/(min.g tecido)] Ave 1 | [mmol substrato/(min.g tecido)] Ave 2 |
| Hexoquinase | 3,0 | 2,3 |
| Glicogênio Fosforilase | 18,0 | 120,0 |
| Fosfofrutoquinase-1 | 24,0 | 143,0 |
| Citrato Sintase | 100,0 | 15,0 |
| Triacilglicerol Lipase | 0,07 | 0,01 |

- a) Avalie a importância relativa do metabolismo de glicogênio e de lipídios na geração de ATP em ambas as espécies.

Evidentemente a espécie de ave 1 utiliza primariamente lipídios para geração de ATP, enquanto que a espécie 2 utiliza primariamente carboidratos. Isto é demonstrado pelos níveis de glicogênio fosforilase, que são mais de dez vezes maiores na espécie 2, indicando altas taxas de glicogenólise; pelos altos valores de PPK1 na espécie 2, mais de 5 vezes o valor da espécie 1, indicando intensa utilização da via glicolítica para processar a glicose-1P removida do glicogênio; pelos níveis de citrato sintase da espécie 1, 7 vezes maiores que os da espécie 2, indicando uma entrada energética na forma de Acetil-CoA; e finalmente pelos níveis 7 vezes maiores de Triacilglicerol Lipase da espécie 1, indicativo da degradação de triacilgliceróis em ácidos graxos para a produção de energia.

- b) Sabendo-se que ácidos-graxos produzem acetil-CoA e são mais reduzidos que carboidratos, compare o consumo de oxigênio em ambas as espécies.

Se ácidos graxos são mais reduzidos que carboidratos, então há mais produção de acetil-CoA por molécula processada, o que se traduz efetivamente em maior consumo de oxigênio na espécie 1 que se utiliza de ácidos graxos.

- c) A julgar pelos dados da tabela, qual das espécies voa longas distâncias? Justifique.

Por motivo similar ao da questão anterior, a espécie 1 é a que voa longas distâncias. Isto é devido ácidos graxos serem mais reduzidos que carboidratos, concentrando mais energia em menos peso, e principalmente na hidratação destes dois tipos de moléculas. Enquanto que ácidos graxos são insolúveis em água e formam gotas lipídicas de armazenamento eficiente, apesar de mobilização lenta, carboidratos requerem enorme hidratação de modo que ocupam um volume imenso no organismo,

frequentemente 2/3 do fígado animal, com a vantagem de rápida mobilização. Voos de longa distância requereriam um metabolismo de longo prazo como o de ácidos graxos. A espécie 2 queimaria seus estoques de glicogênio rapidamente e teria que parar seu voo pouco tempo após começá-lo, sendo inviável para tal tarefa.

d) Por que foram escolhidas essas enzimas para a comparação das vias metabólicas?

Estas são enzimas-chave metabólicas de reações irreversíveis cujos níveis são regulados alostericamente de modo preciso e que permitem diagnóstico certo comparativo de funcionamento de determinadas vias metabólicas associadas a elas.

7) O glicogênio é uma molécula de armazenamento de glicose com ramificações α -1,6 a cada 8 a 12 resíduos de glicose ligadas em α -1,4. Uma amostra de glicogênio de um paciente incubada com P_i , enzima normal Glicogênio Fosforilase e enzima normal Desramificadora gera uma proporção de Glicose-1-Fosfato para Glicose de 100:1.

a) Qual a provável deficiência enzimática deste paciente? Explique.

Enquanto que a fosforilação de uma extremidade regular do glicogênio gera uma unidade de glicose-1P, a remoção de uma ramificação gera uma molécula de glicose sem grupos fosfato. Seria de se esperar, deste modo, uma proporção próxima de 10:1 de Glicose-1P para Glicose, e não de 100:1. Assim, podemos assumir que este paciente tem deficiência na enzima de ramificação do glicogênio (glycogen branching enzyme).

b) Descreva a estrutura do glicogênio deste paciente.

Este paciente possui glicogênio com cadeias com longas ramificações, intercaladas com outras ramificações a cada aproximadamente 100 resíduos de glicose.

c) Considerando a deficiência deste paciente, que tipo de dieta você recomendaria para o mesmo para evitar falha hepática e morte prematura?

Uma dieta altamente lipídica seria ideal, pois lipídios praticamente não são glicogênicos, dando origem quase que apenas à acetil-CoA. Açúcares e proteínas seriam convertidas e armazenadas no fígado do paciente, e a hiper-hidratação e edema hepático acabariam por causar falha sistêmica.

d) Qual a finalidade das reservas de glicogênio do fígado e músculo? Qual a principal diferença bioquímica entre esses tecidos no que diz respeito ao metabolismo de açúcares?

A finalidade do glicogênio do fígado é manter a glicemia sanguínea para os tecidos que dependem exclusivamente de glicose, como as hemácias e os neurônios. Já o glicogênio do músculo tem a finalidade de mobilizar energia rapidamente para a célula muscular realizar atividade física extenuante.

Enquanto que o músculo se aproveita de a glicose sair fosfatada do glicogênio para já transformá-la em Glicose-6P por uma mutase e processá-la na glicólise, o fígado deve clivar este grupo fosfato através de uma enzima exclusiva, a glicose-6-fosfatase, para exportar a molécula de glicose para o sangue, tornando o processo ainda menos energeticamente favorável.

8) Qual (quais) das reações a seguir você esperaria que ocorressem no sentido representado, em condições-padrão, na presença das enzimas apropriadas? Consulte a tabela no final desta prova. Explique.

$$\Delta G = -n.F.E$$

a) Malato + NAD⁺ → oxaloacetato + NADH + H⁺

Potencial: -0,154E`V (Desfavorável)

b) Acetoacetato + NADH + H⁺ → beta -hidroxibutirato + NAD⁺

Potencial: -0,026E`V (Desfavorável)

c) Piruvato + NADH + H⁺ → lactato + NAD⁺

Potencial: +0,135E`V (Favorável)

d) Piruvato + β-hidroxibutirato → lactato + acetoacetato

Potencial: +0,161E`V (Favorável)

e) Malato + piruvato → oxaloacetato + lactato

Potencial: -0,019E`V (Desfavorável)

f) Acetaldeído + succinato → etanol + fumarato

Potencial: -0,228E`V (Desfavorável)

Potenciais EV positivos acoplados por uma enzima indicam uma variação negativa de energia do sistema, o que implica num processo termodinamicamente favorável a acontecer e espontâneo, nas condições dadas.

9)

a) Oligomicina B e Cianeto inibem a fosforilação oxidativa quando o substrato é piruvato ou succinato. Dinitrofenol pode ser utilizado para distinguir estes inibidores. Explique.

Cianeto inibe o complexo IV. A utilização de DNP não causa alteração além da já causada pelo veneno, ou seja, completa paralisação da cadeia de fosforilação oxidativa e produção de ATP. O desmanche do gradiente de prótons remanescente não causa qualquer alteração. Já no caso da Oligomicina B, uma inibidora da ATP Sintase, a aplicação de DNP causa o restauro do funcionamento da cadeia de fosforilação oxidativa, antes inibida pelo acúmulo de íons H⁺ no espaço intermembranar que não tinham vazão pela ATP Sintase devido ao veneno. O DNP desmancha o gradiente de prótons, restaurando a função da cadeia, que regenera os cofatores, mas sem gerar ATP. Assim, distinguem-se os venenos pelo uso do DNP, pela observação da função da cadeia de fosforilação (e com ela o ciclo de Krebs também).

b) Um ionóforo A troca íons K⁺ e H⁺ entre membranas. Um ionóforo B troca apenas íons K⁺ entre membranas. Explique que efeitos você espera observar com a introdução destes ionóforos em mitocôndrias.

A introdução do ionóforo A atuaria como o DNP, desmanchando o gradiente de prótons e desacoplando a produção de ATP, atuando como veneno e matando a célula. Já o ionóforo B seria inerte na mitocôndria que está em equilíbrio osmótico com o citosol.

TABELA 13-7 Potenciais de redução padrão de algumas semirreações de importância biológica

| Semirreação | E° (V) |
|--|-----------------|
| $\frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$ | 0,816 |
| $\text{Fe}^{3+} + e^- \longrightarrow \text{Fe}^{2+}$ | 0,771 |
| $\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$ | 0,421 |
| Citocromo <i>f</i> (Fe^{2+}) + $e^- \longrightarrow$ citocromo <i>f</i> (Fe^{3+}) | 0,365 |
| $\text{Fe}(\text{CN})_6^{2-}$ (ferricelanelo) + $e^- \longrightarrow \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ | 0,36 |
| Citocromo α_3 (Fe^{2+}) + $e^- \longrightarrow$ citocromo α_3 (Fe^{3+}) | 0,35 |
| $\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}_2$ | 0,205 |
| Citocromo <i>a</i> (Fe^{2+}) + $e^- \longrightarrow$ citocromo <i>a</i> (Fe^{3+}) | 0,29 |
| Citocromo <i>c</i> (Fe^{2+}) + $e^- \longrightarrow$ citocromo <i>c</i> (Fe^{3+}) | 0,254 |
| Citocromo c_1 (Fe^{2+}) + $e^- \longrightarrow$ citocromo c_1 (Fe^{3+}) | 0,22 |
| Citocromo <i>b</i> (Fe^{2+}) + $e^- \longrightarrow$ citocromo <i>b</i> (Fe^{3+}) | 0,077 |
| Ubiquinona + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ ubiquinol + H_2 | 0,045 |
| $\text{Fumarato}^{2-} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{succinato}^{2-}$ | 0,031 |
| $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2$ (em condições padrão, pH 0) | 0,000 |
| Crotonil-CoA + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ butiril-CoA | -0,015 |
| Oxaloacetato ²⁻ + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ malato ²⁻ | -0,106 |
| Piruvato ⁻ + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ lactato ⁻ | -0,185 |
| Acetaldeído + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ etanol | -0,197 |
| $\text{FAD} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{FADH}_2$ | -0,219* |
| Glutationa + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ 2 glutationas reduzidas | -0,23 |
| $\text{S} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{S}$ | -0,243 |
| Ácido lipóico + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ ácido di-hidrolipóico | -0,29 |
| $\text{NAD}^+ + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NADH}$ | -0,320 |
| $\text{NADP}^+ + \text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NADPH}$ | -0,324 |
| Acetoacetato + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ β -hidroxibutirato | -0,346 |
| α -cetoglutarato + $\text{CO}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ isocitrato | -0,38 |
| $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2$ (em pH 7) | -0,414 |
| Ferredoxina (Fe^{2+}) + $e^- \longrightarrow$ ferredoxina (Fe^{3+}) | -0,432 |