

QBQ0204 Bioquímica: Estrutura de Biomoléculas e Metabolismo

Guia de estudos

Aula 12: Glicólise

Esta aula possui duas leituras básicas marcadas no texto retirado de D.L. Nelson e M.M. Cox - Princípios de Bioquímica de Lehninger, 7^a ed. Artmed, 2018.

Glicólise, Gliconeogênese e a Via das Pentoses-Fosfato

- 14.1 Glicólise 544
- 14.2 Vias alimentadoras da glicólise 558
- 14.3 Destinos do piruvato em condições anaeróbias: fermentação 563
- 14.4 Gliconeogênese 568
- 14.5 Oxidação da glicose pela via das pentoses-fosfato 575

A glicose ocupa posição central no metabolismo de plantas, animais e muitos microrganismos. Ela é relativamente rica em energia potencial e, por isso, é um bom combustível; a oxidação completa da glicose a dióxido de carbono e água ocorre com uma variação da energia livre padrão de -2.840 kJ/mol . Por meio do armazenamento da glicose na forma de polímero de alta massa molecular, como o amido e o glicogênio, a célula pode estocar grandes quantidades de unidades de hexose, enquanto mantém a osmolaridade citosólica relativamente baixa. Quando a demanda de energia aumenta, a glicose pode ser liberada desses polímeros de armazenamento intracelulares e utilizada para produzir ATP de maneira aeróbia ou anaeróbia.

A glicose, além de excelente combustível, também é um precursor admiravelmente versátil, capaz de suprir uma enorme variedade de intermediários metabólicos em reações biossintéticas. Uma bactéria como a *Escherichia coli* pode obter a partir da glicose os esqueletos carbônicos para cada aminoácido, nucleotídeo, coenzima, ácido graxo ou outro intermediário metabólico necessário para o seu crescimento. Um estudo abrangente dos destinos metabólicos da glicose compreenderia centenas ou milhares de transformações químicas. Em animais e em vegetais vasculares, a glicose tem quatro destinos principais: ela pode ser usada na síntese de polissacarídeos complexos direcionados ao espaço extracelular; ser armazenada nas células (como polissacarídeo ou como sacarose); ser oxidada a compostos de três átomos de carbonos (piruvato) por meio da glicólise, para fornecer ATP e intermediários metabólicos; ou ser oxidada pela via das pentoses-fosfato

(fosfogliconato) produzindo ribose-5-fosfato para a síntese de ácidos nucleicos e NADPH para processos biossintéticos redutores (**Figura 14-1**).

Os organismos sem acesso à glicose de outras fontes devem sintetizá-la. Os organismos fotossintéticos sintetizam glicose inicialmente por redução do CO_2 atmosférico a trioses e, em seguida, por conversão das trioses em glicose. As células não fotossintéticas produzem glicose a partir de precursores simples com três ou quatro átomos de carbono pelo processo de gliconeogênese, que reverte a glicólise em uma via que utiliza muitas enzimas glicolíticas.

Este capítulo descreve as reações individuais da glicólise, da gliconeogênese e da via das pentoses-fosfato e o significado funcional de cada via. Descreve também os vários destinos metabólicos do piruvato produzido na glicólise. Entre eles, estão incluídas as fermentações, utilizadas por muitos organismos em nichos anaeróbios para produzir ATP e industrialmente exploradas como fontes de etanol, ácido láctico e outros produtos úteis comercialmente. Além disso, o capítulo aborda as vias que disponibilizam vários açúcares, mono, di e polissacarídeos, para a via glicolítica. A



FIGURA 14-1 As principais vias de utilização da glicose. Embora não sejam os únicos destinos possíveis da glicose, essas quatro vias são as mais significativas em termos de quantidade de glicose que flui através delas na maioria das células.

discussão sobre o metabolismo da glicose continua no Capítulo 15, onde os processos de síntese e degradação de carboidratos são utilizados para ilustrar os diversos mecanismos pelos quais os organismos regulam as vias metabólicas. As vias biossintéticas que utilizam a glicose para produção dos polissacarídeos da matriz extracelular, da parede celular e dos polissacarídeos de armazenamento são discutidas no Capítulo 20.

14.1 Glicólise

Na **glicólise** (do grego *glykys*, “doce” ou “açúcar”, e *lysis*, “quebra”), uma molécula de glicose é degradada em uma série de reações catalisadas por enzimas, gerando duas moléculas do composto de três átomos de carbono, o piruvato. Durante as reações sequenciais da glicólise, parte da energia livre da glicose é conservada na forma de ATP e NADH. A glicólise foi a primeira via metabólica a ser elucidada e provavelmente seja a mais bem entendida. Desde a descoberta da fermentação, em 1897 por Eduard Buchner, em extratos de células de levedura, até a elucidação da via completa em leveduras (por Otto Warburg e Hans von Euler-Chelpin) e em músculo (por Gustav Embden e Otto Meyerhof) na década de 1930, as reações da glicólise em extratos de leveduras e de músculo foram o objetivo principal da pesquisa bioquímica. A mudança filosófica que acompanhou essas descobertas foi anunciada por Jacques Loeb em 1906:

Por meio da descoberta de Buchner, a biologia foi libertada de outro fragmento de misticismo. A cisão do açúcar em CO_2 e álcool não é mais o efeito de um “princípio vital”, mas sim a quebra do açúcar da cana pela invertase. A história desse problema é instrutiva, pois serve de alerta quanto a considerar problemas como além do nosso alcance porque ainda não tiveram uma solução.

O desenvolvimento de métodos de purificação de enzimas, a descoberta e o reconhecimento da importância de coenzimas, como o NAD, e a descoberta do crucial papel metabólico do ATP e de outros compostos fosforilados resultaram dos estudos da glicólise. Enzimas glicolíticas de muitas espécies foram purificadas e minuciosamente estudadas.



Hans von Euler-Chelpin,
1873–1964



Gustav Embden,
1874–1933



Otto Meyerhof,
1884–1951

A glicólise é uma via central quase universal do catabolismo da glicose, a via com o maior fluxo de carbono na maioria das células. A quebra glicolítica da glicose é a única fonte de energia metabólica em alguns tecidos e células de mamíferos (p. ex., eritrócitos, medula renal, cérebro e esperma). Alguns tecidos vegetais modificados para o armazenamento de amido (como os tubérculos da batata) e algumas plantas aquáticas (p. ex., agrião) derivam a maior parte de sua energia da glicólise; muitos microrganismos anaeróbios são totalmente dependentes da glicólise.

Fermentação é um termo geral para a degradação *anaeróbia* da glicose ou de outros nutrientes orgânicos para obtenção de energia, conservada como ATP. Como os organismos vivos surgiram inicialmente em uma atmosfera sem oxigênio, a quebra anaeróbia da glicose provavelmente seja o mais antigo mecanismo biológico de obtenção de energia a partir de moléculas orgânicas combustíveis. O sequenciamento do genoma de vários organismos revelou que algumas arqueobactérias e alguns microrganismos parasitas são deficientes em uma ou mais enzimas da glicólise, mas possuem as enzimas essenciais da via; provavelmente realizem formas variantes de glicólise. No curso da evolução, a sequência dessas reações químicas foi completamente conservada; as enzimas glicolíticas dos vertebrados são estreitamente similares, na sequência de aminoácidos e na estrutura tridimensional, às suas homólogas em levedura e no espinafre. A glicólise difere entre as espécies apenas nos detalhes de sua regulação e no destino metabólico subsequente do piruvato formado. Os princípios termodinâmicos e os tipos de mecanismos regulatórios que governam a glicólise são comuns a todas as vias do metabolismo celular. A via glicolítica, de importância central por si só, também pode servir de modelo para muitos aspectos das vias discutidas ao longo deste livro.

Antes de estudar cada etapa da via em seus detalhes, convém examinar a glicólise como um todo.

Uma visão geral: a glicólise tem duas fases

A quebra da glicose, formada por seis átomos de carbono, em duas moléculas de piruvato, cada uma com três carbonos, ocorre em 10 etapas, sendo que as primeiras 5 constituem a *fase preparatória* (**Figura 14-2a**). Nessas reações, a glicose é inicialmente fosforilada no grupo hidroxil ligado ao C-6 (etapa ❶). A D-glicose-6-fosfato assim formada é convertida a D-frutose-6-fosfato (etapa ❷), a qual é novamente fosforilada, desta vez em C-1, para formar D-frutose-1,6-bifosfato (etapa ❸). Nas duas reações de fosforilação, o ATP é o doador de grupos fosforil. Como todos os açúcares formados na glicólise são isômeros D, omite-se a designação D, exceto quando o objetivo é enfatizar sua estereoquímica.

A frutose-1,6-bifosfato é dividida em duas moléculas de três carbonos, a di-hidroxiacetona-fosfato e o gliceraldeído-3-fosfato (etapa ❹); essa é a etapa de “lise” que dá nome à via. A di-hidroxiacetona-fosfato é isomerizada a uma segun-

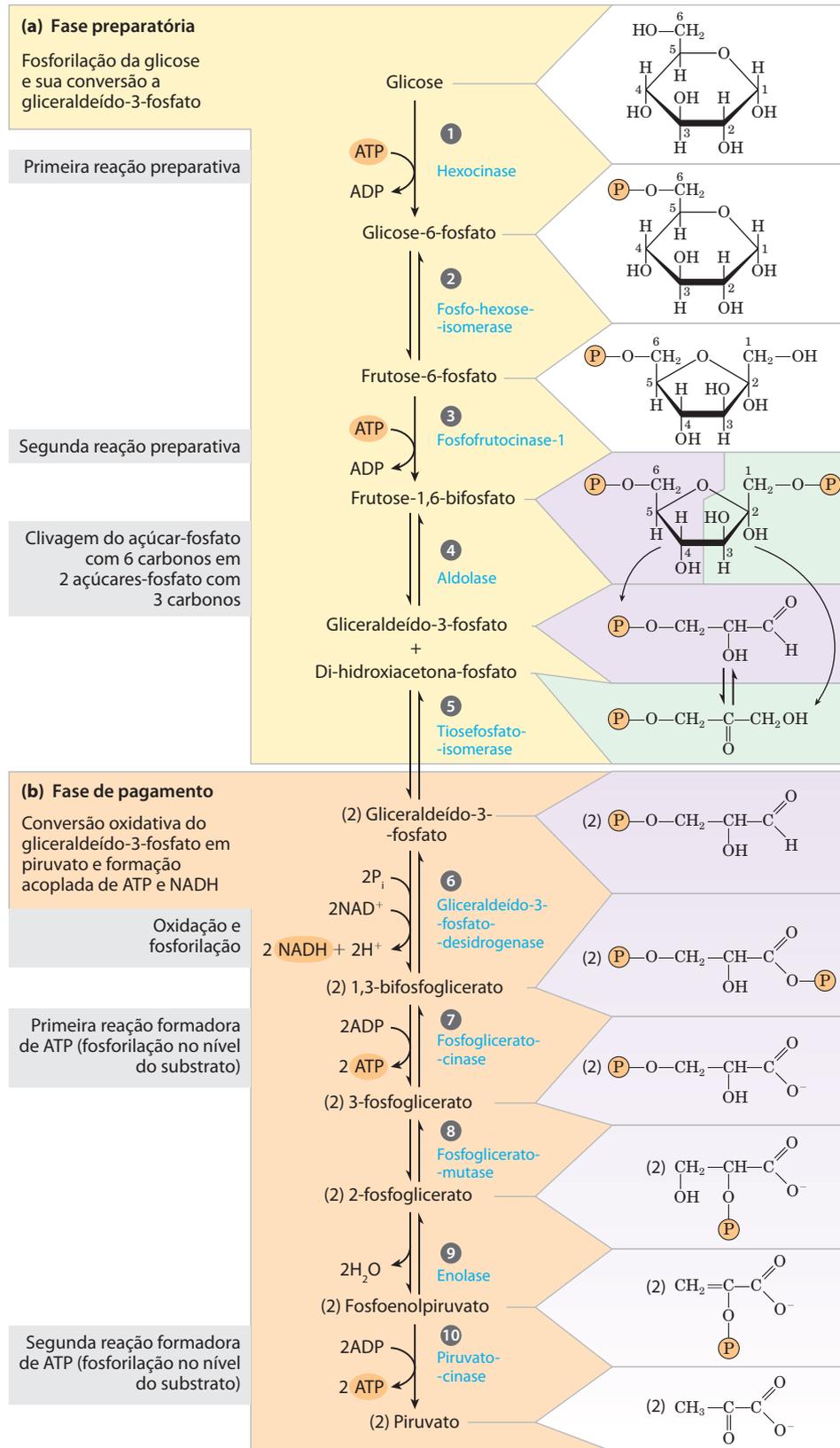


FIGURA 14-2 As duas fases da glicólise. Para cada molécula de glicose que passa pela fase preparatória **(a)**, duas moléculas de gliceraldeído-3-fosfato são formadas; as duas passam pela fase de pagamento **(b)**. O piruvato é o produto final da segunda fase da glicólise. Para cada molécula de glicose, dois ATP são consumidos na fase preparatória e quatro ATP são produzidos

na fase de pagamento, dando um rendimento líquido de dois ATP por molécula de glicose convertida em piruvato. As reações numeradas correspondem aos títulos numerados discutidos no texto. Lembre-se que cada grupo fosforil, representado aqui como **(P)**, possui duas cargas negativas (—PO_3^{2-}).

da molécula de gliceraldeído-3-fosfato (etapa ⑤), finalizando a primeira fase da glicólise. Note que duas moléculas de ATP são consumidas antes da clivagem da glicose em duas partes de três carbonos; haverá depois um bom retorno para esse investimento. Resumindo: na fase preparatória da glicólise, a energia do ATP é consumida, aumentando o conteúdo de energia livre dos intermediários, e as cadeias de carbono de todas as hexoses metabolizadas são convertidas a um produto comum, o gliceraldeído-3-fosfato.

O ganho de energia provém da *fase de pagamento* da glicólise (Figura 14-2b). Cada molécula de gliceraldeído-3-fosfato é oxidada e fosforilada por fosfato inorgânico (não por ATP) para formar 1,3-bisfosfoglicerato (etapa ⑥). Ocorre liberação de energia quando as duas moléculas de 1,3-bisfosfoglicerato são convertidas a duas moléculas de piruvato (etapas ⑦ a ⑩). Grande parte dessa energia é conservada pela fosforilação acoplada de quatro moléculas de ADP a ATP. O rendimento líquido são duas moléculas de ATP por molécula de glicose utilizada, já que duas moléculas de ATP foram consumidas na fase preparatória. A energia também é conservada na fase de pagamento com a formação de duas moléculas do transportador de elétrons NADH por molécula de glicose.

Nas reações seguintes da glicólise, três tipos de transformações químicas são particularmente notáveis: (1) a degradação do esqueleto carbônico da glicose para produzir piruvato; (2) a fosforilação de ADP a ATP pelos compostos com alto potencial de transferência de grupos fosforil, formados durante a glicólise; e (3) a transferência de um íon hidreto para o NAD^+ , formando NADH. A lógica química global da via está descrita na **Figura 14-3**.

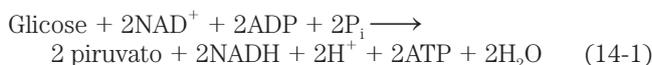
Destinos do piruvato. Com exceção de algumas variações interessantes entre as bactérias, o piruvato formado na glicólise é mais adiante metabolizado por três rotas catabólicas. Em organismos aeróbios ou em tecidos em condições aeróbias, a glicólise é apenas o primeiro estágio da degradação completa da glicose (**Figura 14-4**). O piruvato é oxidado, com a perda de seu grupo carboxil na forma de CO_2 , para gerar o grupo acetil da acetil-coenzima A; o grupo acetil é então completamente oxidado a CO_2 no ciclo do ácido cítrico (Capítulo 16). Os elétrons originados dessas oxidações são transferidos ao O_2 por uma cadeia de transportadores na mitocôndria, formando H_2O . A energia liberada nas reações de transferência de elétrons impulsiona a síntese de ATP na mitocôndria (Capítulo 19).

O segundo destino do piruvato é a sua redução a lactato por meio da **fermentação láctica**. Quando em contração vigorosa, o músculo esquelético trabalha em condições de baixa pressão de oxigênio (**hipoxia**), em que NADH não pode ser reoxidado a NAD^+ , mas NAD^+ é necessário como acceptor de elétron para a oxidação do piruvato. Sob essas condições, o piruvato é reduzido a lactato, recebendo os elétrons do NADH, dessa forma regenerando o NAD^+ necessário para continuar a glicólise. Certos tecidos e tipos celulares (p. ex., retina e eritrócitos) convertem glicose a lactato mesmo em condições aeróbias, e o lactato também é o produto da glicólise em condições anaeróbias em alguns microrganismos (Figura 14-4).

A terceira rota principal do catabolismo do piruvato leva à produção de etanol. Em alguns tecidos vegetais e em certos invertebrados, protistas e microrganismos como levedura da fabricação da cerveja e do pão, o piruvato é convertido, em hipoxia ou condições anaeróbias, em etanol e CO_2 , um processo chamado de **fermentação etanólica (alcoólica)** (Figura 14-4).

A oxidação do piruvato é um processo catabólico importante, mas o piruvato também tem destinos anabólicos. Ele pode, por exemplo, prover o esqueleto carbônico para a síntese do aminoácido alanina ou para a síntese de ácidos graxos. Essas reações anabólicas do piruvato serão retomadas em capítulos posteriores.

A formação de ATP e NADH acoplada à glicólise. Durante a glicólise, parte da energia da molécula de glicose é conservada na forma de ATP, enquanto a maior parte permanece no produto, o piruvato. A equação geral da glicólise é

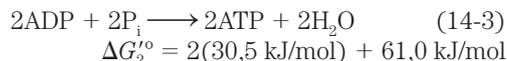


Para cada molécula de glicose degradada a piruvato, duas moléculas de ATP são geradas a partir de ADP e P_i , e duas moléculas de NADH são produzidas pela redução de NAD^+ . O acceptor de hidrogênio nessa reação é NAD^+ (ver Figura 13-24), ligado a uma estrutura de Rossmann como mostrado na Figura 13-25. A redução de NAD^+ ocorre pela transferência enzimática de um íon hidreto ($:\text{H}^-$) do grupo aldeído do gliceraldeído-3-fosfato para o anel de nicotinamida de NAD^+ , gerando a coenzima NADH reduzida. O outro átomo de hidrogênio da molécula de substrato é liberado para a solução como H^+ .

Agora, pode-se dividir a equação da glicólise em dois processos – a conversão de glicose a piruvato (exergônica):



e a formação de ATP a partir de ADP e P_i (endergônica):



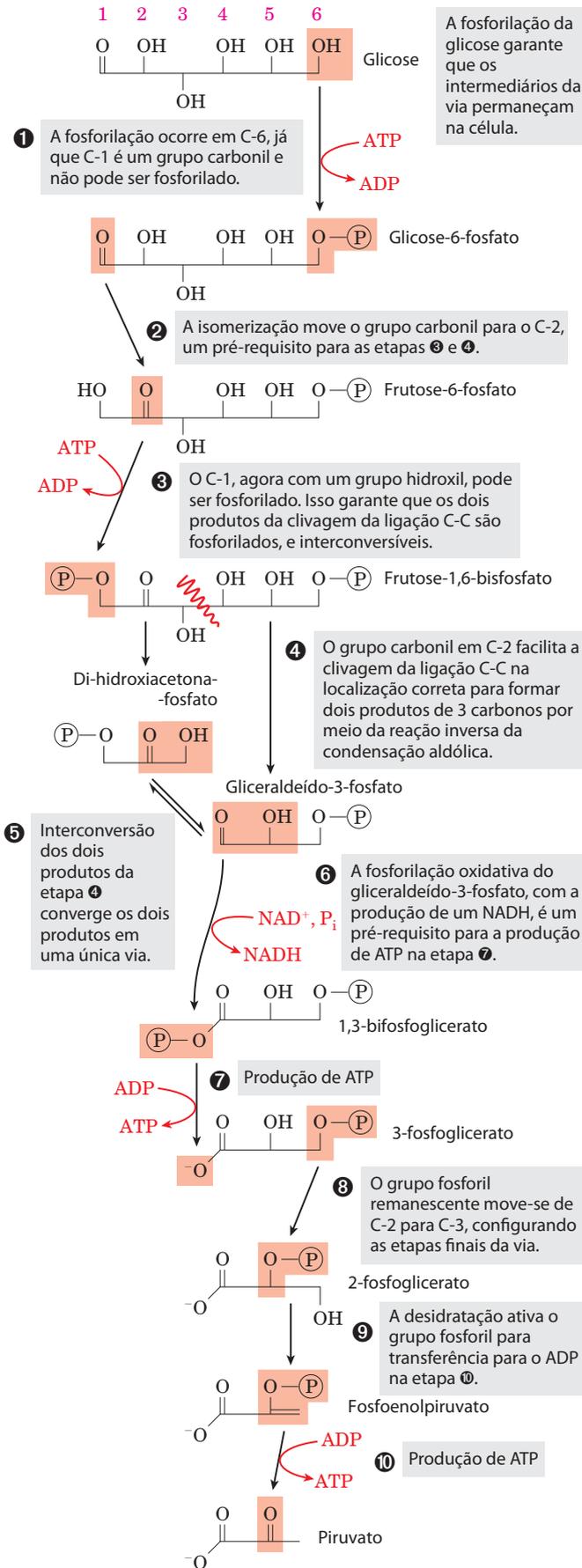
A soma das Equações 14-2 e 14-3 fornece a variação da energia livre padrão total da glicólise, ΔG_s° :

$$\Delta G_s^{\circ} = \Delta G_1^{\circ} + \Delta G_2^{\circ} = -146 \text{ kJ/mol} + 61 \text{ kJ/mol}$$

$$= -85 \text{ kJ/mol}$$

Sob condições-padrão e sob as condições intracelulares (não padrão), a glicólise é um processo essencialmente irreversível, conduzido até a conclusão por um grande decréscimo líquido de energia livre.

A energia remanescente do piruvato. A glicólise libera apenas uma pequena fração da energia total disponível na molécula de glicose; as duas moléculas de piruvato formadas pela glicólise ainda contêm a maior parte da energia potencial química existente na glicose, energia que pode ser extraída por reações oxidativas no ciclo do ácido cítrico (Capítulo 16) e na fosforilação oxidativa (Capítulo 19).



A importância dos intermediários fosforilados. Cada um dos nove intermediários glicolíticos entre a glicose e o piruvato são fosforilados (Figura 14-2). Os grupos fosforil parecem ter três funções.

1. Como a membrana plasmática geralmente não tem transportadores para açúcares fosforilados, os intermediários glicolíticos fosforilados não podem sair da célula. Depois da fosforilação inicial, não é necessária energia adicional para reter os intermediários fosforilados na célula, apesar da grande diferença entre as suas concentrações intra e extracelular.
2. Os grupos fosforil são componentes essenciais na conservação enzimática da energia metabólica. A energia liberada na quebra das ligações de fosfoanidrido (como aquelas do ATP) é parcialmente conservada na formação de ésteres de fosfato, como glicose-6-fosfato. Compostos de fosfato de alta energia formados na glicólise (1,3-bisfosfoglicerato e fosfoenolpiruvato) doam grupos fosforil ao ADP para formar ATP.
3. A energia de ligação resultante do acoplamento de grupos fosfato ao sítio ativo de enzimas reduz a energia de ativação e aumenta a especificidade das reações enzimáticas (Capítulo 6). Os grupamentos fosfato do ADP, do ATP e dos intermediários glicolíticos formam complexos com Mg^{2+} , e os sítios de ligação ao substrato de muitas enzimas glicolíticas são específicos para esses complexos. A maior parte das enzimas da glicólise requer Mg^{2+} para sua atividade.

FIGURA 14-3 A lógica química da via glicolítica. Nessa versão simplificada da via, cada molécula está representada na forma linear, com os átomos de carbono e hidrogênio não descritos, para salientar as transformações químicas. Lembre-se de que glicose e frutose estão presentes principalmente em suas formas cíclicas quando em solução, apesar de estarem transitoriamente na forma linear nos sítios ativos de algumas enzimas dessa via.

A fase preparatória, etapas **1** a **5**, converte a glicose, com 6 átomos de carbonos, em duas unidades de 3 átomos de carbonos, cada uma delas fosforilada. A oxidação das unidades de 3 átomos de carbonos é iniciada na fase de pagamento. Para produzir piruvato, as etapas químicas devem ocorrer na ordem mostrada.

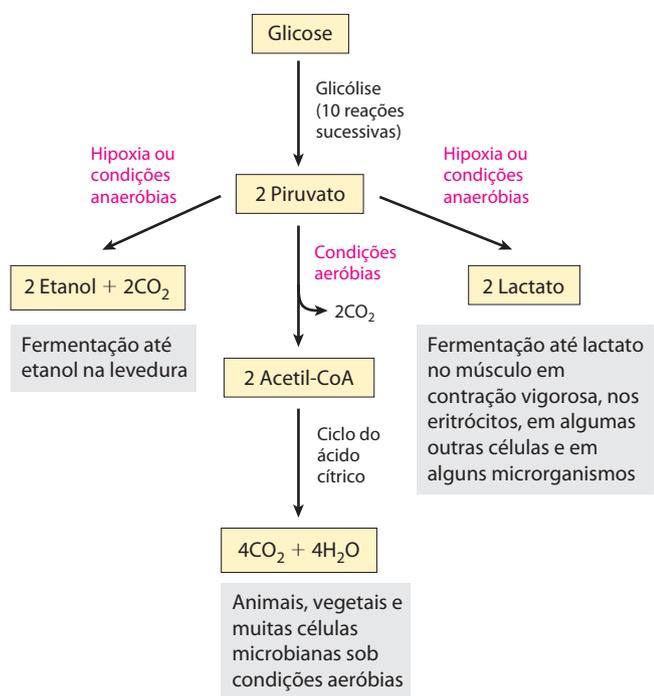


FIGURA 14-4 Os três destinos catabólicos possíveis do piruvato formado na glicólise. O piruvato também serve como precursor em muitas reações anabólicas, não mostradas aqui.

A fase preparatória da glicólise requer ATP

Na fase preparatória da glicólise, duas moléculas de ATP são consumidas, e a cadeia carbônica da hexose é clivada em duas trioses-fosfato. A compreensão de que as hexoses *fosforiladas* são intermediárias na glicólise foi conseguida lentamente e por um feliz acaso. Em 1906, Arthur Harden e William Young testaram suas hipóteses de que inibidores de enzimas proteolíticas estabilizariam as enzimas da fermentação da glicose em extratos de leveduras. Adicionaram soro sanguíneo (conhecido por conter inibidores de enzimas proteolíticas) a extratos de levedura e observaram o estímulo previsto do metabolismo da glicose. No entanto, em um experimento de controle realizado com a intenção de demonstrar que ferver o soro destrói a atividade estimulante, eles descobriram que o soro fervido foi tão efetivo em es-



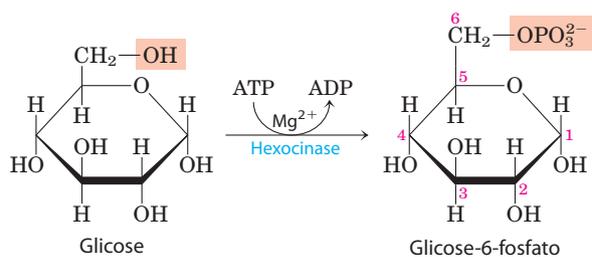
Arthur Harden,
1865-1940



William Young,
1878-1942

timular a glicólise quanto o soro não fervido. Exames cuidadosos e testes do conteúdo do soro fervido revelaram que o fosfato inorgânico foi o responsável pela estimulação. Harden e Young logo perceberam que a glicose adicionada ao seu extrato de levedura era convertida a hexose-bifosfato (o “éster de Harden-Young”, identificado como frutose-1,6-bifosfato). Esse foi o início de uma longa série de investigações sobre o papel dos ésteres orgânicos e anidridos de fosfato em bioquímica, que levaram ao nosso entendimento atual do papel central da transferência de grupos fosforil em biologia.

1 A fosforilação da glicose. Na primeira etapa da glicólise, a glicose é ativada para as reações subsequentes, pela fosforilação em C-6 formando **glicose-6-fosfato**, com ATP como doador de grupo fosforil:



$$\Delta G^{\circ} = -16,7 \text{ kJ/mol}$$

Esta reação, irreversível em condições intracelulares, é catalisada pela **hexocinase**. Lembre-se de que cinases são enzimas que catalisam a transferência do grupo fosforil terminal do ATP a um aceptor nucleofílico (ver Figura 13-20). As cinases são uma subclasse das transferases (ver Tabela 6-3). O aceptor no caso da hexocinase é uma hexose, geralmente a D-glicose, embora a hexocinase também catalise a fosforilação de outras hexoses comuns, como D-frutose e D-manose, em alguns tecidos.

A hexocinase, como muitas outras cinases, requer Mg^{2+} para sua atividade, já que o verdadeiro substrato da enzima não é ATP^{4-} , mas sim o complexo MgATP^{2-} (ver Figura 13-12). O Mg^{2+} protege as cargas negativas do grupo fosforil do ATP, tornando o átomo de fósforo terminal um alvo mais fácil para o ataque nucleofílico por um grupo —OH da glicose. A hexocinase sofre uma profunda mudança na sua conformação, um ajuste induzido, quando ela se liga à molécula de glicose; dois domínios da proteína aproximam-se um do outro cerca de 8 Å quando o ATP se liga (ver Figura 6-25). Esse movimento aproxima o ATP de uma molécula de glicose também ligada à enzima e bloqueia o acesso de água (do solvente), que, caso contrário, poderia entrar no sítio ativo e atacar (hidrolisar) as ligações fosfoanidridas do ATP. Assim como as outras nove enzimas da glicólise, a hexocinase é uma proteína solúvel e citosólica.

A hexocinase está presente em praticamente todos os organismos. O genoma humano codifica quatro hexocinases diferentes (I a IV), e todas elas catalisam a mesma reação. Duas ou mais enzimas que catalisam a mesma reação, mas são codificadas por genes diferentes, são chamadas de **isoenzimas** (ver Quadro 15-2). Uma das isoenzimas

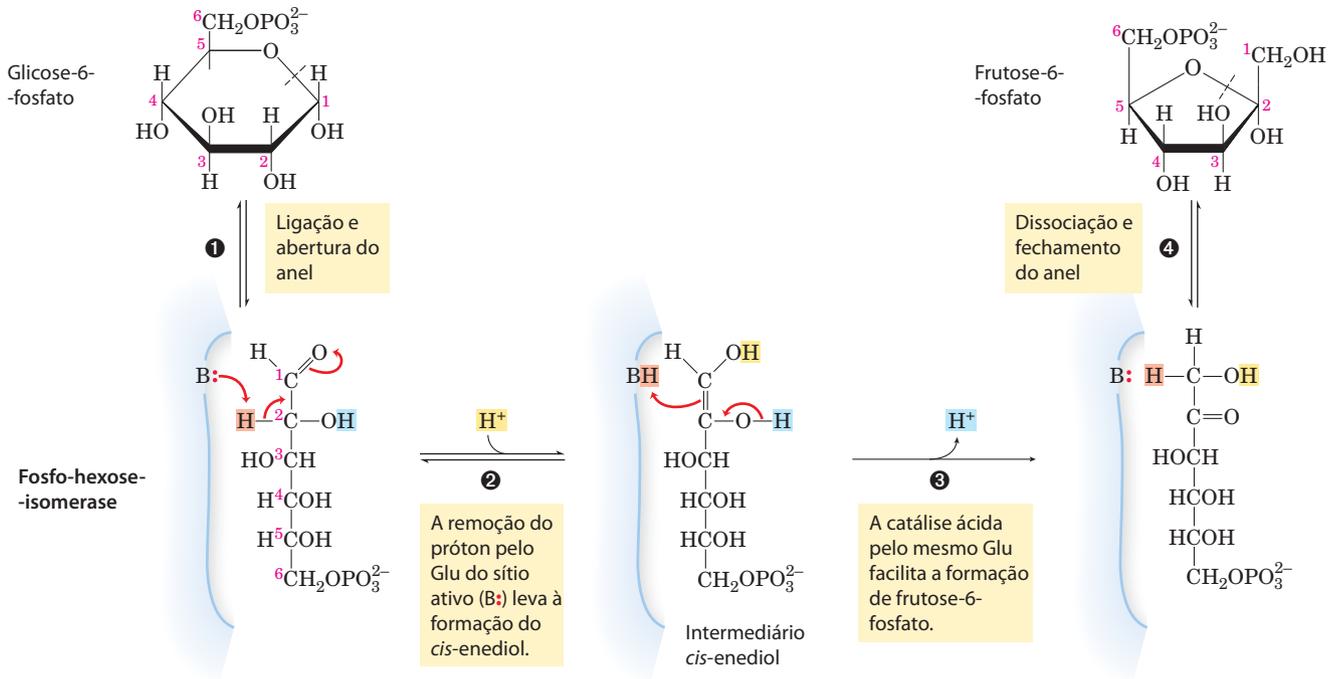
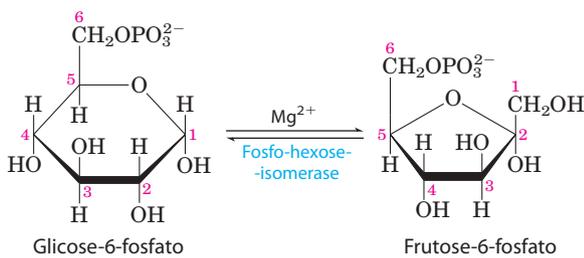


FIGURA 14-5 A reação da fosfo-hexose-isomerase. As reações de abertura e fechamento do anel (etapas 1 e 4) são catalisadas por um resíduo de His do sítio ativo, por mecanismos omitidos aqui para simplificação. O próton (em vermelho-claro) inicialmente em C-2 torna-se mais facilmente removível pela retirada do elétron pelo grupo carbonil adjacente e pelos

grupos hidroxilas vizinhos. Após sua transferência do C-2 para o resíduo de Glu do sítio ativo (um ácido fraco), o próton é livremente trocado com a solução ao redor; ou seja, o próton removido de C-2 na etapa 2 não é necessariamente o mesmo adicionado ao C-1 na etapa 4. **Mecanismo da fosfo-hexose isomerase**

presente em hepatócitos, a hexocinase IV (também chamada de glicocinase), difere de outras formas de hexocinase com relação à cinética e às propriedades regulatórias, com consequências fisiológicas importantes, descritas na Seção 15.3.

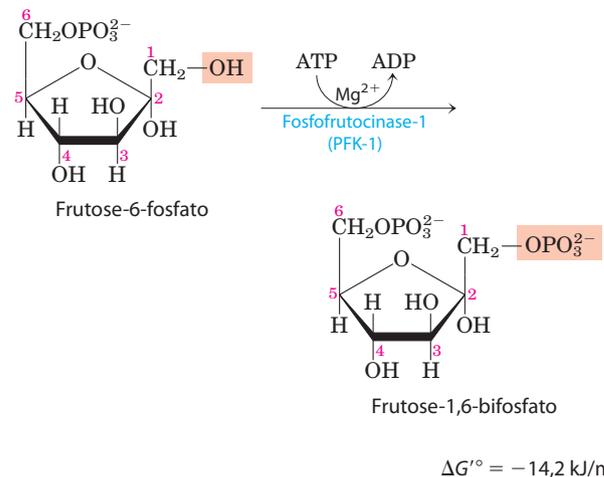
2 A conversão de glicose-6-fosfato a frutose-6-fosfato. A enzima **fosfo-hexose-isomerase (fosfoglicose-isomerase)** catalisa a isomerização reversível da glicose-6-fosfato (aldose) a frutose-6-fosfato (cetose):



O mecanismo dessa reação envolve um intermediário enediol (Figura 14-5). A reação ocorre facilmente em ambos os sentidos, como previsto pela variação relativamente pequena da energia livre padrão.

3 A fosforilação da frutose-6-fosfato a frutose-1,6-bifosfato. Na segunda das duas reações preparatórias da glicólise, a enzima **fosfofrutocinase-1 (PFK-1)** catalisa a transferência

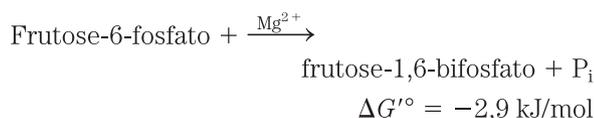
de um grupo fosforil do ATP para a frutose-6-fosfato, formando **frutose-1,6-bifosfato**:



CONVENÇÃO-CHAVE: Compostos com dois grupos fosfato ou fosforil acoplados em diferentes posições da molécula são chamados de *bifosfatos* (ou compostos *bifosfo*); por exemplo, frutose-1,6-bifosfato e 1,3-bifosfoglicerato. Compostos com dois fosfatos ligados como grupo pirofosforil são chamados de *difosfatos*; por exemplo adenosina-difosfato (ADP). Regras similares são aplicadas para nomear *trifosfatos* (como inositol-1,4,5-trifosfato; ver p. 450) e *trifosfatos* (como adenosina-trifosfato, ATP). ■

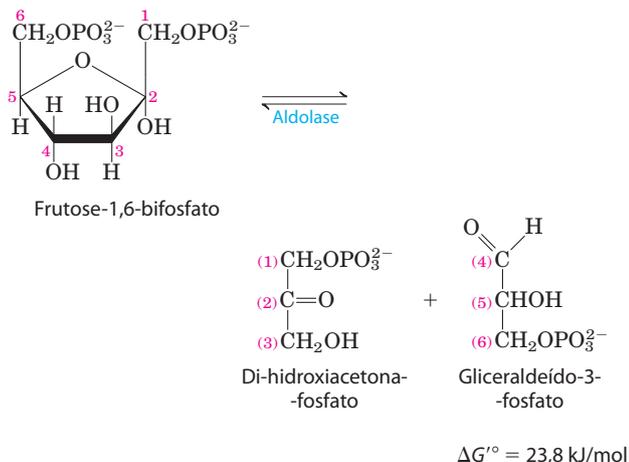
A enzima que forma a frutose-1,6-bifosfato é chamada de PFK-1, para distingui-la de uma segunda enzima (PFK-2), que catalisa a formação de frutose-2,6-bifosfato a partir de frutose-6-fosfato em uma via distinta (os papéis da PFK-2 e da frutose-2,6-bifosfato são discutidos no Capítulo 15). A reação com PFK-1 é essencialmente irreversível em condições celulares, e essa é a primeira etapa “comprometida” da via glicolítica; a glicose-6-fosfato e a frutose-6-fosfato têm outros destinos possíveis, mas a frutose-1,6-bifosfato é direcionada para a glicólise.

Certos protistas e bactérias têm, e talvez todos os vegetais tenham, uma fosfofrutocinase que utiliza pirofosfato (PP_i), não ATP, como o grupo fosforil doador na síntese de frutose-1,6-bifosfato:



A fosfofrutocinase-1 está sujeita a uma complexa modulação alostérica; sua atividade estará aumentada sempre que o suprimento de ATP da célula estiver prejudicado ou quando ocorrer acúmulo dos produtos da degradação de ATP, ADP e AMP (particularmente o último). A enzima estará inibida sempre que a célula tiver muito ATP e estiver bem suprida por outro combustível, como ácidos graxos. Em alguns organismos, a frutose-2,6-bifosfato (não confundir com o produto da reação com PFK-1, a frutose-1,6-bifosfato) é um ativador alostérico potente de PFK-1. A ribulose-5-fosfato, intermediário da via das pentoses-fosfato, discutido posteriormente neste capítulo, também ativa indiretamente a fosfofrutocinase. As múltiplas esferas de regulação dessa etapa da glicólise serão discutidas em detalhe no Capítulo 15.

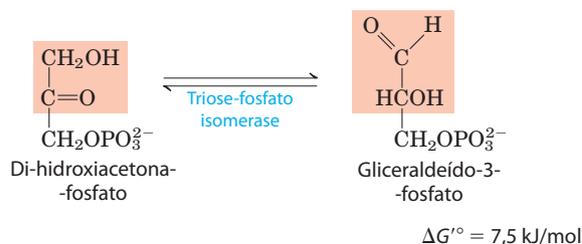
4 A clivagem da frutose-1,6-bifosfato. A enzima **frutose-1,6-bifosfato-aldolase**, muitas vezes chamada simplesmente de **aldolase**, catalisa uma condensação aldólica reversível (ver Figura 13-4). A frutose-1,6-bifosfato é clivada para a formação de duas trioses-fosfato diferentes, a aldose **gliceraldeído-3-fosfato** e a cetose **di-hidroxiacetona-fosfato**:



Existem duas classes de aldolases. As aldolases da classe I, encontradas em animais e vegetais, utilizam o mecanismo mostrado na **Figura 14-6**. As enzimas da classe II, de fungos e bactérias, não formam a base de Schiff intermediária. Em vez disso, um íon zinco no sítio ativo está coordenado com o oxigênio do carbonil em C-2; o Zn^{2+} polariza o grupo carbonil e estabiliza o intermediário enolato gerado na etapa de clivagem da ligação C—C (ver Figura 6-17).

Embora a reação da aldolase tenha uma variação da energia livre padrão fortemente positiva no sentido de clivar a frutose-1,6-bifosfato, nas baixas concentrações dos reagentes presentes na célula a variação real da energia livre é pequena, e a reação da aldolase é prontamente reversível. Será visto posteriormente que a aldolase age no sentido reverso durante o processo de gliconeogênese (ver Figura 14-17).

5 A interconversão das trioses-fosfato. Apenas uma das duas trioses-fosfato formada pela aldolase, o gliceraldeído-3-fosfato, pode ser diretamente degradada nas etapas subsequentes da glicólise. O outro produto, a di-hidroxiacetona-fosfato, é rápida e reversivelmente convertida a gliceraldeído-3-fosfato pela quinta enzima da sequência glicolítica, a **triose-fosfato-isomerase**:



O mecanismo de reação é similar ao da reação promovida pela fosfo-hexose-isomerase na etapa 2 da glicólise (Figura 14-5). Depois da reação da triose-fosfato-isomerase, os átomos de carbono derivados de C-1, C-2 e C-3 da glicose inicial são quimicamente indistinguíveis de C-6, C-5 e C-4, respectivamente (**Figura 14-7**); as duas “metades” da glicose geram gliceraldeído-3-fosfato.

Essa reação completa a fase preparatória da glicólise. A molécula de hexose foi fosforilada em C-1 e C-6 e então clivada para formar duas moléculas de gliceraldeído-3-fosfato.

A fase de pagamento da glicólise produz ATP e NADH

A fase de pagamento da glicólise (Figura 14-2b) inclui as etapas de fosforilação que conservam energia, nas quais parte da energia química da molécula da glicose é conservada na forma de ATP e NADH. Lembre-se de que uma molécula de glicose rende duas moléculas de gliceraldeído-3-fosfato, e as duas metades da molécula de glicose seguem a mesma via na segunda fase da glicólise. A conversão das duas moléculas de gliceraldeído-3-fosfato a duas moléculas de piruvato é acompanhada pela formação de quatro moléculas de ATP a partir de ADP. No entanto, o rendimento

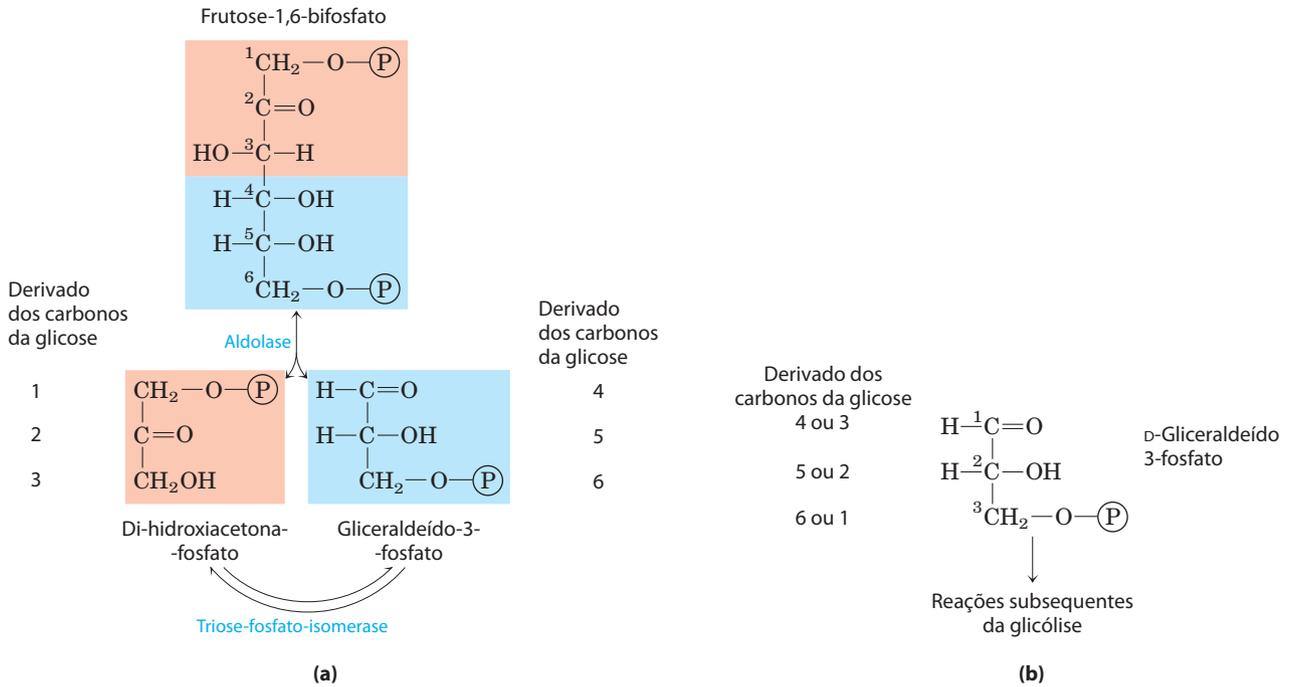


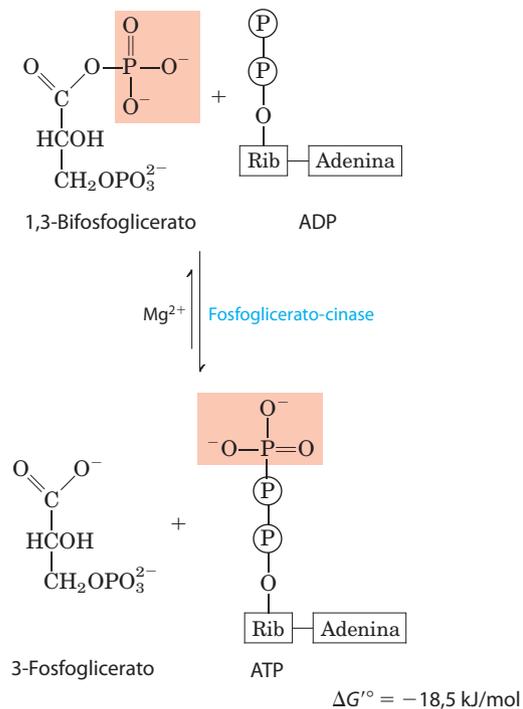
FIGURA 14-7 Destino dos carbonos da glicose na formação de gliceraldeído-3-fosfato. (a) A origem dos carbonos nos dois compostos de três carbonos nas reações da aldolase e da triose-fosfato-isomerase. O produto final das duas reações é gliceraldeído-3-fosfato (duas moléculas). (b) Cada carbono do gliceraldeído-3-fosfato é derivado de um ou outro dos dois átomos de carbono específicos da glicose. Note que a numeração dos átomos de carbono do gliceraldeído-3-fosfato difere daquela da glicose da qual ele é derivado. No gliceraldeído-3-fosfato, o grupo funcional mais complexo (o grupo carbonil) é especificado como C-1. Esta troca de numeração é importante para interpretar os experimentos com glicose em que um único carbono é marcado com radioisótopo. (Ver Problemas 6 e 9 no final deste capítulo.)

Esta é a primeira das duas reações de conservação de energia da glicólise que no final leva à formação de ATP. O grupo aldeído do gliceraldeído-3-fosfato é oxidado, não em um grupamento carboxil livre, mas em um anidrido de ácido carboxílico com ácido fosfórico. Esse tipo de anidrido, chamado de **acil-fosfato**, tem energia livre padrão de hidrólise muito alta ($\Delta G'^{\circ} = -49,3 \text{ kJ/mol}$; ver Figura 13-14, Tabela 13-6). A maior parte da energia livre de oxidação do grupo aldeído do gliceraldeído-3-fosfato é conservada pela formação do grupamento acil-fosfato no C-1 do 1,3-bisfosfoglicerato.

O gliceraldeído-3-fosfato é covalentemente ligado à desidrogenase durante a reação (Figura 14-8). O grupo aldeído do gliceraldeído-3-fosfato reage com o grupamento —SH de um resíduo de Cys essencial no sítio ativo, em reação análoga à formação de um hemiacetal (ver Figura 7-5), nesse caso produzindo um *tio*-hemiacetal. A reação do resíduo de Cys essencial com um metal pesado como o Hg^{2+} inibe a enzima irreversivelmente.

A quantidade de NAD^+ em uma célula ($\leq 10^{-5} \text{ M}$) é muito menor que a quantidade de glicose metabolizada em poucos minutos. A via glicolítica pararia se o NADH formado nesta etapa da glicólise não fosse continuamente reoxidado e reciclado. A discussão sobre a reciclagem de NAD^+ será retomada posteriormente neste capítulo.

7 A transferência de grupo fosforil de 1,3-bisfosfoglicerato a ADP. A enzima **fosfoglicerato-cinase** transfere o grupo fosforil de alta energia do grupo carboxil do 1,3-bisfosfoglicerato para o ADP, formando ATP e **3-fosfoglicerato**:



Observe que a fosfoglicerato-cinase tem esse nome devido à reação inversa, na qual ela transfere um grupo fosforil do ATP para o 3-fosfoglicerato. Como todas as enzimas, ela catalisa a reação em ambos os sentidos. Essa enzima age no sentido sugerido pelo seu nome durante a gliconeogênese (ver

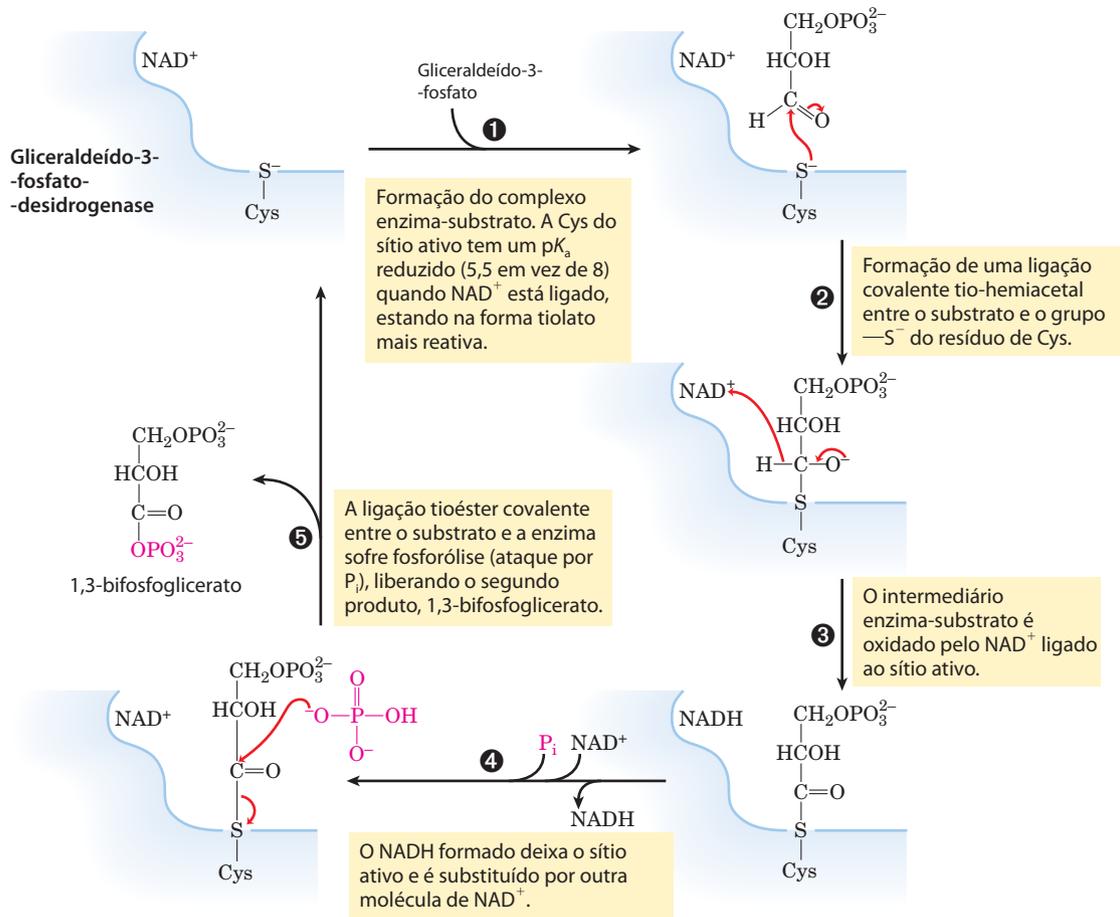
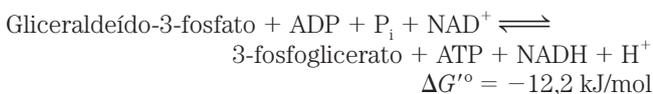


FIGURA 14-8 A reação da gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase.

Figura 14-17) e durante a fixação de CO_2 fotossintético (ver Figura 20-4). Na glicólise, a reação que ela catalisa prossegue como mostrado anteriormente, no sentido da síntese de ATP.

As etapas 6 e 7 da glicólise constituem um processo de acoplamento de energia em que 1,3-bifosfoglicerato é um intermediário comum; ele é formado na primeira reação (que seria endergônica se isolada) e seu grupo acil-fosfato é transferido ao ADP na segunda reação (que é extremamente exergônica). A soma dessas duas reações é



Portanto, a reação global é exergônica.

Lembre-se do Capítulo 13 de que a variação de energia livre real, ΔG , é determinada pela variação de energia livre padrão, $\Delta G'^{\circ}$, e pela lei da ação das massas, Q , que é a relação [produtos]/[reagentes] (ver Equação 13-4). Para a etapa 6:

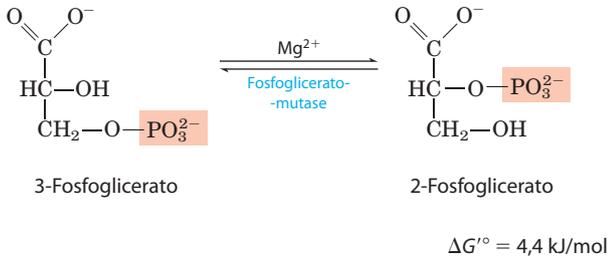
$$\Delta G = \Delta G'^{\circ} + RT \ln Q \\ = \Delta G'^{\circ} + RT \ln \frac{[\text{1,3-bifosfoglicerato}][\text{NADH}]}{[\text{gliceraldeído-3-fosfato}][P_i][\text{NAD}^+]}$$

Note que a $[H^+]$ não está incluída em Q . Em cálculos bioquímicos, a $[H^+]$ é considerada uma constante (10^{-7} M), e essa constante está incluída na definição de $\Delta G'^{\circ}$ (p. 507).

Quando a lei da ação das massas é menor que 1,0, seu logaritmo natural tem sinal negativo. No citosol, onde essas reações ocorrem, a razão $[\text{NADH}]/[\text{NAD}^+]$ é pequena, contribuindo para um baixo valor de Q . A etapa 7, por consumir o produto da etapa 6 (1,3-bifosfoglicerato), mantém a $[\text{1,3-bifosfoglicerato}]$ relativamente baixa no equilíbrio e assim mantém Q pequeno para o processo global de acoplamento de energia. Quando Q é pequeno, a contribuição de $\ln Q$ pode tornar ΔG fortemente negativo. Essa é simplesmente outra forma de mostrar como as duas reações, as etapas 6 e 7, são acopladas por meio de um intermediário comum.

O resultado do acoplamento dessas reações, ambas reversíveis em condições celulares, é que a energia liberada da oxidação de um aldeído a um grupo carboxilato é conservada pela formação acoplada de ATP a partir de ADP e P_i . A formação de ATP pela transferência do grupo fosforil de um substrato, como o 1,3-bifosfoglicerato, é chamada de **fosforilação no nível do substrato**, para distinguir esse mecanismo daquele da **fosforilação ligada à respiração**. As fosforilações no nível do substrato envolvem enzimas solúveis e intermediários químicos (nesse caso, 1,3-bifosfoglicerato). As fosforilações ligadas à respiração, por outro lado, envolvem enzimas ligadas à membrana e gradientes transmembrana de prótons (Capítulo 19).

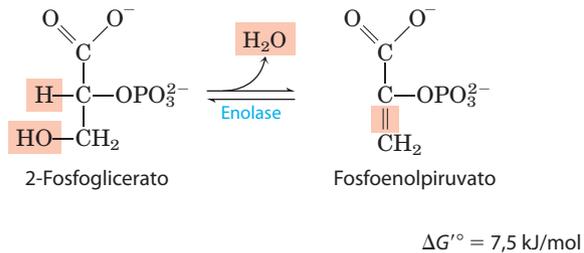
⊗ **A conversão de 3-fosfoglicerato a 2-fosfoglicerato.** A enzima **fosfoglicerato-mutase** catalisa o deslocamento reversível do grupo fosforil entre C-2 e C-3 do glicerato; Mg^{2+} é essencial para essa reação:



A reação ocorre em duas etapas (Figura 14-9). O grupo fosforil inicialmente acoplado a um resíduo de His da mutase é transferido a um grupo hidroxil em C-2 do 3-fosfoglice-

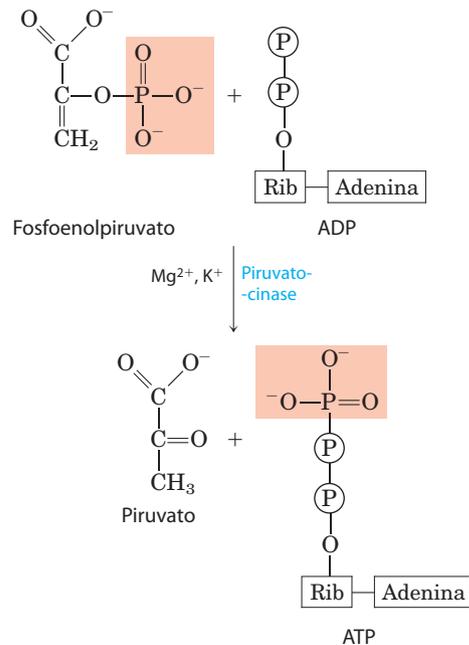
rato, formando 2,3-bifosfoglicerato (2,3-BPG). O grupo fosforil em C-3 do 2,3-BPG é então transferido para o mesmo resíduo de His, produzindo 2-fosfoglicerato e regenerando a enzima fosforilada. A fosfoglicerato-mutase é inicialmente fosforilada pela transferência de um fosforil de 2,3-BPG, necessário em pequenas quantidades para iniciar o ciclo catalítico e é continuamente regenerado por esse ciclo.

⊗ **A desidratação de 2-fosfoglicerato a fosfoenlpiruvato.** Na segunda reação glicolítica que gera um composto com alto potencial de transferência de grupamento fosforil (a primeira foi a etapa ⊗), a **enolase** promove a remoção reversível de uma molécula de água do 2-fosfoglicerato para gerar **fosfoenlpiruvato (PEP)**:

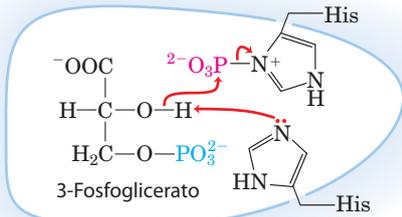


O mecanismo da reação da enolase envolve um intermediário enólico estabilizado por Mg^{2+} (ver Figura 6-26). A reação converte um composto com relativamente baixo potencial de transferência de grupo fosforil (o $\Delta G'^{\circ}$ para a hidrólise de 2-fosfoglicerato é $-17,6 \text{ kJ/mol}$) para um com alto potencial de transferência de grupo fosforil (o $\Delta G'^{\circ}$ para a hidrólise de PEP é $-61,9 \text{ kJ/mol}$) (ver Figura 13-13, Tabela 13-6).

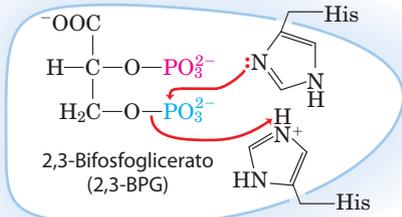
⊗ **A transferência de um grupo fosforil do fosfoenlpiruvato para ADP.** A última etapa na glicólise é a transferência do grupo fosforil do fosfoenlpiruvato ao ADP, catalisada pela **piruvato-cinase**, que exige K^+ e Mg^{2+} ou Mn^{2+} :



Fosfoglicerato-mutase



1 Ocorre a transferência de um grupo fosforil entre uma His do sítio ativo e o C-2 (OH) do substrato. Uma segunda His do sítio ativo age como um catalisador geral básico.



2 A transferência de grupo fosforil de C-3 do substrato para a primeira His do sítio ativo. A segunda His do sítio ativo age como um catalisador geral ácido.

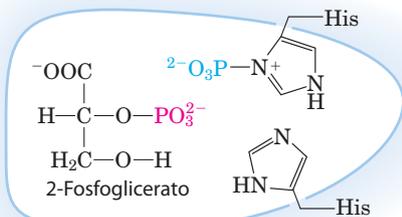
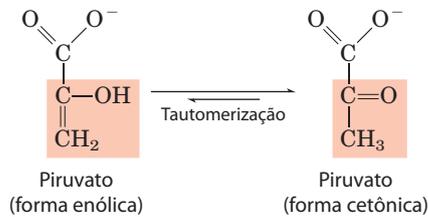


FIGURA 14-9 A reação da fosfoglicerato-mutase.

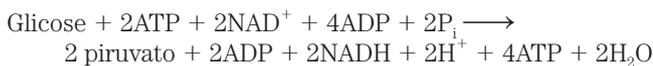
Nesta fosforilação no nível do substrato, o **piruvato** resultante aparece inicialmente em sua forma enólica, depois tautomeriza de modo rápido e não enzimático à sua forma cetônica, que predomina em pH 7,0:



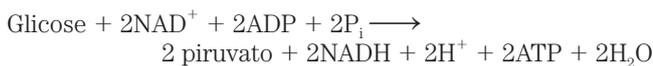
A reação global tem grande variação negativa da energia livre padrão, devido, em grande parte, à conversão espontânea da forma enólica do piruvato à forma cetônica (ver Figura 13-13). Aproximadamente metade da energia liberada pela hidrólise de PEP ($\Delta G'^{\circ} = -61,9 \text{ kJ/mol}$) é conservada na formação da ligação fosfoanidrido do ATP ($\Delta G'^{\circ} = -30,5 \text{ kJ/mol}$), e o restante ($-31,4 \text{ kJ/mol}$) constitui uma grande força que empurra a reação no sentido da síntese de ATP. A regulação da piruvato-cinase será discutida no Capítulo 15.

O balanço geral mostra um ganho líquido de ATP

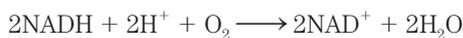
Agora, pode-se construir um balanço da glicólise para demonstrar (1) o destino do esqueleto de carbono da glicose, (2) a entrada de P_i e ADP e a saída de ATP, e (3) o caminho dos elétrons nas reações de oxidação-redução. O lado esquerdo da equação que se segue mostra todas as entradas de ATP, NAD^+ , ADP e P_i (ver Figura 14-2), e o lado direito mostra todas as saídas (lembre-se de que cada molécula de glicose rende duas moléculas de piruvato):



Cancelando os termos comuns nos dois lados da equação, é obtida a equação global para a glicólise em condições aeróbias:



As duas moléculas de NADH formadas pela glicólise no citosol são, em condições aeróbias, reoxidadas a NAD^+ pela transferência de seus elétrons para a cadeia de transporte de elétrons, que em células eucarióticas está localizada na mitocôndria. A cadeia de transporte de elétrons conduz esses elétrons para o seu destino final, o O_2 :



A transferência de elétrons do NADH para o O_2 na mitocôndria fornece a energia para a síntese de ATP pela fosforilação ligada à respiração (Capítulo 19).

No processo glicolítico em geral, uma molécula de glicose é convertida a duas moléculas de piruvato (a via do carbono). Duas moléculas de ADP e duas de P_i são convertidas a duas moléculas de ATP (a via dos grupos fosforil). Quatro elétrons, na forma de íons hidreto, são transferidos de duas

moléculas de gliceraldeído-3-fosfato para duas de NAD^+ (a via dos elétrons).

A glicólise é precisamente regulada

Durante seus estudos sobre a fermentação da glicose por leveduras, Louis Pasteur descobriu que tanto a velocidade quanto a quantidade total de glicose consumida é muitas vezes maior em condições anaeróbias do que em aeróbias. Estudos posteriores com músculo confirmaram a grande variação nas taxas da glicólise anaeróbia e aeróbia. As bases bioquímicas para esse “efeito Pasteur” agora estão claras. O rendimento de ATP da glicólise em condições anaeróbias (2 ATP por molécula de glicose) é muito menor do que aquele a partir da oxidação completa da glicose a CO_2 em condições aeróbias (30 ou 32 ATP por glicose; ver Tabela 19-5). Portanto, para produzir a mesma quantidade de ATP, é necessário consumir cerca de 15 vezes mais glicose em condições anaeróbias do que aeróbias.

O fluxo de glicose pela via glicolítica é regulado para manter os níveis de ATP praticamente constantes (assim como quantidades adequadas dos intermediários glicolíticos que possuem papéis biossintéticos). O ajuste necessário na velocidade da glicólise é alcançado pela interação complexa entre o consumo de ATP, a regeneração de NADH e a regulação alostérica de algumas enzimas glicolíticas – incluindo a hexocinase, a PFK-1 e a piruvato-cinase – e as flutuações segundo a segundo das concentrações dos metabólitos-chave que refletem o equilíbrio celular entre a produção e o consumo de ATP. Em uma escala de tempo um pouco maior, a glicólise é regulada pelos hormônios glucagon, adrenalina e insulina e por variações na expressão de genes de várias enzimas glicolíticas. Um caso especialmente interessante de regulação anormal da glicólise é visto no câncer. O bioquímico alemão Otto Warburg foi o primeiro, em 1928, a observar que tumores de praticamente todos os tipos possuem velocidade da glicólise muito maior que a de tecidos normais, *mesmo quando oxigênio está disponível*. Esse “efeito Warburg” é a base de vários métodos de detecção e tratamento do câncer (Quadro 14-1).

Warburg é considerado o bioquímico mais importante da primeira metade do século XX. Ele fez contribuições inspi-



Otto Warburg, 1883-1970

radoras em muitas outras áreas da bioquímica, incluindo respiração, fotossíntese e enzimologia do metabolismo intermediário. Iniciando em 1930, Warburg e seus colaboradores purificaram e cristalizaram sete enzimas da glicólise. A equipe de Warburg desenvolveu uma fermenta experimental que revolucionou os estudos bioquímicos do metabolismo oxidativo: o manômetro de Warburg, que mede diretamente o consumo de oxigênio dos tecidos por monitorar variações no volume de gás, e assim permite medidas quantitativas de qualquer enzima com atividade oxidativa.

QUADRO 14-1  **MEDICINA** **Alta taxa da glicólise em tumores sugere alvos para quimioterapia e facilita o diagnóstico**

Em muitos tipos de tumores encontrados em humanos e em outros animais, a captação e a degradação de glicose ocorrem cerca de 10 vezes mais rápido do que em tecidos normais, não cancerosos. A maior parte das células tumorais cresce em condições de hipoxia (i.e., com suprimento de oxigênio limitado) devido à falta, pelo menos inicialmente, das redes capilares que suprem com oxigênio suficiente. Células cancerosas localizadas a mais de 100 a 200 μm dos capilares mais próximos dependem somente da glicose (sem oxidação adicional de piruvato) para a maior parte da produção de ATP. O rendimento de energia (2 ATP por glicose) é muito menor do que o que pode ser obtido pela oxidação completa do piruvato a CO_2 na mitocôndria (cerca de 30 ATP por glicose; Capítulo 19). Portanto, para fazer a mesma quantidade de ATP, as células tumorais devem captar muito mais glicose do que as células normais, convertendo-a a piruvato e depois a lactato enquanto reciclam NADH. É provável que as duas etapas iniciais na transformação de uma célula normal em uma célula tumoral sejam (1) a mudança para a dependência da glicólise na produção de ATP, e (2) o desenvolvimento de tolerância a pH baixo no fluido extracelular (causado pela liberação do produto final da glicólise, o ácido láctico). Em geral, quanto mais agressivo é o tumor, maior é a taxa de glicólise.

Esse aumento da glicólise é alcançado ao menos em parte pelo aumento da síntese das enzimas glicolíticas e dos transportadores da membrana plasmática GLUT1 e GLUT3 (ver Tabela 11-3) que carregam a glicose para a célula. (Lembre-se de que GLUT1 e GLUT3 não são dependentes de insulina.) O **fator de transcrição induzível por hipoxia (HIF-1, de hypoxia-inducible transcription factor)** é uma proteína que regula a síntese de mRNA, estimulando a produção de pelo menos oito enzimas glicolíticas e dos transportadores de glicose, quando a oferta de glicose está limitada (Figura Q-1). Com a alta velocidade de glicólise resultante, as células tumorais podem sobreviver em condições anaeróbicas até que o suprimento de vasos sanguíneos alcance o tumor em crescimento. Outra proteína induzida por HIF-1 é o hormônio peptídico VEGF (fator de crescimento vascular endotelial, de *vascular endothelial growth factor*), que esti-

mula o crescimento dos vasos sanguíneos (angiogênese) em direção do tumor.

Existe também a evidência de que a proteína supressora de tumor p53, mutada na maior parte dos tipos de câncer (ver Seção 12.12), controla a síntese e a montagem das proteínas mitocondriais essenciais para o transporte dos elétrons ao O_2 . As células com p53 mutada são deficientes no transporte de elétrons na mitocôndria e são forçadas a depender mais significativamente da glicólise para a produção de ATP (Figura Q-1).

Essa dependência maior dos tumores pela glicólise em comparação aos tecidos normais sugere uma possibilidade de terapia anticâncer: inibidores da glicólise poderiam atingir e matar tumores por esgotar seu suprimento de ATP. Três inibidores da hexocinase mostram-se promissores como agentes quimioterápicos: 2-desoxiglicose,

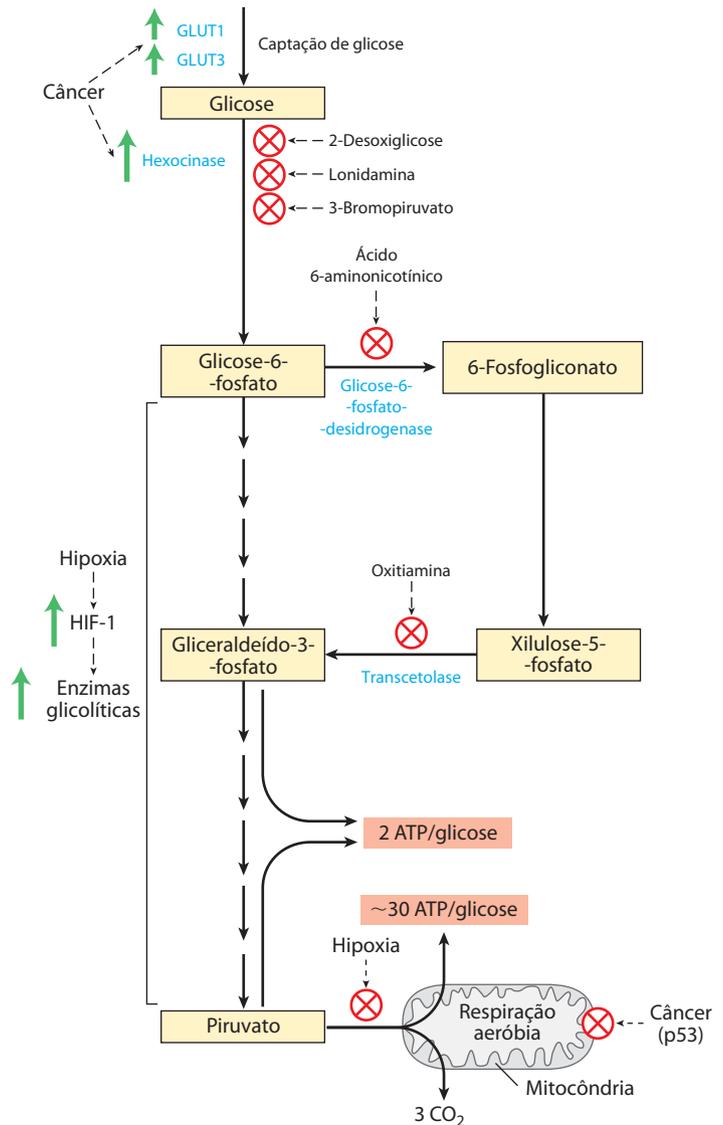


FIGURA Q-1 O metabolismo anaeróbico da glicose em células tumorais rende muito menos ATP (2 por glicose) do que a oxidação completa a CO_2 que ocorre em células saudáveis em condições aeróbicas (~30 ATP por glicose), de forma que uma célula tumoral deve consumir muito mais glicose para produzir a mesma quantidade de ATP. Os transportadores de glicose e a maior parte das enzimas glicolíticas estão superexpressos em tumores. Compostos que inibem as enzimas hexocinase, glicose-6-fosfato-desidrogenase ou transcetolase bloqueiam a produção de ATP pela glicólise, privando assim a célula cancerosa de energia e matando-a.

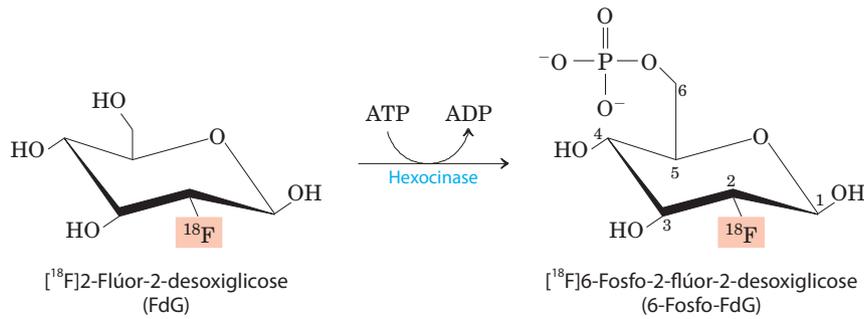


FIGURA Q-2 A fosforilação da 2-flúor-2-desoxiglicose marcada com ¹⁸F pela hexocinase mantém o FdG na célula (como 6-fosfo-FdG), onde sua presença pode ser detectada por emissão de pósitrons do ¹⁸F.

lonidamina e 3-bromopiruvato. Por impedir a formação de glicose-6-fosfato, esses compostos não apenas privam as células tumorais de ATP glicoliticamente produzido, mas também evitam a formação de pentoses-fosfato pela via das pentoses-fosfato, que também inicia com glicose-6-fosfato. Na ausência de pentoses-fosfato, a célula não consegue sintetizar os nucleotídeos essenciais para a síntese de DNA e de RNA, e assim não consegue crescer nem se dividir. Outro fármaco anticâncer já aprovado para o uso clínico é o imatinibe (Gleevec), descrito no Quadro 12-5. Ele inibe uma tirosina-cinase específica, impedindo a síntese aumentada da hexocinase, que normalmente é ativada por essa cinase específica. O análogo de tiamina oxitiamina, que bloqueia a ação de uma enzima tipo transcetolase que converte a xilulose-5-fosfato a gliceraldeído-3-fosfato (Figura Q-1), está em triagem pré-clínica como fármaco antitumoral.

A alta taxa glicolítica em células tumorais também tem utilidade para diagnósticos. As taxas relativas em que os tecidos captam glicose podem ser usadas em al-

guns casos para identificar a localização de tumores. Em tomografia por emissão de pósitrons (PET, de *positron emission tomography*), injeta-se nos pacientes um análogo inofensivo da glicose isotopicamente marcado que é captado, mas não metabolizado pelos tecidos. O composto marcado é a 2-flúor-2-desoxiglicose (FdG), em que o grupo hidroxil em C-2 da glicose é substituído por ¹⁸F (Figura Q-2). Esse composto é captado pelos transportadores GLUT, sendo um bom substrato para a hexocinase, mas não pode ser convertido ao intermediário enediol na reação da fosfo-hexose-isomerase (ver Figura 14-5) e conseqüentemente se acumula como 6-fosfo-FdG. A extensão do seu acúmulo depende da sua taxa de captação e fosforilação, que, como citado anteriormente, costuma ser 10 ou mais vezes maior em tumores do que em tecidos normais. O decaimento do ¹⁸F libera pósitrons (dois por átomo de ¹⁸F) que podem ser detectados por uma série de detectores sensíveis localizados ao redor do corpo, o que permite a localização acurada de 6-fosfo-FdG acumulado (Figura Q-3).

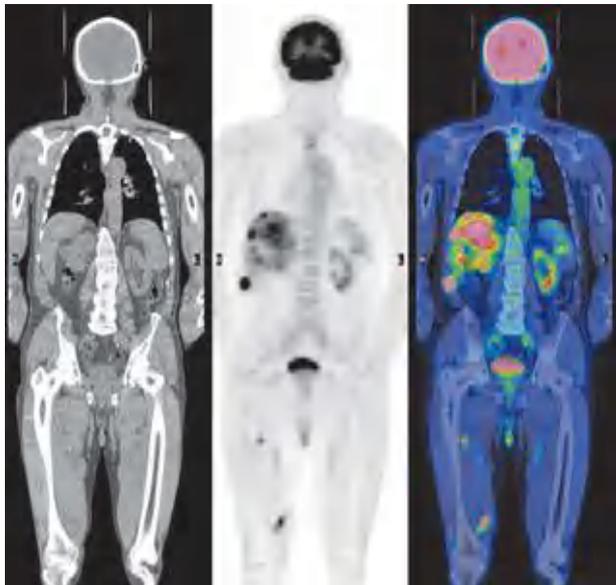


FIGURA Q-3 Detecção de tecidos cancerosos por tomografia por emissão de pósitrons (PET). O paciente adulto do sexo masculino sofreu remoção cirúrgica de um câncer de pele primário (melanoma maligno). A imagem à esquerda, obtida do corpo todo por tomografia computadorizada (varredura por TC), mostra a localização dos tecidos moles e ossos. O painel central é uma varredura por PET após o paciente ter ingerido 2-flúor-2-desoxiglicose (FdG) marcada com ¹⁸F. Os pontos escuros indicam regiões de alta utilização da glicose. Como esperado, o cérebro e a bexiga estão fortemente marcados – o cérebro porque utiliza a maior parte da glicose consumida pelo corpo, e a bexiga porque o 6-fosfo-FdG marcado com ¹⁸F é excretado na urina. Quando a intensidade da marcação na varredura por PET é traduzida em cor falsa (a intensidade aumenta de verde para amarelo para vermelho) e a imagem é sobreposta à varredura por TC, a imagem resultante (direita) revela câncer nos ossos da coluna vertebral superior, no fígado e em algumas regiões musculares, todos resultantes da propagação do melanoma maligno primário.

Treinado em química de carboidratos no laboratório do notável Emil Fischer (que recebeu o Prêmio Nobel em Química em 1902), Warburg ganhou o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina em 1931. Vários dos estudantes e colaboradores de Warburg também foram agraciados com Prêmios Nobel: Otto Meyerhof em 1922, Hans Krebs e Fritz Lipmann em 1953 e Hugo Theorell em 1955. O laboratório de Meyerhof forneceu treinamento para Lipmann e para muitos outros ganhadores do Prêmio Nobel: Severo Ochoa (1959), Andre Lwoff (1965) e George Wald (1967).

A captação da glicose é deficiente no diabetes melito tipo 1

 O metabolismo de glicose em mamíferos é limitado pela taxa de captação da glicose pelas células e sua fosforilação pela hexocinase. A captação da glicose do sangue é mediada pela família GLUT de transportadores de glicose (ver Tabela 11-3). Os transportadores nos hepatócitos (GLUT1, GLUT2) e nos neurônios cerebrais (GLUT3) estão sempre presentes nas membranas plasmáticas. Por outro lado, o principal transportador de glicose nas células do músculo esquelético, músculo cardíaco e tecido adiposo (GLUT4) está armazenado em pequenas vesículas intracelulares e se desloca para a membrana plasmática apenas em resposta a um sinal de insulina (**Figura 14-10**). Esse mecanismo de sinalização da insulina foi discutido no Capítulo 12 (ver Figura 12-16). Portanto, em músculo esquelético, coração e tecido adiposo, a captação e o metabolismo da glicose dependem da liberação normal de insulina pelas células β pancreáticas em resposta à quantidade elevada de glicose no sangue (ver Figura 23-26).

Os indivíduos com diabetes melito tipo 1 (também chamado de diabetes dependente de insulina) têm pouquíssimas células β e são incapazes de liberar insulina suficiente para desencadear a captação de glicose pelas células do músculo esquelético, do coração ou do tecido adiposo. Assim, após uma refeição contendo carboidratos, a glicose se acumula a níveis anormalmente altos no sangue, condição conhecida como hiperglicemia. Incapazes de captar glicose, o músculo e o tecido adiposo utilizam os ácidos graxos armazenados nos triacilgliceróis como seu principal combustível. No fígado, a acetil-CoA derivada da degradação desses ácidos graxos é convertida a “corpos cetônicos” – acetoacetato e β -hidroxibutirato – que são exportados e levados a outros tecidos para serem utilizados como combustível (Capítulo 17). Esses compostos são especialmente críticos para o cérebro, que utiliza os corpos cetônicos como combustível alternativo quando glicose está indisponível. (Os ácidos graxos não conseguem atravessar a barreira hematoencefálica e, por isso, não servem de combustível para os neurônios do cérebro.)

Em pacientes com diabetes tipo 1 não tratados, a superprodução de acetoacetato e β -hidroxibutirato leva a seu acúmulo no sangue, e a consequente redução do pH sanguíneo leva à **cetoacidose**, uma condição potencialmente letal. A administração de insulina reverte esta sequência de eventos: GLUT4 se desloca para a membrana plasmática dos hepató-

citos e adipócitos, a glicose é captada e fosforilada por essas células, e o nível de glicose no sangue decresce, reduzindo potencialmente a produção de corpos cetônicos.

O diabetes melito tem efeitos profundos no metabolismo de carboidratos e lipídeos. Esse tópico será retomado no Capítulo 23, após considerar o metabolismo de lipídeos (Capítulos 17 e 21). ■

RESUMO 14.1 Glicólise

- ▶ A glicólise é uma via quase universal pela qual uma molécula de glicose é oxidada a duas moléculas de piruvato, com energia conservada na forma de ATP e NADH.
- ▶ As 10 enzimas glicolíticas estão no citosol, e os 10 intermediários são compostos fosforilados de três ou seis carbonos.
- ▶ Na fase preparatória da glicólise, ATP é consumido para a conversão de glicose em frutose-1,6-bifosfato. A ligação entre C-3 e C-4 é então clivada para gerar duas moléculas de triose-fosfato.
- ▶ Na fase de pagamento, cada uma das duas moléculas de gliceraldeído-3-fosfato derivada da glicose sofre oxidação em C-1; a energia dessa reação de oxidação é conservada na forma de um NADH e dois ATP, por triose-fosfato oxidada. A equação para o processo global é



- ▶ A glicólise é rigidamente regulada de forma coordenada com outras vias geradoras de energia para garantir um suprimento constante de ATP.

▶ No diabetes tipo 1, a captação deficiente de glicose pelo músculo e tecido adiposo tem efeitos profundos sobre o metabolismo de carboidratos e gorduras.

Término leitura básica

14.2 Vias alimentadoras da glicólise

Muitos carboidratos, além da glicose, encontram seus destinos catabólicos na glicólise, após serem transformados em um dos intermediários glicolíticos. Os mais significativos são os polissacarídeos de armazenamento, glicogênio e amido, contidos nas células (endógenos) ou obtidos da dieta; os dissacarídeos maltose, lactose, trealose e sacarose; e os monossacarídeos frutose, manose e galactose (**Figura 14-11**).

Os polissacarídeos e os dissacarídeos da dieta sofrem hidrólise a monossacarídeos

Para a maioria dos seres humanos, o amido é a principal fonte de carboidratos na dieta (Figura 14-11). A digestão inicia na boca, onde a **α -amilase** salivar hidrolisa as ligações glicosídicas internas ($\alpha 1 \rightarrow 4$) do amido, produzindo fragmentos polissacarídicos curtos ou oligossacarídeos. (Note que nessa reação de *hidrólise*, a água e não P_i é a espécie atacante.) No estômago, a α -amilase salivar é inativada pelo pH baixo, mas uma segunda forma de α -amilase, secretada pelo pâncreas no intestino delgado,

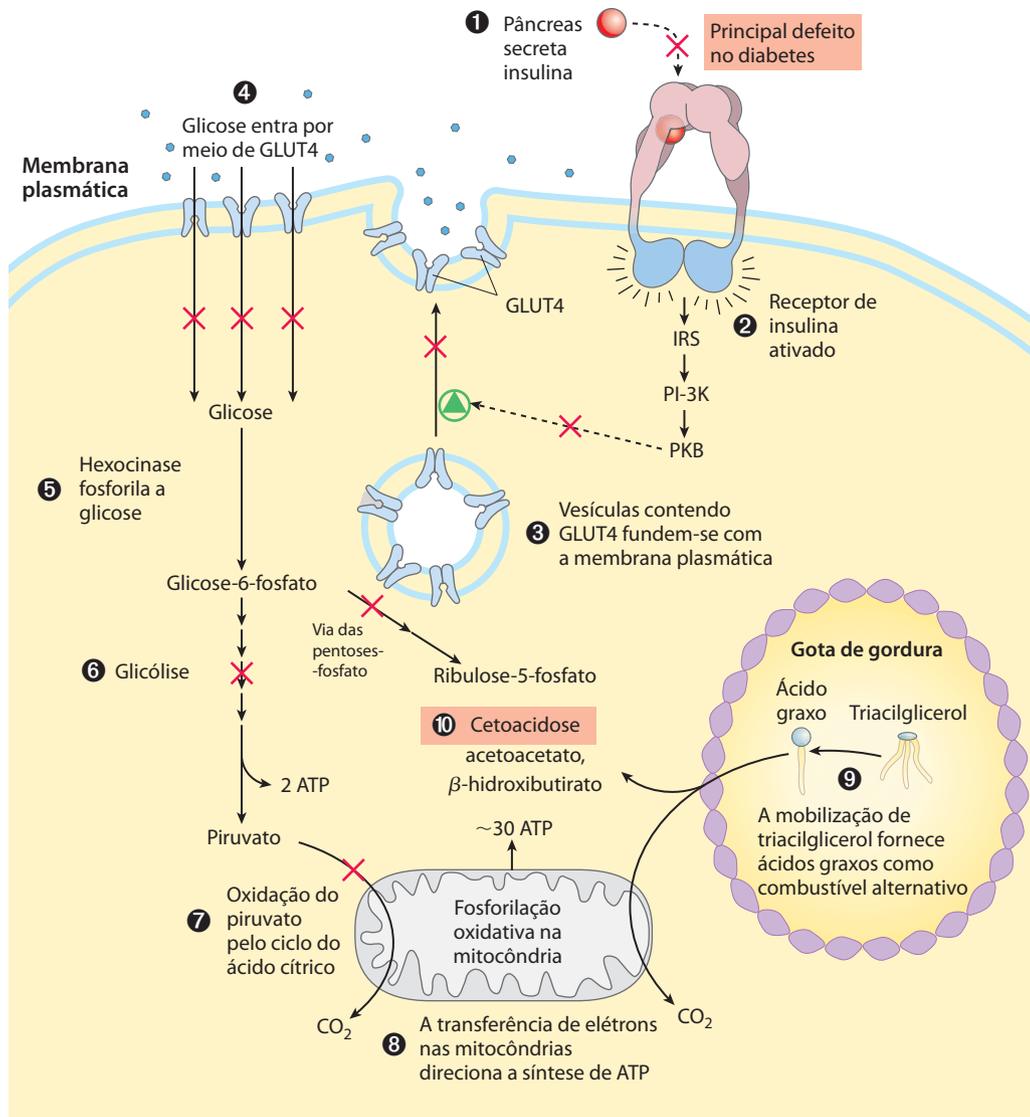


FIGURA 14-10 Efeito do diabetes tipo 1 sobre o metabolismo dos carboidratos e das gorduras em um adipócito. Normalmente, a insulina desencadeia a inserção de transportadores GLUT4 na membrana plasmática pela fusão de vesículas contendo GLUT4 com a membrana, permitindo a captação de glicose do sangue. Quando os níveis de insulina diminuem no sangue, GLUT4 é ressequstrado em vesículas por endocitose. No diabetes melito tipo 1 (dependente de insulina), a inserção de GLUT4 nas membranas, assim como outros processos normalmente estimulados por insulina, estão inibidos como indicado por X. A deficiência de insulina impede a captação de glicose por GLUT4; como consequência, as células

são privadas de glicose, enquanto ela está elevada na corrente sanguínea. Sem glicose para o suprimento de energia, os adipócitos degradam triacilgliceróis estocados em gotas de gordura e fornecem os ácidos graxos resultantes para outros tecidos para a produção mitocondrial de ATP. Dois subprodutos da oxidação dos ácidos graxos acumulam-se no fígado (acetoacetato e β-hidroxibutirato, ver p. 686) e são liberados na corrente sanguínea, fornecendo combustível para o cérebro, mas também diminuindo o pH do sangue, causando cetoacidose. A mesma sequência de eventos ocorre no músculo, exceto que os miócitos não estocam triacilgliceróis, mas captam os ácidos graxos que são liberados na corrente sanguínea pelos adipócitos.

continua o processo de degradação. A α-amilase pancreática gera principalmente maltose e maltotriose (os di e trissacarídeos de glicose) e oligossacarídeos chamados de dextrinas-limite, fragmentos de amilopectina contendo pontos de ramificação (α1→6). A maltose e as dextrinas são degradadas até glicose por enzimas do epitélio intestinal com borda em escova (as microvilosidades das células epiteliais do intestino, que aumentam muito a área da superfície intestinal). O glicogênio da dieta tem

essencialmente a mesma estrutura do amido, e sua digestão segue a mesma via.

Como foi visto no Capítulo 7, a maioria dos animais não pode digerir celulose devido à falta da enzima celulase, que cliva as ligações glicosídicas (β1→4) da celulose. Em animais ruminantes, o estômago estendido inclui uma câmara onde microrganismos simbióticos que produzem celulase degradam celulose em moléculas de glicose. Esses microrganismos utilizam a glicose resultante por meio de fermen-

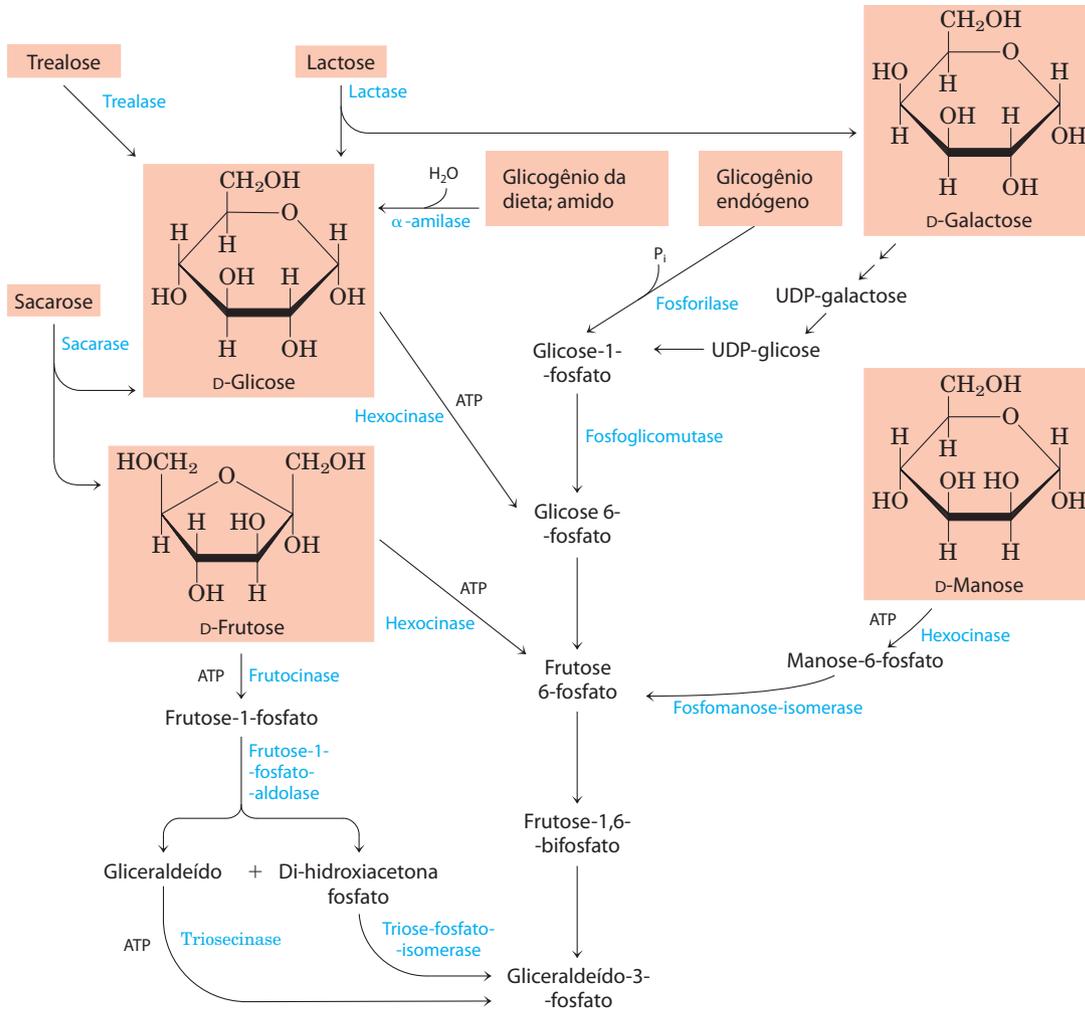


FIGURA 14-11 Entrada de glicogênio, amido, dissacarídeos e hexoses da dieta no estágio preparatório da glicólise.

tação anaeróbia, produzindo grandes quantidades de propionato. Esse propionato serve como material de partida para a gliconeogênese, que gera a maior parte da lactose do leite.

O glicogênio endógeno e o amido são degradados por fosforólise

Os estoques de glicogênio em tecidos animais (principalmente no fígado e no músculo esquelético), em microrganismos ou em tecidos vegetais podem ser mobilizados, para o uso da mesma célula, por uma reação *fosfolítica* catalisada pela **glicogênio-fosforilase** (**amido-fosforilase** em vegetais) (**Figura 14-12**). Essas enzimas catalisam o ataque por P_i sobre a ligação glicosídica (α1→4) que une os dois últimos resíduos de glicose na extremidade não redutora, gerando glicose-1-fosfato e um polímero com uma unidade de glicose a menos. A *fosforólise* preserva parte da energia da ligação glicosídica do éster-fosfato da glicose-1-fosfato. A glicogênio-fosforilase (ou amido-fosforilase) age repetidamente até alcançar um ponto de ramificação

(α1→6) (ver Figura 7-13), onde cessa sua ação. Uma **enzima de desramificação** remove as ramificações. Os mecanismos e o controle da degradação de glicogênio são descritos em maior detalhe no Capítulo 15.

A glicose-1-fosfato produzida pela glicogênio-fosforilase é convertida a glicose-6-fosfato pela **fosfoglicomutase**, que catalisa a reação reversível:



A fosfoglicomutase utiliza basicamente o mesmo mecanismo que a fosfoglicerato-mutase (Figura 14-9): ambas envolvem um intermediário bifosfato, e a enzima é transitoriamente fosforilada em cada ciclo catalítico. O nome geral **mutase** é dado a enzimas que catalisam a transferência de um grupo funcional de uma posição para outra, na mesma molécula. As mutases são uma subclasse das **isomerases**, enzimas que interconvertem estereoisômeros ou isômeros estruturais ou de posição (ver Tabela 6-3). A glicose-6-fosfato formada na reação da fosfoglicomutase pode entrar na glicólise ou em outra via, como a via das pentoses-fosfato, descrita na Seção 14.5.

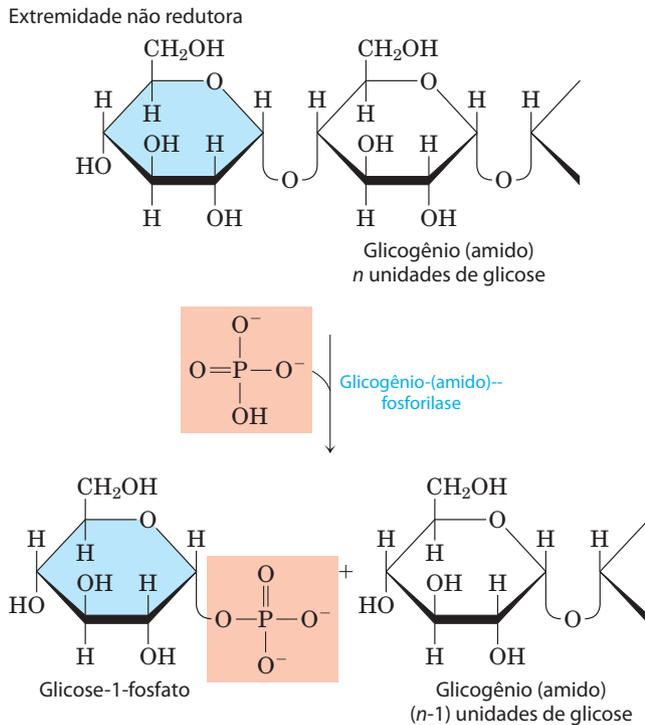


FIGURA 14-12 Degradação do glicogênio intracelular pela glicogênio-fosforilase. A enzima catalisa o ataque pelo fosfato inorgânico (em cor salmão) sobre o resíduo glicosil terminal (em azul) na extremidade não redutora de uma molécula de glicogênio, liberando glicose-1-fosfato e formando uma molécula de glicogênio com um resíduo de glicose a menos. A reação é uma *fosforólise* (não hidrólise).

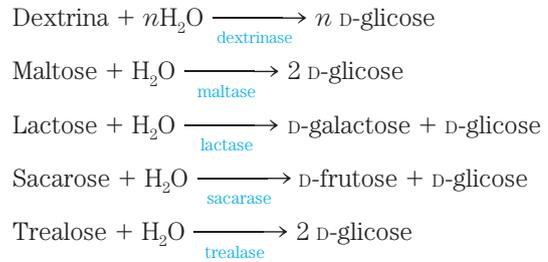
PROBLEMA RESOLVIDO 14-1 Economia de energia para a quebra do glicogênio por fosforólise

Calcule a economia de energia (em moléculas de ATP por monômeros de glicose) obtida pela quebra do glicogênio por *fosforólise* em vez de *hidrólise* para iniciar o processo de glicólise.

Solução: A fosforólise produz uma glicose fosforilada (glicose-1-fosfato), que é então convertida a glicose-6-fosfato – sem gasto da energia celular (1 ATP) necessária para a formação de glicose-6-fosfato a partir de glicose livre. Portanto, é consumido apenas 1 ATP por monômero de glicose na fase preparatória, em comparação com 2 ATP consumidos quando a glicólise inicia com glicose livre. Consequentemente, a célula ganha 3 ATP por monômero de glicose (4 ATP produzidos na fase de pagamento menos 1 ATP usado na fase preparatória), em vez de 2 – uma economia de 1 ATP por monômero de glicose.

A quebra de polissacarídeos da dieta, como o glicogênio e o amido, no trato gastrointestinal por fosforólise em vez de hidrólise não produziria ganho de energia: açúcares fosforilados não são transportados para dentro das células que revestem o intestino, devendo primeiro ser desfosforilados a açúcar livre.

Os dissacarídeos devem ser hidrolisados a monossacarídeos antes de entrar na célula. Dissacarídeos intestinais e dextrinas são hidrolisados por enzimas acopladas à superfície externa das células epiteliais intestinais:



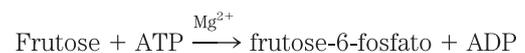
Os monossacarídeos assim formados são transportados ativamente para as células epiteliais (ver Figura 11-43), em seguida passam para o sangue e são transportados para vários tecidos, onde são fosforilados e entram na sequência glicolítica.



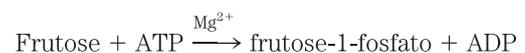
A **intolerância à lactose**, comum entre adultos na maior parte das populações humanas, exceto aquelas originárias do norte da Europa e alguns países da África, é devida ao desaparecimento, após a infância, da maior parte ou de toda atividade lactásica das células epiteliais intestinais. Na ausência de lactase intestinal, a lactose não pode ser completamente digerida e absorvida no intestino delgado, passando para o intestino grosso, onde bactérias a convertem em produtos tóxicos que causam câibras abdominais e diarreia. O problema é ainda mais complicado porque a lactose não digerida e seus metabólitos aumentam a osmolaridade do conteúdo intestinal, favorecendo a retenção de água no intestino. Na maioria dos lugares do mundo onde a intolerância à lactose é prevalente, o leite não é usado como alimento para adultos, embora os produtos do leite pré-digeridos com lactase estejam comercialmente disponíveis em alguns países. Em certas patologias humanas, estão ausentes algumas ou todas as dissacaridases intestinais. Nesses casos, o distúrbio digestivo ocasionado pelos dissacarídeos da dieta pode ser minimizado por uma dieta controlada. ■

Outros monossacarídeos entram na via glicolítica em diversos pontos

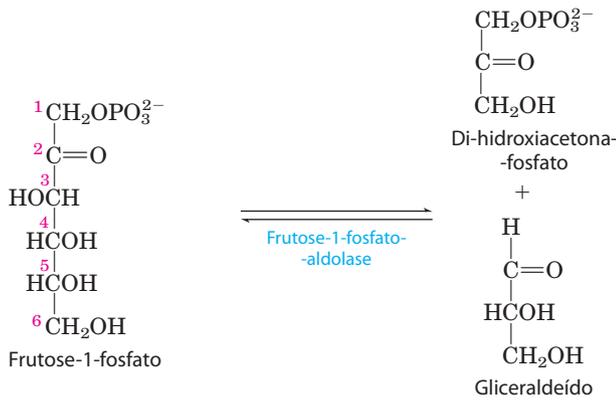
Na maior parte dos organismos, outras hexoses além da glicose podem sofrer glicólise após a conversão a um derivado fosforilado. A D-frutose, presente na forma livre em muitas frutas e formada pela hidrólise da sacarose no intestino delgado de vertebrados, é fosforilada pela hexocinase:



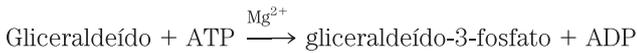
Esta é a principal via de entrada da frutose na glicólise nos músculos e nos rins. No fígado, a frutose entra por uma via diferente. A enzima hepática **frutocinase** catalisa a fosforilação da frutose em C-1 em vez de C-6:



A frutose-1-fosfato é então clivada a gliceraldeído e di-hidroxiacetona-fosfato pela **frutose-1-fosfato-aldolase**:

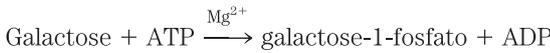


A di-hidroxiacetona-fosfato é convertida a gliceraldeído-3-fosfato pela enzima glicolítica triose-fosfato-isomerase. O gliceraldeído é fosforilado pelo ATP e pela **triose-cinase** a gliceraldeído-3-fosfato:



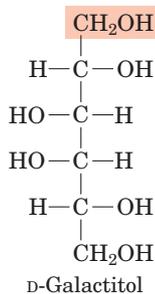
Assim, os dois produtos da hidrólise da frutose-1-fosfato entram na via glicolítica como gliceraldeído-3-fosfato.

 A D-galactose, produto da hidrólise da lactose (açúcar do leite), passa, pela corrente sanguínea, do intestino para o fígado, onde é primeiro fosforilada em C-1, à custa de ATP, pela enzima **galactocinase**:



A galactose-1-fosfato é então convertida ao seu epímero em C-4, a glicose-1-fosfato, por um conjunto de reações nas quais que o **difosfato de uridina** (UDP) funciona como coenzima transportadora de grupos hexoses (**Figura 14-13**). A epimerização envolve primeiro a oxidação do grupo —OH em C-4 para uma cetona, em seguida a redução da cetona para um —OH, com inversão da configuração em C-4. NAD é o cofator tanto para a oxidação como para a redução.

A deficiência de qualquer uma das três enzimas dessa via causa **galactosemia** em humanos. Na galactosemia por deficiência de galactocinase, altas concentrações de galactose são encontradas no sangue e na urina. Os indivíduos afetados desenvolvem catarata durante a infância, causada pela deposição no cristalino de um metabólito da galactose, o galactitol.



Os outros sintomas dessa patologia são relativamente leves, e a limitação rigorosa de galactose na dieta diminui de modo significativo sua severidade.

A galactosemia por deficiência da transferase é mais séria; ela é caracterizada por retardo do crescimento na infância, anormalidade na fala, deficiência mental e dano

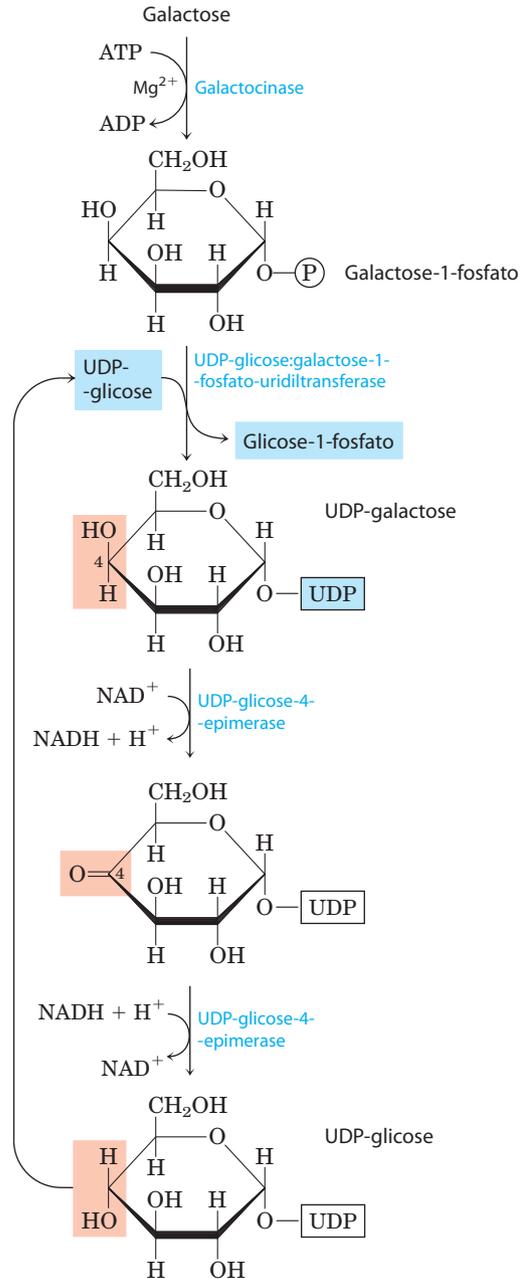
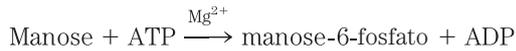


FIGURA 14-13 Conversão da galactose em glicose-1-fosfato. A conversão ocorre por meio de um derivado açúcar-nucleotídeo, a UDP-galactose, que é formado quando galactose-1-fosfato desloca glicose-1-fosfato da UDP-glicose. A UDP-galactose é então convertida pela UDP-glicose-4-epimerase a UDP-glicose, em uma reação que envolve a oxidação de C-4 (em cor salmão) pelo NAD⁺, e então a redução de C-4 por NADH; o resultado é a inversão da configuração em C-4. A UDP-glicose é regenerada por meio de um novo ciclo das mesmas reações. O efeito líquido desse ciclo é a conversão de galactose-1-fosfato a glicose-1-fosfato; não há produção ou consumo líquido de UDP-glicose ou UDP-galactose.

hepático que pode ser fatal, mesmo quando a galactose é retirada da dieta. A galactosemia por deficiência da epimerase leva a sintomas similares, porém é menos grave quando a galactose da dieta é cuidadosamente controlada. ■

A D-manose, liberada na ingestão de vários polissacarídeos e glicoproteínas dos alimentos, pode ser fosforilada em C-6 pela hexocinase:



A manose-6-fosfato é isomerizada pela **fosfomanose-isomerase**, gerando frutose-6-fosfato, intermediário da glicólise.

RESUMO 14.2 Vias alimentadoras da glicólise

- ▶ O glicogênio e o amido endógenos, as formas de armazenamento da glicose, entram na glicólise em um processo de duas etapas. A clivagem fosforolítica de um resíduo de glicose de uma extremidade do polímero, formando glicose-1-fosfato, é catalisada pela glicogênio-fosforilase ou pela amido-fosforilase. A fosfoglicomutase então converte a glicose-1-fosfato em glicose-6-fosfato, que pode entrar na glicólise.
- ▶ Os polissacarídeos e os dissacarídeos ingeridos são convertidos a monossacarídeos por enzimas hidrolíticas intestinais, e os monossacarídeos então entram nas células intestinais e são transportados para o fígado ou para outros tecidos.
- ▶ Várias D-hexoses, incluindo a frutose, a galactose e a manose, podem entrar na glicólise. Cada uma delas é fosforilada e convertida a glicose-6-fosfato, frutose-6-fosfato ou frutose-1-fosfato.
- ▶ A conversão de galactose-1-fosfato a glicose-1-fosfato envolve dois derivados nucleotídicos: UDP-galactose e UDP-glicose. Defeitos genéticos em qualquer das três enzimas que catalisam a conversão de galactose em glicose-1-fosfato resultam em galactosemias de severidade variada.

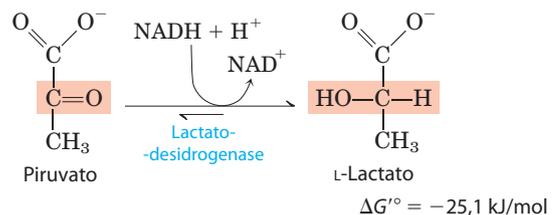
14.3 Destinos do piruvato em condições anaeróbias: fermentação

Em condições aeróbias, o piruvato formado na etapa final da glicólise é oxidado a acetato (acetil-CoA), que entra no ciclo do ácido cítrico e é oxidado a CO_2 e H_2O . O NADH formado pela desidrogenação do gliceraldeído-3-fosfato é finalmente reoxidado a NAD^+ pela transferência de seus elétrons ao O_2 na respiração mitocondrial. No entanto, em condições de hipoxia (pouco oxigênio) – assim como no músculo esquelético muito ativo, nos tecidos vegetais submersos, nos tumores sólidos ou nas bactérias lácticas – o NADH gerado pela glicólise não pode ser reoxidado pelo O_2 . A falha na regeneração de NAD^+ deixaria a célula carente de receptor de elétrons para a oxidação de gliceraldeído-3-fosfato, e as reações geradoras de energia da glicólise cessariam. Portanto, NAD^+ deve ser regenerado de outra forma.

As células primitivas que viviam em uma atmosfera praticamente desprovida de oxigênio tiveram que desenvolver estratégias para extrair energia de moléculas combustíveis em condições anaeróbias. A maioria dos organismos modernos reteve a capacidade de regenerar NAD^+ continuamente durante a glicólise anaeróbia pela transferência de elétrons do NADH para formar um produto final reduzido, como lactato ou etanol.

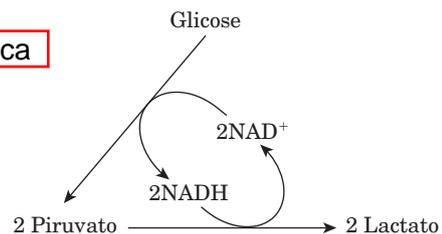
O piruvato é o receptor final de elétrons na fermentação láctica

Quando tecidos animais não podem ser supridos com oxigênio suficiente para realizar a oxidação aeróbia do piruvato e do NADH produzidos na glicólise, NAD^+ é regenerado a partir de NADH pela redução do piruvato a **lactato**. Como mencionado antes, alguns tecidos e tipos celulares (como os eritrócitos, que não possuem mitocôndria e, portanto, não podem oxidar piruvato até CO_2) produzem lactato a partir de glicose mesmo em condições aeróbias. A redução do piruvato por essa via é catalisada pela **lactato-desidrogenase**, que forma o isômero L do lactato em pH 7:



O equilíbrio global da reação favorece bastante a formação de lactato, como mostrado pela grande variação negativa da energia livre padrão.

Na glicólise, a desidrogenação de duas moléculas de gliceraldeído-3-fosfato derivado de cada molécula de glicose converte duas moléculas de NAD^+ a duas de NADH. Como a redução de duas moléculas de piruvato em duas de lactato regenera duas moléculas de NAD^+ , não ocorre variação líquida de NAD^+ ou NADH:



O lactato formado pelo músculo esquelético em atividade (ou pelos eritrócitos) pode ser reciclado; ele é transportado pelo sangue até o fígado, onde é convertido em glicose durante a recuperação da atividade muscular exaustiva. Quando o lactato é produzido em grande quantidade durante a contração muscular vigorosa (p. ex., durante uma arrancada), a acidificação resultante da ionização do ácido láctico 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 (Quadro 14-2).

Início leitura básica

QUADRO 14-2 Atletas, jacarés e celacantos: glicólise em concentrações limitantes de oxigênio

Os vertebrados são em sua maior parte organismos essencialmente aeróbios: eles convertem glicose em piruvato pela glicólise, depois utilizam o oxigênio molecular para oxidar o piruvato a CO_2 e H_2O . O catabolismo anaeróbio da glicose a lactato ocorre durante curtos pulsos de atividade muscular extrema, por exemplo, em uma corrida de 100 m, durante a qual o oxigênio não pode ser transportado para os músculos com a rapidez suficiente para oxidar o piruvato. Assim, os músculos utilizam seus estoques de glicose (glicogênio) como combustível para gerar ATP por fermentação, com lactato como produto final. Na arrancada de uma corrida, a concentração de lactato no sangue aumenta muito. No fígado, ele é lentamente convertido em glicose pela gliconeogênese no período de descanso ou recuperação, quando, então, o oxigênio é consumido em taxas gradualmente menores até a velocidade da respiração retornar ao normal. O excesso de oxigênio consumido no período de recuperação representa a reposição do débito de oxigênio. Essa é a quantidade de oxigênio necessária para suprir ATP para a gliconeogênese durante a recuperação da respiração, para regenerar o glicogênio “tomado emprestado” do fígado e do músculo para realizar atividade muscular intensa na corrida de velocidade. O ciclo de reações que incluem a conversão de glicose em lactato no músculo e a conversão de lactato em glicose no fígado é chamado de ciclo de Cori, em homenagem a Carl e Gerty Cori, cujos estudos, nas décadas de 1930 e 1940, elucidaram a via e seu papel (ver Quadro 15-4).

O sistema circulatório da maioria dos vertebrados pequenos consegue transportar oxigênio para os músculos com rapidez suficiente para evitar o uso anaeróbio de glicogênio muscular. Por exemplo, os pássaros migrantes com frequência voam grandes distâncias em alta velocidade sem descansar e sem incorrer em débito de oxigênio. Muitos animais velozes de tamanho moderado também mantêm essencialmente um metabolismo aeróbio em seus músculos esqueléticos. No entanto, o sistema circulatório de animais de grande porte, incluindo o homem, não consegue sustentar o metabolismo aeróbio nos músculos esqueléticos por longos períodos de atividade muscular intensa. Esses animais em geral movem-se lentamente em circunstâncias normais e desenvolvem atividade muscular intensa apenas em emergências muito graves, já que tal pulso de atividade requer longo período de recuperação para repor o débito de oxigênio.

Os jacarés e os crocodilos, por exemplo, são normalmente animais lentos. No entanto, quando provocados, eles sofrem mudanças à velocidade da luz e podem dar chicotadas violentas com suas caudas poderosas. Esses pulsos de atividade intensa são curtos e devem ser seguidos por longos períodos de recuperação. Os movimentos rápidos de emergência requerem fermentação láctica para gerar ATP nos músculos esqueléticos. Os estoques musculares de glicogênio são rapidamente

consumidos na atividade muscular intensa, e o lactato atinge concentrações muito altas em miócitos e no fluido extracelular. Enquanto um atleta treinado pode se recuperar de uma corrida de 100 m em 30 minutos ou menos, um jacaré pode precisar de muitas horas de descanso e de consumo extra de oxigênio para limpar o excesso de lactato de seu sangue e regenerar o glicogênio muscular após um pulso de atividade.

Outros animais de grande porte, como os elefantes e os rinocerontes, têm características metabólicas similares às dos mamíferos aquáticos, como as baleias e as focas. Os dinossauros e outros animais de porte enorme, agora extintos, provavelmente dependiam da fermentação láctica para fornecer energia para a atividade muscular, seguida de períodos muito longos de recuperação em que ficavam vulneráveis ao ataque por predadores menores, mais capazes de utilizar oxigênio e, assim, mais bem adaptados para atividades musculares contínuas e sustentadas.

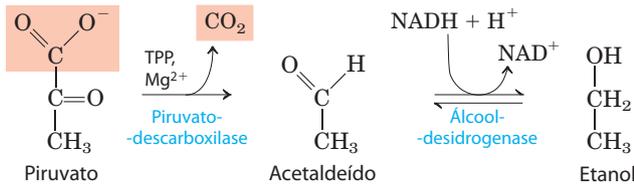
Explorações do alto-mar revelaram muitas espécies de vida marinha em grandes profundidades oceânicas, onde a concentração de oxigênio é quase zero. Por exemplo, o celacanto primitivo, peixe grande encontrado em profundidades de 4.000 m ou mais na costa da África do Sul, tem metabolismo essencialmente anaeróbio em quase todos os tecidos. Ele converte carboidratos em lactato e em outros produtos, sendo que a maior parte deles deve ser excretada. Alguns vertebrados marinhos fermentam glicose a etanol e CO_2 para gerar ATP.



Embora a conversão de glicose em lactato compreenda duas etapas de oxidação-redução, não ocorre variação líquida no estado de oxidação do carbono; na glicose ($C_6H_{12}O_6$) e no ácido láctico ($C_3H_6O_3$), a relação H:C é a mesma. Todavia, parte da energia da molécula da glicose é extraída pela sua conversão em lactato – o suficiente para dar um rendimento líquido de duas moléculas de ATP para cada molécula de glicose consumida. **Fermentação** é o termo geral para esse processo, que extrai energia (como ATP) mas não consome oxigênio nem varia as concentrações de NAD^+ ou NADH. As fermentações são realizadas por uma grande variedade de organismos, muitos deles ocupando nichos anaeróbios e produzindo diversos produtos finais, alguns com aproveitamento comercial.

O etanol é o produto reduzido na fermentação alcoólica

Leveduras e outros microrganismos fermentam glicose em etanol e CO_2 , em vez de lactato. A glicose é convertida a piruvato pela glicólise, e o piruvato é convertido a etanol e CO_2 em um processo de duas etapas:



Na primeira etapa, o piruvato é descarboxilado em uma reação irreversível catalisada pela **piruvato-descarboxilase**. Essa reação é uma descarboxilação simples e não envolve a oxidação do piruvato. A piruvato-descarboxilase requer Mg^{2+} e contém uma coenzima fortemente ligada, a tiamina-pirofosfato, discutida a seguir. Na segunda etapa, o acetaldeído é reduzido a etanol pela ação da **álcool-desidrogenase**, com o poder redutor fornecido pelo NADH derivado da desidrogenação do gliceraldeído-3-fosfato. Essa reação é um caso bem estudado de transferência de grupo hidreto do NADH (Figura 14-14). Etanol e CO_2 são então os produtos finais da fermentação etanólica, e a equação geral é:



Como na fermentação láctica, não existe variação líquida na razão entre átomos de hidrogênio e carbono quando a glicose (razão H:C = 12/6 = 2) é fermentada a duas moléculas de etanol e duas de CO_2 (razão H:C combinada = 12/6 = 2). Em todas as fermentações, a razão H:C dos reagentes e dos produtos permanece a mesma.

A piruvato-descarboxilase está presente na levedura utilizada para fabricação de cerveja e pão (*Saccharomyces cerevisiae*) e em todos os organismos que fermentam glicose em etanol, incluindo algumas plantas. O CO_2 produzido pela piruvato-descarboxilase na levedura da cerveja é responsável pela efervescência característica do champagne. A antiga arte de fazer cerveja envolve vários processos enzimáticos além das reações da fermentação alcoólica (Quadro 14-3). Na panificação, o CO_2 liberado pela piruvato-descarboxilase, quando a levedura é misturada com

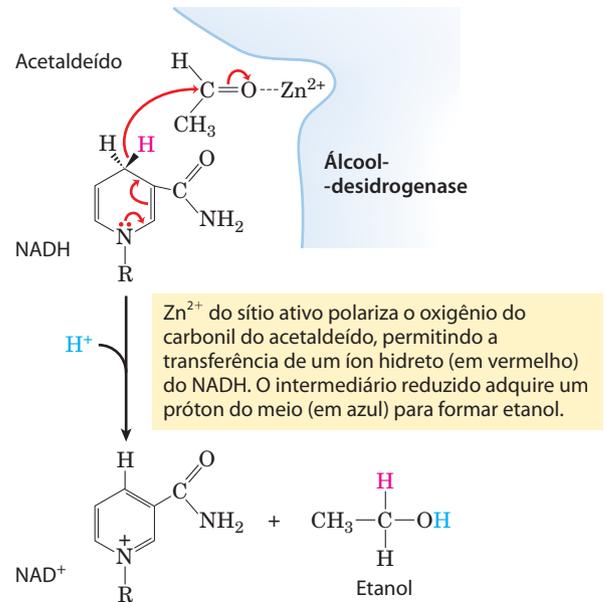


FIGURA 14-14 A reação da álcool-desidrogenase. Mecanismo da álcool-desidrogenase

o açúcar fermentável, faz a massa crescer. A enzima está ausente em tecidos de vertebrados e em outros organismos que realizam fermentação láctica.

A álcool-desidrogenase está presente em muitos organismos que metabolizam etanol, incluindo o homem. No fígado ela catalisa a oxidação do etanol ingerido ou produzido por microrganismos intestinais, com a concomitante redução de NAD^+ a NADH. Nesse caso, a reação segue no sentido oposto àquele envolvido na produção de etanol pela fermentação.

A tiamina-pirofosfato transporta grupos “acetaldeído ativos”

A reação da piruvato-descarboxilase proporciona nosso primeiro encontro com a **tiamina-pirofosfato (TPP)** (Figura 14-15), coenzima derivada da vitamina B_1 . A deficiência de vitamina B_1 na dieta humana leva a uma patologia conhecida como beribéri, caracterizada pelo acúmulo de fluidos corporais (inchaço), dor, paralisia e, em última instância, morte. ■

A tiamina-pirofosfato exerce um papel importante na clivagem de ligações adjacentes ao grupo carboxila, como a descarboxilação de α -cetoácidos, e em rearranjos químicos em que um grupo acetaldeído ativado é transferido de um átomo de carbono para outro (Tabela 14-1). A porção funcional da TPP, o anel tiazólico, contém um próton relativamente ácido em C-2. A perda desse próton produz um carbânion, que é a espécie ativa nas reações dependentes de TPP (Figura 14-15). O carbânion liga-se prontamente ao grupo carbonil, e o anel tiazólico está, conseqüentemente, posicionado para atuar como “escoadouro de elétrons”, o que facilita grandemente as reações, como a descarboxilação catalisada pela piruvato-descarboxilase.

QUADRO 14-3 Fermentações etanólicas: fabricando cerveja e produzindo biocombustíveis

A produção de cerveja foi uma ciência aprendida cedo na história da humanidade, sendo mais tarde aprimorada para a produção em larga escala. Os cervejeiros fabricam a cerveja por meio da fermentação etanólica de carboidratos presentes em grãos de cereais (sementes) como a cevada, realizada pelas enzimas glicolíticas das leveduras. Os carboidratos, grandes polissacarídeos, devem ser primeiro degradados a dissacarídeos e monossacarídeos. No processo chamado de maltagem, as sementes da cevada germinam até formarem as enzimas hidrolíticas necessárias para a quebra dos polissacarídeos. Nesse ponto, a germinação é interrompida por aquecimento controlado. O produto é o malte, o qual contém enzimas que catalisam a hidrólise das ligações β da celulose e de outros polissacarídeos da parede celular da casca da cevada, e enzimas como a α -amilase e a maltase.

Em seguida, o cervejeiro prepara o mosto, o meio nutriente necessário para a fermentação pelas células das leveduras. O malte é misturado com água, sendo então macerado. Isso permite que as enzimas formadas no processo de maltagem hidrolisem os polissacarídeos dos cereais para formar maltose, glicose e outros açúcares simples, solúveis em meio aquoso. O material celular restante é separado, e o mosto líquido é fervido com lúpulo para dar o sabor. O mosto é resfriado e então aerado.

Agora, são adicionadas células de levedura. No mosto aeróbio, as leveduras crescem e se reproduzem muito rapidamente, usando a energia obtida dos açúcares disponíveis. Não é formado etanol durante esse estágio, porque as leveduras, amplamente supridas com oxigênio, oxidam o piruvato formado pela glicólise em CO_2 e H_2O por meio do ciclo do ácido cítrico. Quando todo o oxigênio dissolvido existente no tanque de fermentação do mosto tiver sido consumido, as leveduras mudam para o metabolismo anaeróbio, e a partir desse ponto elas fermentam os açúcares em etanol e CO_2 . O processo de fermentação é controlado em parte pela concentração de etanol formado, pelo pH e pela quantidade remanescente de açúcar. Após a fermentação ter sido interrompida, as células são removidas e a cerveja “crua” está pronta para o processamento final.

Nas etapas finais da fabricação da cerveja, é ajustada a quantidade de espuma (ou colarinho), resultante de proteínas dissolvidas. Geralmente, isto é controlado por enzimas proteolíticas que surgem do processo de maltagem. Caso essas enzimas atuem sobre as proteínas por

longo período de tempo, a cerveja terá colarinho muito pequeno e ficará “choca”; se elas não agirem por um tempo suficiente, a cerveja ficará turva quando gelada. Algumas vezes são adicionadas enzimas proteolíticas de outras fontes para controlar a espuma.

Grande parte da tecnologia desenvolvida para a produção de bebidas alcoólicas em larga escala encontra aplicação em um problema inteiramente diferente: a produção de etanol como combustível renovável. Com a redução contínua dos estoques conhecidos de combustíveis fósseis e o aumento do custo do combustível para motores de combustão interna, existe o aumento do interesse no uso de etanol como um combustível substituto ou um complemento. A principal vantagem do etanol como combustível é que ele pode ser produzido a partir de fontes relativamente *baratas e renováveis*, ricas em sacarose, amido ou celulose – amido de milho ou trigo, sacarose de beterraba ou cana, e celulose de palha, de resíduos de indústrias florestais ou de resíduos sólidos domésticos. Geralmente, a matéria-prima é convertida quimicamente primeiro a monossacarídeos, então fornecidos como alimento a uma linhagem robusta de levedura em um fermentador em escala industrial (Figura Q-1). A fermentação pode render não apenas etanol para combustível, mas também subprodutos como proteínas que podem ser usadas para alimentação de animais.



FIGURA Q-1 Fermentações em escala industrial para a produção de biocombustível e outros produtos são realizadas em tanques que comportam milhares de litros de meio.

As fermentações são usadas para produzir alguns alimentos comuns e reagentes químicos industriais

Há milênios a humanidade aprendeu a usar a fermentação na produção e na conservação de alimentos. Certos microrganismos presentes em alimentos naturais fermentam os carboidratos e geram produtos metabólicos que dão aos alimentos sua forma, textura e sabor característicos. Os iogurtes, já conhecidos no período bíblico, são produzidos

quando a bactéria *Lactobacillus bulgaricus* fermenta os carboidratos do leite, produzindo ácido láctico; a diminuição do pH resultante causa a precipitação das proteínas do leite, produzindo a textura espessa e o sabor ácido do iogurte não adoçado. Outra bactéria, a *Propionibacterium freudenreichii*, fermenta o leite produzindo ácido propiônico e CO_2 ; o ácido propiônico precipita as proteínas do leite, e as bolhas de CO_2 formam os furos característicos do queijo suíço. Muitos outros produtos alimentares são

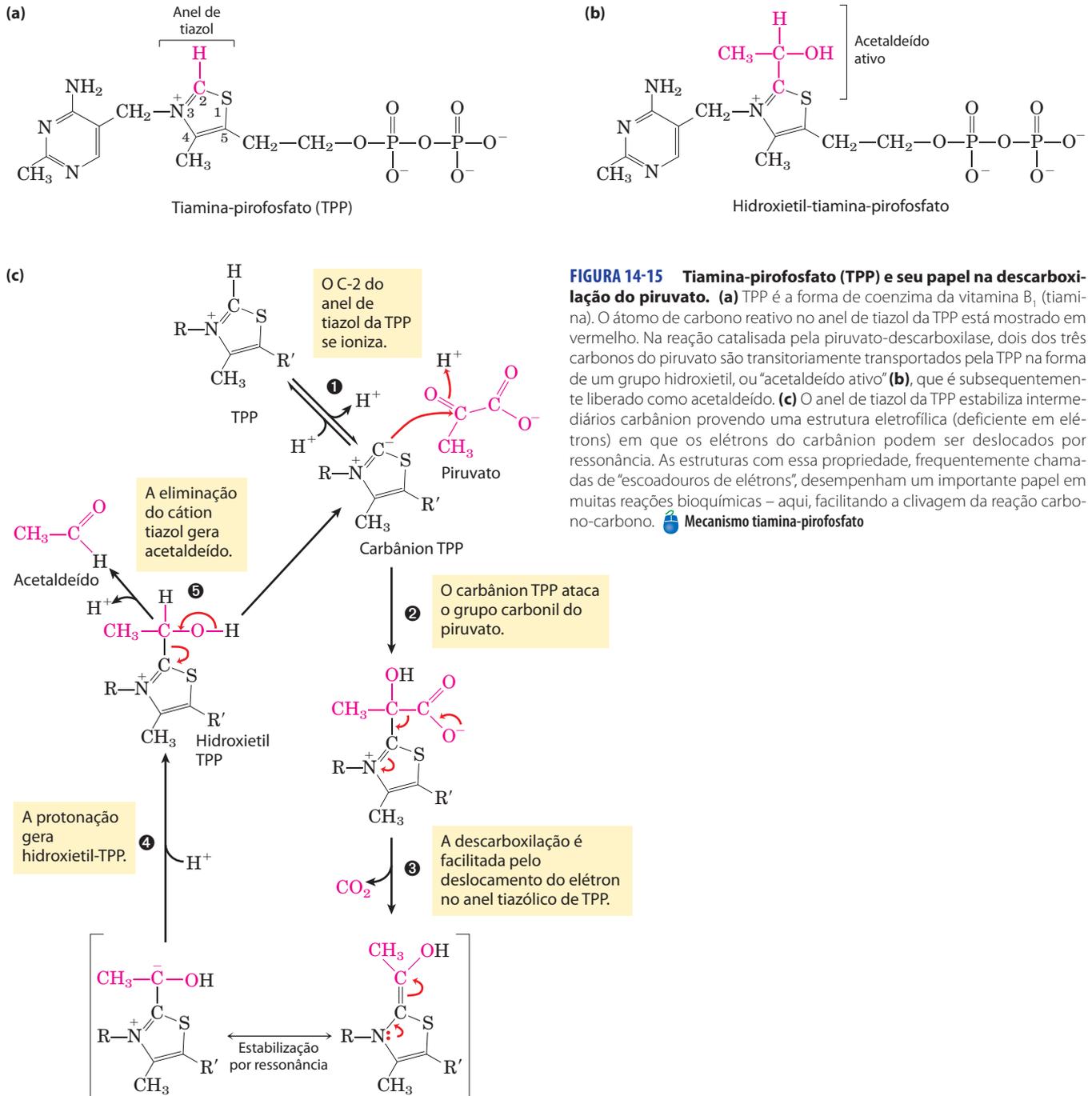


FIGURA 14-15 Tiamina-pirófosfato (TPP) e seu papel na descarboxilação do piruvato. (a) TPP é a forma de coenzima da vitamina B₁ (tiamina). O átomo de carbono reativo no anel de tiazol da TPP está mostrado em vermelho. Na reação catalisada pela piruvato-decarboxilase, dois dos três carbonos do piruvato são transitariamente transportados pela TPP na forma de um grupo hidroxiétil, ou “acetaldeído ativo” (b), que é subsequentemente liberado como acetaldeído. (c) O anel de tiazol da TPP estabiliza intermediários carbânion provendo uma estrutura eletrofílica (deficiente em elétrons) em que os elétrons do carbânion podem ser deslocados por ressonância. As estruturas com essa propriedade, frequentemente chamadas de “escoadouras de elétrons”, desempenham um importante papel em muitas reações bioquímicas – aqui, facilitando a clivagem da reação carbono-carbono. Mecanismo tiamina-pirófosfato

resultantes de fermentações: picles, chucrute, salsicha, molho de soja e uma variedade de pratos típicos, como *kimchi* (Coreia), *tempoyak* (Indonésia), *kefir* (Rússia), *dahi* (Índia) e *pozol* (México). A redução do pH associada à fermentação também ajuda a preservar os alimentos, já que a maioria dos microrganismos que causam a deterioração dos alimentos não cresce em pH baixo. Na agricultura, subprodutos vegetais, como os colmos de milho, são mantidos para o uso na alimentação de animais, sendo embalados em grandes silos com acesso de ar limitado; a fermentação microbiana produz ácidos que diminuem o

pH. A silagem resultante desse processo de fermentação pode ser utilizada como alimento animal por longos períodos sem estragar.

Em 1910, Chaim Weizmann (posteriormente o primeiro presidente de Israel) descobriu que a bactéria *Clostridium acetobutyricum* fermenta amido em butanol e acetona. Essa descoberta abriu o campo das fermentações industriais, em que alguns materiais facilmente disponíveis, ricos em carboidratos (p. ex., amido de milho, ou melaço), são fornecidos a uma cultura pura de microrganismos específicos, que os fermenta a um produto de valor comercial

TABELA 14-1 Algumas reações dependentes de TPP

Enzima	Via(s)	Ligação clivada	Ligação formada
Piruvato-descarboxilase	Fermentação alcoólica	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \parallel \\ \text{R}^1-\text{C}-\text{C} \\ \quad \quad \quad \backslash \\ \quad \quad \quad \text{O}^- \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}^1-\text{C} \\ \quad \quad \quad \backslash \\ \quad \quad \quad \text{H} \end{array}$
Piruvato-desidrogenase α -Cetoglutarato-desidrogenase	Síntese de acetil-CoA Ciclo do ácido cítrico	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \parallel \\ \text{R}^2-\text{C}-\text{C} \\ \quad \quad \quad \backslash \\ \quad \quad \quad \text{O}^- \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}^2-\text{C} \\ \quad \quad \quad \backslash \\ \quad \quad \quad \text{S-CoA} \end{array}$
Transcetolase	Reações de fixação de carbono Via das pentoses-fosfato	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{OH} \\ \parallel \quad \\ \text{R}^3-\text{C}-\text{C}-\text{R}^4 \\ \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \text{H} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{OH} \\ \parallel \quad \\ \text{R}^3-\text{C}-\text{C}-\text{R}^5 \\ \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \text{H} \end{array}$

maior. O etanol usado para fazer *gasohol* (mistura de 10% de etanol e 90% de gasolina) é produzido por fermentação microbiológica, assim como os ácidos fórmico, acético, propiônico, butírico e succínico, e os álcoois glicerol, metanol, isopropanol, butanol e butanediol. Em geral, essas fermentações são desenvolvidas em grandes tanques fechados em que a temperatura e o acesso de ar são controlados para favorecer a multiplicação dos organismos desejados e excluir organismos contaminantes. A beleza das fermentações industriais está no fato de que as transformações químicas complexas e de múltiplas etapas são realizadas com grande rendimento e com poucos subprodutos, por fábricas químicas que se autorreproduzem – as células microbianas. Para algumas fermentações industriais, foi desenvolvida a tecnologia para imobilizar as células em um suporte inerte, passar a matéria-prima continuamente pelo leito de células imobilizadas, e coletar o produto desejado no efluente – um sonho dos engenheiros!

RESUMO 14.3 Destinos do piruvato em condições anaeróbias: fermentação

- ▶ O NADH formado na glicólise deve ser reciclado para regenerar NAD^+ , necessário como receptor de elétrons na primeira etapa da fase de pagamento. Em condições aeróbias, os elétrons passam do NADH para o O_2 na respiração mitocondrial.
- ▶ Em condições anaeróbias ou de hipoxia, muitos organismos regeneram NAD^+ pelo transporte de elétrons do NADH para o piruvato, formando lactato. Outros organismos, como as leveduras, regeneram NAD^+ pela redução de piruvato em etanol e CO_2 . Nesses processos anaeróbios (fermentações), não ocorre oxidação ou redução líquida dos carbonos da glicose.
- ▶ Uma grande variedade de microrganismos pode fermentar o açúcar de alimentos frescos, resultando em mudanças de pH, sabor e textura, protegendo os alimentos da deterioração. As fermentações são usadas na indústria para produzir uma ampla variedade de compostos orgânicos comercialmente valiosos a partir de matérias-primas baratas.

Término leitura básica

14.4 Gliconeogênese

O papel central da glicose no metabolismo surgiu cedo na evolução, e esse açúcar permanece sendo combustível quase universal e unidade estrutural nos organismos atuais, desde micróbios até humanos. Em mamíferos, alguns tecidos dependem quase completamente de glicose para sua energia metabólica. Para o cérebro humano e o sistema nervoso, assim como para os eritrócitos, os testículos, a medula renal e os tecidos embrionários, a glicose do sangue é a principal ou a única fonte de combustível. Apenas o cérebro requer em média 120 g de glicose por dia – mais da metade de toda a glicose estocada como glicogênio nos músculos e no fígado. No entanto, o suprimento de glicose a partir desses estoques não é sempre suficiente; entre as refeições e durante períodos de jejum mais longos, ou após exercício vigoroso, o glicogênio se esgota. Para esses períodos, os organismos precisam de um método para sintetizar glicose a partir de precursores que não são carboidratos. Isso é realizado por uma via chamada de **gliconeogênese** (“nova formação de açúcar”), que converte em glicose o piruvato e os compostos relacionados, com três e quatro carbonos.

A gliconeogênese ocorre em todos os animais, vegetais, fungos e microrganismos. As reações são essencialmente as mesmas em todos os tecidos e em todas as espécies. Os precursores importantes da glicose em animais são compostos de três carbonos como o lactato, o piruvato e o glicerol, assim como certos aminoácidos (**Figura 14-16**). Em mamíferos, a gliconeogênese ocorre principalmente no fígado, e em menor extensão no córtex renal e nas células epiteliais que revestem internamente o intestino delgado. A glicose assim produzida passa para o sangue e vai suprir outros tecidos. Após exercícios vigorosos, o lactato produzido pela glicólise anaeróbia no músculo esquelético retorna para o fígado e é convertido a glicose, que volta para os músculos e é convertida a glicogênio – circuito chamado de ciclo de Cori (Quadro 14-2; ver também Figura 23-19). Em plantas oriundas de sementes, as gorduras e as proteínas estocadas nas sementes são convertidas, por vias que incluem a gliconeogênese, ao dissacarídeo sacarose para o transporte ao longo da planta em desenvolvimento. A glicose e seus derivados são precursores para a síntese da parede celular,

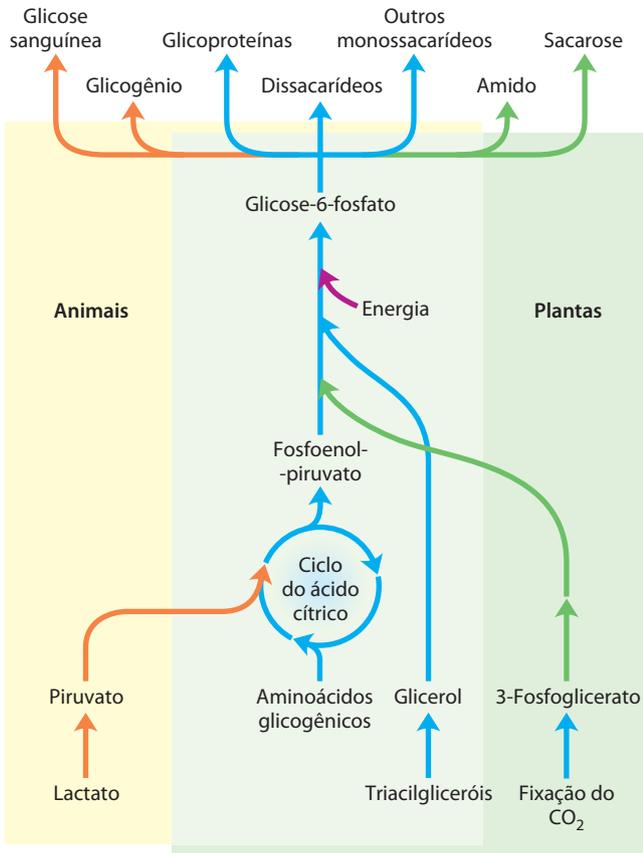


FIGURA 14-16 Síntese de carboidratos a partir de precursores simples. A via a partir de fosfoenolpiruvato até glicose-6-fosfato é comum para a conversão biossintética de muitos precursores diferentes de carboidratos de animais e plantas. A via partindo de piruvato a fosfoenolpiruvato passa por oxaloacetato, um intermediário do ciclo do ácido cítrico, discutido no Capítulo 16. Qualquer composto que possa ser convertido a piruvato ou oxaloacetato pode, conseqüentemente, servir como material inicial para a gliconeogênese. Isso inclui alanina e aspartato, que podem ser convertidos a piruvato e oxaloacetato, respectivamente, e outros aminoácidos que também podem gerar fragmentos de três ou quatro carbonos, os chamados aminoácidos glicogênicos (ver Tabela 14-4; ver também Figura 18-15). Plantas e bactérias fotossintetizantes são as únicas capazes de converter CO₂ em carboidratos, usando o ciclo de Calvin (ver Seção 20.1).

nucleotídeos, coenzimas e uma série de outros metabólitos essenciais das plantas. Em muitos microrganismos, a gliconeogênese inicia a partir de compostos orgânicos simples de dois ou três carbonos, como acetato, lactato e propionato, presentes em seu meio de crescimento.

Embora as reações da gliconeogênese sejam as mesmas em todos os organismos, o contexto metabólico e a regulação da via diferem de uma espécie para outra e de tecido para tecido. Nesta seção, analisa-se a gliconeogênese e como ela ocorre no fígado de mamíferos. No Capítulo 20 é mostrado como organismos fotossintéticos usam essa via para converter os produtos primários da fotossíntese em glicose, para ser estocada como sacarose ou amido.

A gliconeogênese e a glicólise não são vias idênticas correndo em direções opostas, embora compartilhem várias etapas (Figura 14-17); sete das 10 reações enzimáticas da gliconeogênese são o inverso das reações glicolíticas. No

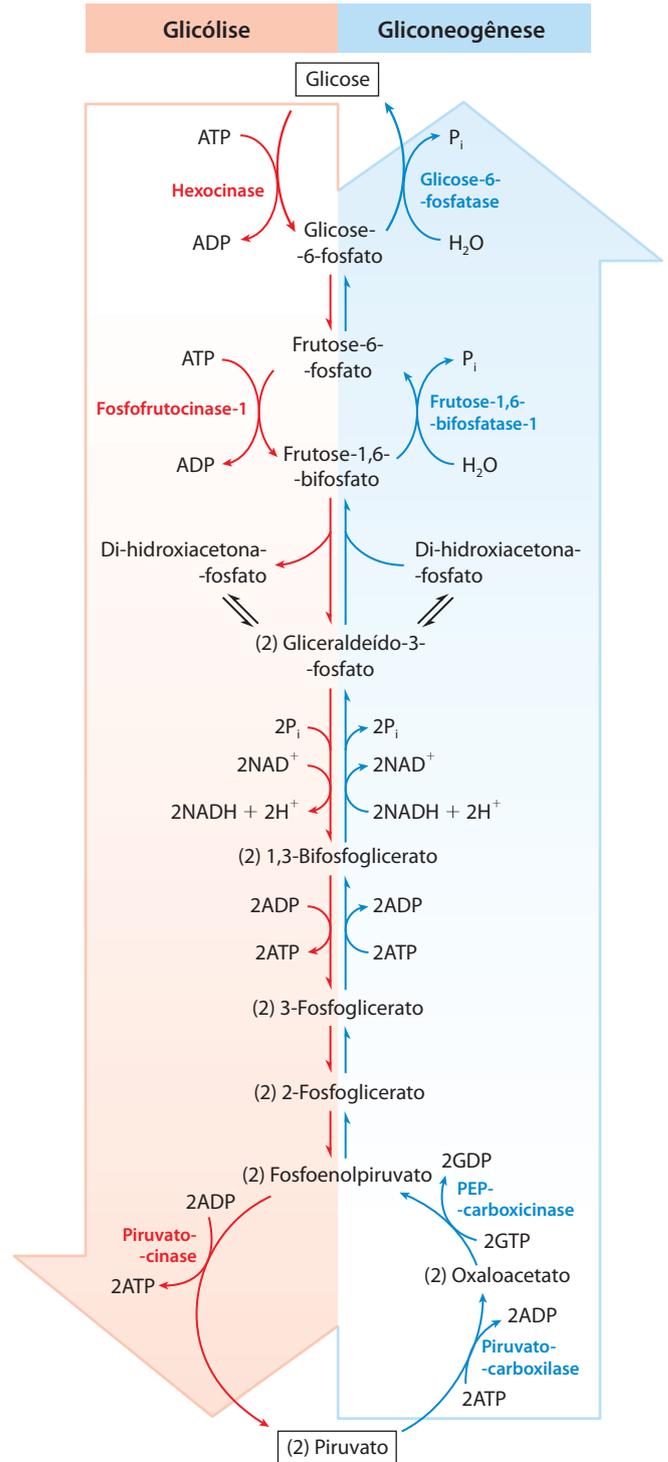


FIGURA 14-17 Vias opostas da glicólise e da gliconeogênese em fígado de rato. As reações da glicólise estão do lado esquerdo, em vermelho; a via oposta, a gliconeogênese, está mostrada do lado direito, em azul. Os principais pontos de regulação da gliconeogênese representados aqui são discutidos posteriormente neste capítulo e em detalhe no Capítulo 15. A Figura 14-20 ilustra uma rota alternativa para a produção de oxaloacetato na mitocôndria.

entanto, três reações da glicólise são essencialmente irreversíveis e não podem ser utilizadas na gliconeogênese: a conversão de glicose em glicose-6-fosfato pela hexocinase, a fosforilação da frutose-6-fosfato em frutose-1,6-bifosfato pela fosfofrutocinase-1 e a conversão de fosfoenolpiruvato em piruvato pela piruvato-cinase (Figura 14-17). Nas células, essas três reações são caracterizadas por uma grande variação negativa da energia livre, enquanto outras reações glicolíticas têm ΔG próximo de zero (Tabela 14-2). Na gliconeogênese, as três etapas irreversíveis são contornadas por um grupo distinto de enzimas, catalisando reações suficientemente exergônicas para serem efetivamente irreversíveis no sentido da síntese de glicose. Assim, tanto a glicólise quanto a gliconeogênese são processos irreversíveis nas células. Em animais, as duas vias ocorrem principalmente no citosol, necessitando de regulação recíproca e coordenada. A regulação separada das duas vias é atingida por meio de controles exercidos nas etapas enzimáticas existentes em apenas uma das vias.

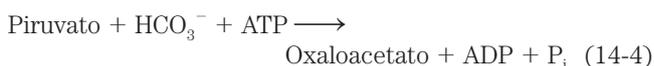
Inicialmente, consideram-se as três reações de contorno da gliconeogênese. (Tenha em mente que “contorno” refere-se ao contorno das reações irreversíveis da via glicolítica.)

A conversão de piruvato em fosfoenolpiruvato requer duas reações exergônicas

A primeira reação de contorno da gliconeogênese é a conversão de piruvato em fosfoenolpiruvato (PEP). Essa reação não pode ocorrer por uma simples inversão da reação da piruvato-cinase da glicólise (p. 554), que tem uma grande variação negativa da energia livre e é, portanto, irreversível em condições que prevalecem nas células intactas (Tabela 14-2, etapa 10). Assim, a fosforilação do piruvato é alcançada por uma sequência de reações de desvio que, em eucariotos, requer enzimas existentes tanto no citosol como nas mitocôndrias. Como será visto, a via representada na Figura

14-17 e descrita em detalhes aqui é uma das duas rotas que levam de piruvato a PEP; essa é a via predominante quando piruvato e alanina são os precursores glicogênicos. Uma segunda via, descrita posteriormente, predomina quando o lactato é o precursor glicogênico.

O piruvato é primeiro transportado do citosol para a mitocôndria ou é gerado dentro da mitocôndria a partir da transaminação da alanina; nessa reação, o grupamento α -amino é transferido da alanina (gerando piruvato) para um α -cetoácido carboxílico (reações de transaminação são discutidas em detalhe no Capítulo 18). A seguir, a **piruvato-carboxilase**, uma enzima mitocondrial que requer a coenzima **biotina**, converte o piruvato a oxaloacetato (Figura 14-18):



A reação de carboxilação envolve biotina como transportador de bicarbonato ativado, como representado na Figura 14-19; o mecanismo de reação está esquematizado na Figura 16-17. (Note que HCO_3^- é formado pela ionização do ácido carbônico formado a partir de $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$.) HCO_3^- é fosforilado por ATP para formar um anidrido híbrido (carboxifosfato); a seguir a biotina desloca o fosfato na formação de carboxibiotina.

A piruvato-carboxilase é a primeira enzima de regulação na via gliconeogênica, necessitando de acetil-CoA como efetor positivo. (Acetil-CoA é produzida pela oxidação de ácidos graxos [Capítulo 17], e seu acúmulo sinaliza a disponibilidade de ácidos graxos como combustíveis.) Como será visto no Capítulo 16 (ver Figura 16-16), a reação da piruvato-carboxilase pode reconstituir intermediários de outra via metabólica central, o ciclo do ácido cítrico.

Como a membrana mitocondrial não tem transportador para o oxaloacetato, antes de ser exportado para o citosol o oxaloacetato formado a partir do piruvato deve ser redu-

TABELA 14-2 Variação de energia livre das reações glicolíticas em eritrócitos

Etapa da reação glicolítica	$\Delta G'^{\circ}$ (kJ/mol)	ΔG (kJ/mol)
1 Glicose + ATP \longrightarrow glicose-6-fosfato + ADP	-16,7	-33,4
2 Glicose-6-fosfato \rightleftharpoons frutose-6-fosfato	1,7	0 a 25
3 Frutose-6-fosfato + ATP \longrightarrow frutose-1,6-bifosfato + ADP	-14,2	-22,2
4 Frutose-1,6-bifosfato \rightleftharpoons di-hidroxiacetona-fosfato + gliceraldeído-3-fosfato	23,8	-6 a 0
5 Di-hidroxiacetona-fosfato \rightleftharpoons gliceraldeído-3-fosfato	7,5	0 a 4
6 Gliceraldeído-3-fosfato + P_i + NAD^+ \rightleftharpoons 1,3-bifosfoglicerato + $\text{NADH} + \text{H}^+$	6,3	-2 a 2
7 1,3-Bifosfoglicerato + ADP \rightleftharpoons 3-fosfoglicerato + ATP	-18,8	0 a 2
8 3-Fosfoglicerato \rightleftharpoons 2-fosfoglicerato	4,4	0 a 0,8
9 2-Fosfoglicerato \rightleftharpoons fosfoenolpiruvato + H_2O	7,5	0 a 3,3
10 Fosfoenolpiruvato + ADP \longrightarrow piruvato + ATP	-31,4	-16,7

Nota: $\Delta G'^{\circ}$ é a variação de energia livre padrão, como definido no Capítulo 13 (p. 507-508). ΔG é a variação de energia livre calculada a partir das concentrações reais dos intermediários glicolíticos presentes em condições fisiológicas nos eritrócitos, em pH 7. As reações glicolíticas de contorno da gliconeogênese estão mostradas em vermelho. As equações bioquímicas não são necessariamente equilibradas para H ou carga (p. 517).

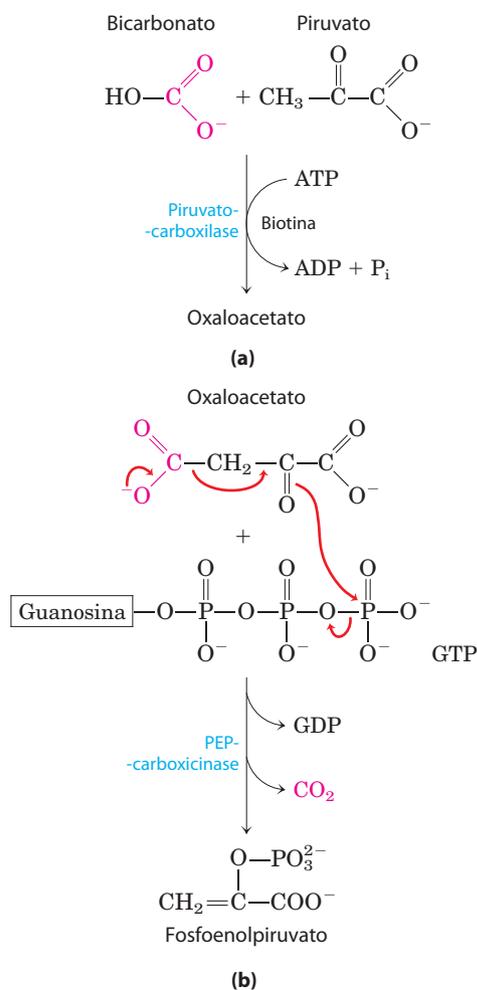
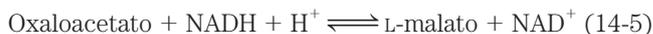


FIGURA 14-18 Síntese de fosfoenolpiruvato a partir de piruvato. (a) Na mitocôndria, o piruvato é convertido a oxaloacetato em uma reação dependente de biotina, catalisada pela piruvato-carboxilase. (b) No citosol, oxaloacetato é convertido a fosfoenolpiruvato pela PEP-carboxicinase. O CO_2 incorporado na reação da piruvato-carboxilase é perdido aqui como CO_2 . A descarboxilação leva a um rearranjo de elétrons que facilita o ataque do oxigênio do carbonil da porção piruvato sobre o fosfato γ do GTP.

zido a malato pela **malato-desidrogenase** mitocondrial, com o consumo de NADH:



A variação de energia livre padrão para esta reação é muito alta, mas em condições fisiológicas (inclusive uma concentração muito baixa de oxaloacetato) o $\Delta G \approx 0$ e a reação é prontamente reversível. A malato-desidrogenase mitocondrial age tanto na gliconeogênese como no ciclo do ácido cítrico, mas o fluxo global dos metabólitos nos dois processos ocorre em sentidos opostos.

O malato deixa a mitocôndria por meio de um transportador específico presente na membrana mitocondrial interna (ver Figura 19-31), e no citosol ele é reoxidado a oxaloacetato, com a produção de NADH citosólico:



O oxaloacetato é então convertido a PEP pela **fosfoenolpiruvato-carboxicinase** (Figura 14-18). Esta reação é dependente de Mg^{2+} e requer GTP como doador de grupo fosforil:



A reação é reversível em condições intracelulares; a formação de um composto de fosfato de alta energia (PEP) é balanceada pela hidrólise de outro composto (GTP).

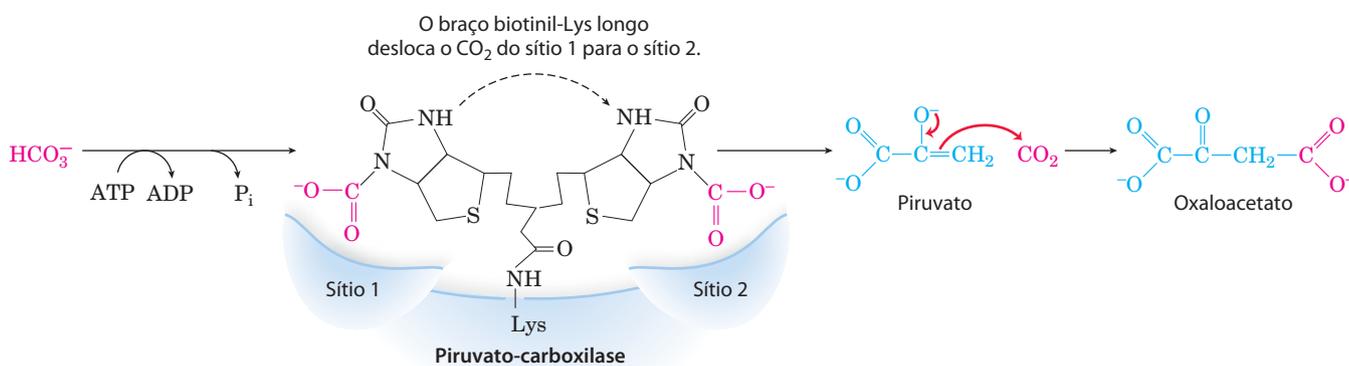
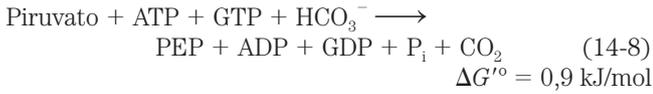


FIGURA 14-19 Papel da biotina na reação da piruvato-carboxilase. O cofator está covalentemente ligado à enzima por uma ligação amida com o grupo ϵ -amino de um resíduo de Lys, formando uma biotilil-enzima. A reação ocorre em duas fases, em dois sítios diferentes da enzima. No sítio catalítico 1, o íon bicarbonato é convertido a CO_2 com gasto de ATP. Em seguida, o CO_2 reage com a biotina, formando carboxibiotilil-enzima. O braço longo composto pela biotina e a cadeia lateral da Lys transporta o CO_2 da carboxibiotilil-enzima para o sítio catalítico 2 na superfície da enzima, onde o CO_2

é liberado e reage com o piruvato, formando oxaloacetato e regenerando o complexo biotilil-enzima. A função geral dos braços flexíveis no transporte de intermediários de reação entre sítios ativos de enzimas está descrita na Figura 16-18, e os detalhes do mecanismo da reação da piruvato-carboxilase estão mostrados na Figura 16-17. Mecanismos semelhantes ocorrem em outras reações de carboxilação dependentes de biotina, como as catalisadas pela propionil-CoA-carboxilase (ver Figura 17-12) e acetil-CoA-carboxilase (ver Figura 21-1).

A equação global para esse conjunto de reações de contorno é a soma das Equações 14-4 até 14-7:



Dois grupos fosfato de alta energia (um do ATP e um do GTP), cada um rendendo em torno de 50 kJ/mol em condições celulares, devem ser gastos para fosforilar uma molécula de piruvato a PEP. Ao contrário, quando PEP é convertido a piruvato durante a glicólise, apenas um ATP é gerado a partir de ADP. Embora a variação da energia livre padrão ($\Delta G'^{\circ}$) da via de duas etapas da conversão de piruvato em PEP seja de 0,9 kJ/mol, a variação de energia livre real (ΔG), calculada a partir das medidas das concentrações celulares dos intermediários, é altamente negativa (-25 kJ/mol); isso é consequência do consumo rápido de PEP em outras reações, de modo que sua concentração permanece relativamente baixa. A reação é assim efetivamente irreversível na célula.

Observe que o CO₂ adicionado ao piruvato na etapa catalisada pela piruvato-carboxilase é a mesma molécula perdida na reação da PEP-carboxinase (Figura 14-18b). Essa sequência de carboxilação-descarboxilação representa uma forma de “ativação” do piruvato, em que a descarboxilação do oxaloacetato facilita a formação de PEP. No Capítulo 21 será visto como uma sequência similar de carboxilação-descarboxilação é usada para ativar acetil-CoA para a síntese de ácidos graxos (ver Figura 21-1).

Existe uma lógica na rota dessas reações na mitocôndria. A relação [NADH]/[NAD⁺] no citosol é 8×10^{-4} , cerca de 10⁵ vezes menor do que na mitocôndria. Como o NADH citosólico é consumido na gliconeogênese (na conversão de 1,3-bisfosfoglicerato em gliceraldeído-3-fosfato; Figura 14-17), a biossíntese de glicose não pode ocorrer a menos que o NADH esteja disponível. O transporte de malato da mitocôndria ao citosol e a sua conversão a oxaloacetato transfere efetivamente equivalentes redutores para o citosol, onde eles são escassos. Consequentemente, essa transformação de piruvato em PEP proporciona um importante equilíbrio entre NADH produzido e consumido no citosol durante a gliconeogênese.

Um segundo contorno piruvato → PEP predomina quando o lactato é o precursor glicogênico (Figura 14-20). Essa via faz uso do lactato produzido pela glicólise nos eritrócitos ou no músculo em anaerobiose, por exemplo, sendo particularmente importante em vertebrados após exercício vigoroso (Quadro 14-2). A conversão de lactato em piruvato no citosol de hepatócitos gera NADH, e a exportação de equivalentes redutores (como malato) da mitocôndria é consequentemente desnecessária. Depois que o piruvato produzido na reação da lactato-desidrogenase é transportado para a mitocôndria, ele é convertido a oxaloacetato pela piruvato-carboxilase, como descrito antes. Esse oxaloacetato, no entanto, é convertido diretamente a PEP pela isoenzima mitocondrial da PEP-carboxinase, e o PEP é transportado para fora da mitocôndria para dar continuidade à via gliconeogênica. As isoenzimas mitocon-

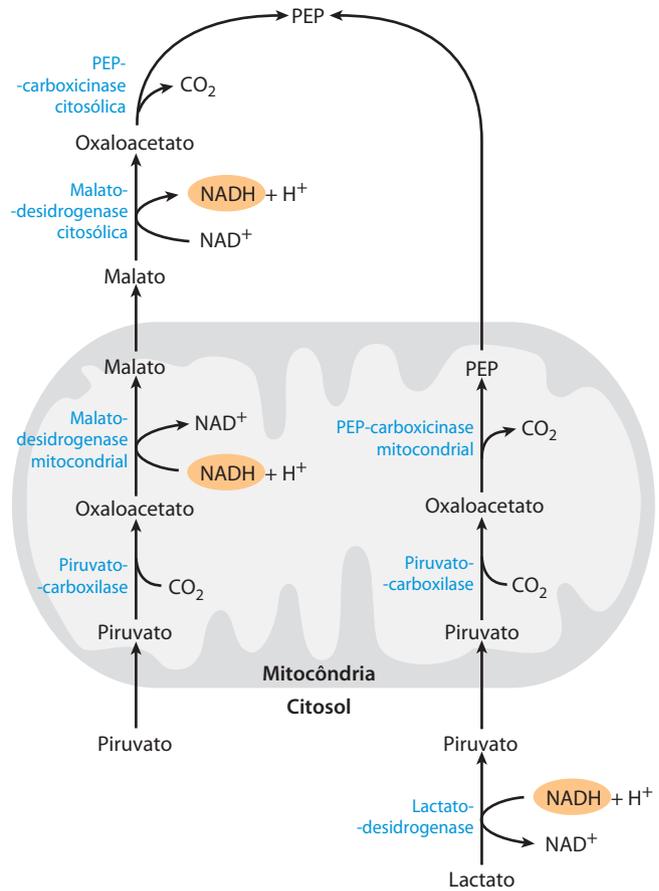


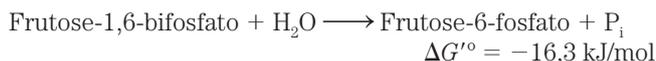
FIGURA 14-20 Vias alternativas da transformação do piruvato em fosfoenolpiruvato. A importância relativa das duas vias depende da disponibilidade de lactato ou piruvato e das necessidades citosólicas de NADH para gliconeogênese. A via à direita predomina quando o lactato é o precursor, já que NADH citosólico é gerado na reação da lactato-desidrogenase e não pode ser transportado para fora da mitocôndria (ver texto). A necessidade de ATP para a piruvato-carboxilase e GTP para PEP-carboxinase (ver Figura 14-17) está omitida para simplificação.

drias e citosólicas da PEP-carboxinase são codificadas por genes separados nos cromossomos nucleares, proporcionando outro exemplo de duas enzimas distintas catalisando a mesma reação, mas em localizações celulares ou com papéis metabólicos diferentes (lembre-se das isoenzimas da hexocinase).

A conversão de frutose-1,6-bifostato a frutose-6-fosfato é o segundo contorno

A segunda reação glicolítica que não pode participar da gliconeogênese é a fosforilação da frutose-6-fosfato pela PFK-1 (Tabela 14-2, etapa 3). Como essa reação é altamente exergônica e por isso irreversível em células intactas, a geração de frutose-6-fosfato a partir de frutose-1,6-bifosfato (Figura 14-17) é catalisada por uma enzima diferente, dependente de Mg²⁺, a **frutose-1,6-bifosfatase (FBPase-1)**, que promove a *hidrólise* essencialmente irreversível

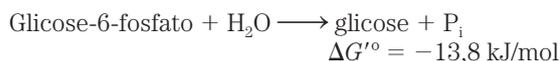
do fóstato em C-1 (*não* a transferência do grupo fosforil para o ADP):



A FBPase-1 é assim chamada para distingui-la de outra enzima similar (FBPase-2) com função de regulação, discutida no Capítulo 15.

A conversão de glicose-6-fosfato em glicose é o terceiro contorno

O terceiro contorno é a reação final da gliconeogênese, a desfosforilação da glicose-6-fosfato para formar glicose (Figura 14-17). O inverso da reação da hexocinase (p. 548) exigiria a transferência de um grupo fosforil da glicose-6-fosfato para ADP, formando ATP, reação energeticamente desfavorável (Tabela 14-2, etapa 1). A reação catalisada pela **glicose-6-fosfatase** não requer a síntese de ATP, sendo a hidrólise simples de uma ligação éster fosfato:



Essa enzima ativada por Mg^{2+} é encontrada no lúmen do retículo endoplasmático de hepatócitos, de células renais e das células epiteliais do intestino delgado (ver Figura 15-30), mas não é encontrada em outros tecidos, que são, portanto, incapazes de fornecer glicose para o sangue. Se outros tecidos tivessem a glicose-6-fosfatase, essa atividade enzimática hidrolisaria a glicose-6-fosfato necessária para a glicólise nesses tecidos. A glicose produzida pela gliconeogênese no fígado, nos rins ou ingerida na dieta é entregue a esses outros tecidos, inclusive o cérebro e os músculos, pela corrente sanguínea.

A gliconeogênese é energeticamente dispendiosa, mas essencial

A soma das reações biossintéticas que levam de piruvato até glicose livre no sangue (Tabela 14-3) é



Para cada molécula de glicose formada a partir do piruvato, seis grupos fosfato de alta energia são consumidos, quatro na forma de ATP e dois na forma de GTP. Além disso, duas moléculas de NADH são necessárias para a redução de duas moléculas de 1,3-bifosfoglicerato. Evidentemente, a Equação 14-9 não é simplesmente o inverso da equação para a conversão de glicose em piruvato pela glicólise, que exigiria apenas duas moléculas de ATP:



A síntese de glicose a partir de piruvato é um processo relativamente dispendioso. A maior parte desse alto custo energético é necessária para assegurar a irreversibilidade da gliconeogênese. Em condições intracelulares, a variação de energia livre padrão da glicólise é pelo menos -63 kJ/mol . Nas mesmas condições o ΔG global da gliconeogênese é -16 kJ/mol . Logo, tanto a glicólise como a gliconeogênese são processos essencialmente irreversíveis nas células. Uma segunda vantagem em investir energia para converter piruvato em glicose é que se o piruvato fosse excretado, seu considerável potencial para formação de ATP pela completa oxidação aeróbia seria perdido (mais de 10 ATP são formados por piruvato, como será visto no Capítulo 16).

TABELA 14-3 Reações sequenciais na gliconeogênese a partir do piruvato

Piruvato + HCO_3^- + ATP \longrightarrow oxaloacetato + ADP + P_i	×2
Oxaloacetato + GTP \rightleftharpoons fosfoenolpiruvato + CO_2 + GDP	×2
Fosfoenolpiruvato + H_2O \rightleftharpoons 2-fosfoglicerato	×2
2-Fosfoglicerato \rightleftharpoons 3-fosfoglicerato	×2
3-Fosfoglicerato + ATP \rightleftharpoons 1,3-bifosfoglicerato + ADP	×2
1,3-Bifosfoglicerato + NADH + H^+ \rightleftharpoons gliceraldeído-3-fosfato + NAD^+ + P_i	×2
Gliceraldeído-3-fosfato \rightleftharpoons di-hidroxiacetona-fosfato	
Gliceraldeído-3-fosfato + di-hidroxiacetona-fosfato \rightleftharpoons frutose-1,6-bifosfato	
Frutose-1,6-bifosfato \longrightarrow frutose-6-fosfato + P_i	
Frutose-6-fosfato \rightleftharpoons glicose-6-fosfato	
Glicose-6-fosfato + H_2O \longrightarrow glicose + P_i	
<i>Soma:</i> 2 Piruvato + 4ATP + 2GTP + 2NADH + 2 H^+ + 4 H_2O \longrightarrow glicose + 4ADP + 2GDP + 6 P_i + 2 NAD^+	

Nota: As reações de contorno estão em vermelho; todas as outras reações são etapas reversíveis da glicólise. Os números à direita indicam que a reação é para ser contada duas vezes, já que dois precursores de três carbonos são necessários para fazer uma molécula de glicose. As reações necessárias para substituir o NADH citosólico consumido na reação da gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase (a conversão de lactato a piruvato no citosol ou o transporte de equivalentes redutores da mitocôndria para o citosol na forma de malato) não estão consideradas neste resumo. As equações bioquímicas não estão necessariamente equilibradas para H e carga elétrica (p. 517).

Os intermediários do ciclo do ácido cítrico e alguns aminoácidos são glicogênicos

A via biossintética para a formação de glicose descrita anteriormente permite a síntese líquida de glicose não apenas a partir de piruvato, mas também dos intermediários do ciclo do ácido cítrico com quatro, cinco e seis carbonos (Capítulo 16). Citrato, isocitrato, α -cetogluturato, succinil-CoA, succinato, fumarato e malato – todos são intermediários do ciclo do ácido cítrico que podem sofrer oxidação a oxaloacetato (ver Figura 16-7). Alguns ou todos os átomos de carbono da maior parte dos aminoácidos derivados das proteínas são basicamente catabolizados a piruvato ou em intermediários do ciclo do ácido cítrico. Tais aminoácidos podem, portanto, ser convertidos a glicose e são chamados de **glicogênicos** (Tabela 14-4). A alanina e a glutamina, as principais moléculas que transportam grupos amino de tecidos extra-hepáticos até o fígado (ver Figura 18-9), são aminoácidos glicogênicos particularmente importantes em mamíferos. Após a retirada de seus grupos amino da mitocôndria dos hepatócitos, os esqueletos de carbono remanescentes (piruvato e α -cetogluturato, respectivamente) são prontamente canalizados para a gliconeogênese.

Os mamíferos não podem converter ácidos graxos em glicose

Nos mamíferos não ocorre a conversão líquida de ácidos graxos em glicose. Como será visto no Capítulo 17, o catabolismo da maior parte dos ácidos graxos gera apenas acetil-CoA. Os mamíferos não podem usar a acetil-CoA como um precursor de glicose, já que a reação da piruvato-desidrogenase é irreversível e as células não possuem outra via para converter acetil-CoA em piruvato. Os vegetais, as leveduras e muitas bactérias possuem uma via (o ciclo do glicoxilato; ver Figura 16-22) para converter acetil-CoA em oxaloacetato, portanto esses organismos

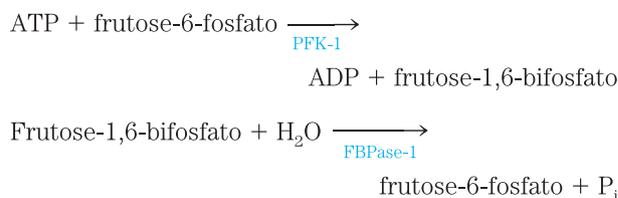
podem utilizar ácidos graxos como matéria-prima para a gliconeogênese. Isso é importante durante a germinação das sementes; por exemplo, antes de o desenvolvimento das folhas e a fotossíntese fornecerem energia e carboidratos, as plântulas contam com os estoques de óleo das sementes para a produção de energia e para a biossíntese da parede celular.

Apesar de os mamíferos não converterem ácidos graxos em carboidrato, eles podem usar a pequena quantidade de glicerol produzido na quebra das gorduras (*triacilgliceróis*) para a gliconeogênese. A fosforilação do glicerol pela glicerol-cinase, seguida pela oxidação do carbono central, gera di-hidroxiacetona-fosfato, intermediário da gliconeogênese no fígado.

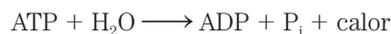
Como será visto no Capítulo 21, o glicerol-fosfato é um intermediário essencial na síntese de triacilgliceróis nos adipócitos, mas essas células carecem da glicerol-cinase e, portanto, não podem simplesmente fosforilar o glicerol. Em vez disso, os adipócitos realizam uma versão truncada da gliconeogênese, conhecida como **gliceroneogênese**: a conversão de piruvato em di-hidroxiacetona-fosfato pelas reações iniciais da gliconeogênese, seguida pela redução da di-hidroxiacetona-fosfato em glicerol-fosfato (ver Figura 21-21).

A glicólise e a gliconeogênese são mutuamente reguladas

Se a glicólise (a conversão de glicose em piruvato) e a gliconeogênese (a conversão de piruvato em glicose) ocorrerem simultaneamente em altas taxas, o resultado seria o consumo de ATP e a produção de calor. Por exemplo, PFK-1 e FBPase-1 catalisam reações opostas:



A soma dessas duas reações é



Essas duas reações enzimáticas, e várias outras nas duas vias, são reguladas alostericamente e por modificações covalentes (fosforilação). No Capítulo 15 serão vistos os mecanismos desta regulação em detalhe. Por ora, basta dizer que as vias são reguladas de forma que, quando o fluxo de glicose por meio da glicólise aumenta, o fluxo de piruvato em direção à glicose diminui, e vice-versa.

RESUMO 14.4 Gliconeogênese

► A gliconeogênese é um processo ubíquo e de múltiplas etapas em que a glicose é produzida a partir de lactato, piruvato ou oxaloacetato, ou qualquer composto (incluindo os intermediários do ciclo do ácido cítrico) que possa ser convertido a um desses intermediários. Sete etapas da gliconeogênese são catalisadas pelas

TABELA 14-4 Aminoácidos glicogênicos, agrupados conforme o local de entrada

Piruvato	Succinil-CoA
Alanina	Isoleucina*
Cisteína	Metionina
Glicina	Treonina
Serina	Valina
Treonina	
Triptofano*	Fumarato
	Fenilalanina*
	Tirosina*
α-Cetogluturato	Oxaloacetato
Arginina	Asparagina
Glutamato	Aspartato
Glutamina	
Histidina	
Prolina	

Nota: Todos esses aminoácidos são precursores da glicose sanguínea ou do glicogênio hepático, já que eles podem ser convertidos a piruvato ou intermediários do ciclo do ácido cítrico. Dos 20 aminoácidos comuns, apenas a leucina e a lisina são incapazes de fornecer carbonos para a síntese líquida de glicose.

*Esses aminoácidos também são cetogênicos (ver Figura 18-15).

mesmas enzimas usadas na glicólise; essas são as reações reversíveis.

- ▶ Três etapas irreversíveis na glicólise são contornadas por reações catalisadas pelas enzimas gliconeogênicas: (1) a conversão de piruvato em PEP via oxaloacetato, catalisada pela piruvato-carboxilase e pela PEP-carboxicinas; (2) a desfosforilação da frutose-1,6-bifosfato pela FBPase-1; e (3) a desfosforilação da glicose-6-fosfato pela glicose-6-fosfatase.
- ▶ A formação de uma molécula de glicose a partir de piruvato requer 4 ATP, 2 GTP e 2NADH, o que é dispendioso.
- ▶ Em mamíferos, a gliconeogênese no fígado, nos rins e no intestino delgado gera glicose para uso pelo cérebro, músculos e eritrócitos.
- ▶ A piruvato-carboxilase é estimulada por acetil-CoA, aumentando a taxa da gliconeogênese quando as células dispõem do fornecimento adequado de outros substratos (ácidos graxos) para a produção de energia.
- ▶ Os animais não conseguem converter acetil-CoA, derivado dos ácidos graxos, em glicose; vegetais e microrganismos, sim.
- ▶ A glicólise e a gliconeogênese são mutuamente reguladas para prevenir o gasto operacional com as duas vias ao mesmo tempo.

14.5 Oxidação da glicose pela via das pentoses-fosfato

Na maioria dos tecidos animais, o principal destino catabólico da glicose-6-fosfato é a degradação glicolítica até piruvato, cuja maior parte é então oxidada pelo ciclo do ácido cítrico, levando enfim à formação de ATP. No entanto, a glicose-6-fosfato tem outros destinos catabólicos, que levam a produtos especializados, necessários para a célula. De grande importância em alguns tecidos é a oxidação da glicose-6-fosfato até pentoses-fosfato pela **via das pentoses-fosfato** (também chamada de **via do fosfogliconato** ou **via da hexose-monofosfato**; **Figura 14-21**). Nessa via de oxidação, NADP^+ é o receptor de elétrons, gerando NADPH. As células que se dividem rapidamente, como aquelas da medula óssea, da pele e da mucosa intestinal, assim como aquelas de tumores, utilizam a pentose ribose-5-fosfato para fazer RNA, DNA e coenzimas como ATP, NADH, FADH_2 e coenzima A.

Em outros tecidos, o produto essencial da via das pentoses-fosfato não é pentose, mas o doador de elétrons NADPH, necessário para as reduções biossintéticas ou para contrapor os efeitos deletérios dos radicais de oxigênio. Os tecidos em que ocorre a síntese de grande quantidade de ácidos graxos (fígado, tecido adiposo, glândulas mamárias durante a lactação) ou a síntese muito ativa de colesterol e hormônios esteroides (fígado, glândulas suprarrenais e gônadas) utilizam o NADPH produzido por essa via. Os eritrócitos e as células da córnea e do cristalino estão diretamente expostos ao oxigênio e, por isso, aos efeitos danosos dos radicais livres gerados pelo oxigênio. Por manter

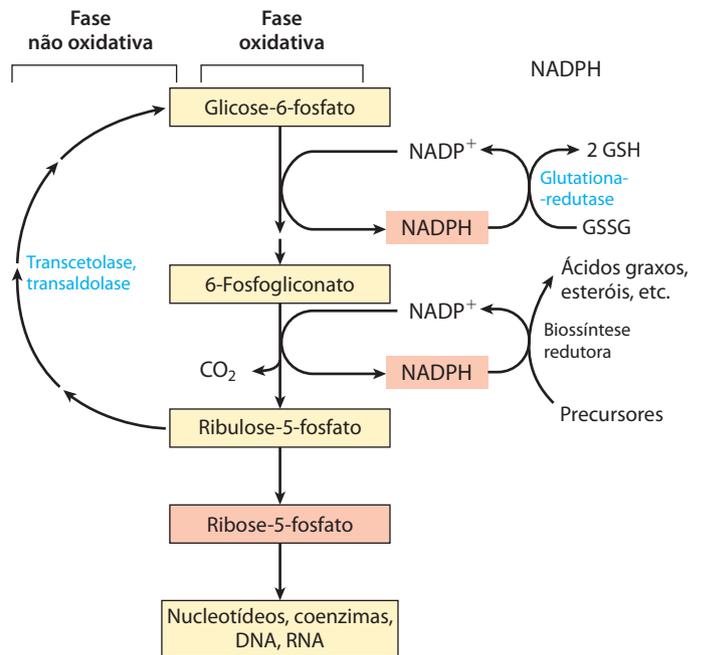


FIGURA 14-21 Esquema geral da via das pentoses-fosfato. O NADH formado na fase oxidativa é utilizado para produzir glutatona, GSSG (ver Quadro 14-4) e dar suporte para a biossíntese redutora. O outro produto da fase oxidativa é a ribose-5-fosfato, que serve como precursor para nucleotídeos, coenzimas e ácidos nucleicos. Em células que não estão utilizando a ribose-5-fosfato para a biossíntese, a fase não oxidativa regenera seis moléculas da pentose em cinco moléculas da hexose glicose-6-fosfato, permitindo a produção contínua de NADPH e convertendo glicose-6-fosfato (em seis ciclos) a CO_2 .

um ambiente redutor (uma relação alta de NADPH para NADP^+ assim como da forma reduzida para a forma oxidada da glutatona), essas células podem impedir ou recuperar o dano oxidativo de proteínas, lipídeos e outras moléculas sensíveis. Nos eritrócitos, o NADPH produzido pela via das pentoses-fosfato é tão importante em impedir o dano oxidativo que um defeito genético na glicose-6-fosfato-desidrogenase, a primeira enzima da via, pode causar, levando a sérias consequências médicas (Quadro 14-4). ■

A fase oxidativa produz pentoses-fosfato e NADPH

A primeira reação da via das pentoses-fosfato (**Figura 14-22**) é a oxidação da glicose-6-fosfato pela **glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD)** para formar 6-fosfogliconato- δ -lactona, um éster intramolecular. NADP^+ é o receptor de elétrons, e o equilíbrio global está muito deslocado no sentido da formação de NADPH. A lactona é hidrolisada ao ácido livre 6-fosfogliconato por uma **lactonase** específica, que sofre oxidação e descarboxilação pela **6-fosfogliconato-desidrogenase** para formar a cetopentose ribulose-5-fosfato; a reação gera uma segunda molécula de NADPH. (Essa ribulose-5-fosfato é importante na regulação da glicólise e da gliconeogênese, como será visto no Capítulo 15.) A **fosfopentose-isomerase** converte a ribulose-5-fosfato ao seu isômero aldose, ribose-5-fosfato. Em alguns tecidos,

QUADRO 14-4  **MEDICINA** **Por que Pitágoras não comia falafel: deficiência da glicose-6-fosfato-desidrogenase**

O feijão-fava, ingrediente do falafel, tem sido uma importante fonte de alimento no Mediterrâneo e no Oriente Médio desde a Antiguidade. O filósofo e matemático grego Pitágoras proibia seus seguidores de alimentar-se de fava, talvez porque ela deixasse muitas pessoas doentes com uma condição chamada de favismo, que pode ser fatal. No favismo, os eritrócitos começam a sofrer lise 24 a 48 horas após a ingestão dos feijões, liberando hemoglobina livre no sangue, podendo resultar em icterícia e algumas vezes em falência renal. Sintomas similares podem ocorrer com a ingestão do fármaco contra a malária, primaquina, ou antibióticos de sulfá, ou após a exposição a certos herbicidas. Esses sintomas têm uma base genética: a deficiência de glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD), que afeta em torno de 400 milhões de pessoas em todo o mundo. A maioria dos indivíduos deficientes em G6PD é assintomática. Apenas a combinação da deficiência de G6PD e certos fatores ambientais produz as manifestações clínicas.

A glicose-6-fosfato-desidrogenase catalisa a primeira etapa da via das pentoses-fosfato (ver Figura 14-22), que produz NADPH. Esse agente redutor, essencial em muitas vias biossintéticas, também protege as células do dano oxidativo causado pelo peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e pelos radicais livres superóxido, agentes oxidantes altamente reativos gerados como subprodutos metabólicos e pela ação de fármacos como a primaquina e produtos naturais como a divicina – o ingrediente tóxico do feijão-fava. Durante a detoxificação normal, H₂O₂ é convertido a H₂O pela glutatona reduzida sob a ação da glutatona-peroxidase, e a glutatona oxidada é convertida de volta à forma reduzida por glutatona-redutase e NADPH (Figura Q-1). O H₂O₂ também é degradado a H₂O e O₂ pela catalase, que também requer NADPH. Em indivíduos deficientes em G6PD, a produção de NADPH está diminuída e a detoxificação do H₂O₂ está inibida. Os danos celulares resultantes são peroxidação de lipídeos levando à degradação das membranas dos eritrócitos e oxidação de proteínas e do DNA.

A distribuição geográfica da deficiência de G6PD é instrutiva. Frequências tão altas quanto 25% ocorrem na África tropical, em partes do Oriente Médio e sul da Ásia, áreas onde a malária é mais prevalente. Além de tais observações epidemiológicas, estudos mostram que o crescimento do parasita causador da malária, *Plasmodium falciparum*, é inibido em eritrócitos deficientes em G6PD. O parasita é muito sensível ao dano oxidativo

e morre por um nível de estresse oxidativo tolerável ao hospedeiro humano deficiente em G6PD. Já que a vantagem da resistência à malária equilibra a desvantagem da baixa resistência ao dano oxidativo, a seleção natural mantém o genótipo deficiente em G6PD em populações humanas onde a malária é prevalente. Apenas em condições insuportáveis de estresse oxidativo, causado por fármacos, herbicidas ou divicina, a deficiência de G6PD causa problemas médicos graves.

Supõe-se que um fármaco antimalária, como a primaquina, atue causando estresse oxidativo ao parasita. É irônico que os fármacos contra a malária possam causar doenças em humanos pelo mesmo mecanismo bioquímico que leva à resistência à malária. A divicina também age como fármaco antimalária, e a ingestão de feijão-fava pode proteger contra a malária. Recusando-se a comer falafel, muitos pitagóricos com atividade normal da G6PD talvez, inconscientemente, tenham aumentado o risco de contrair malária.

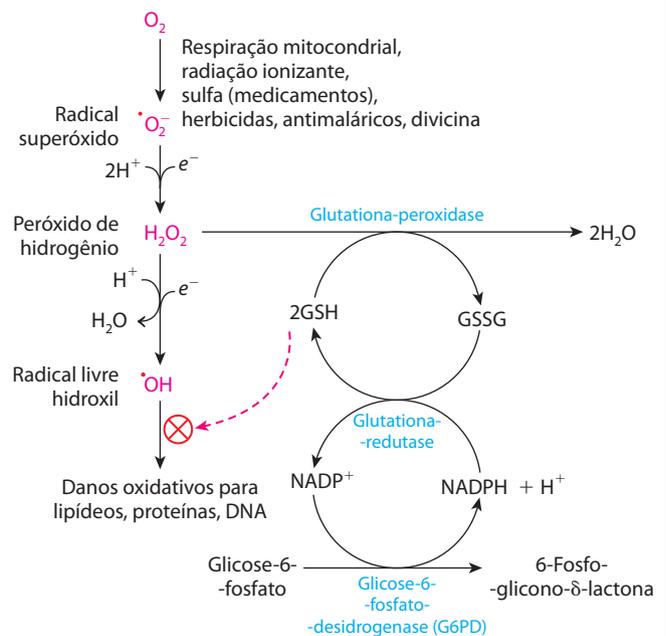
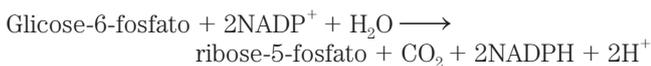


FIGURA Q-1 Papel do NADPH e da glutatona na proteção das células contra derivados de oxigênio altamente reativos. A glutatona reduzida (GSH) protege a célula por destruir o peróxido de hidrogênio e os radicais livres hidroxil. A regeneração de GSH a partir de sua forma oxidada (GSSG) requer a produção de NADPH na reação da glicose-6-fosfato-desidrogenase.

a via das pentoses-fosfato termina nesse ponto, e a equação global é



O resultado líquido é a produção de NADPH, agente redutor para as reações biossintéticas, e ribose-5-fosfato, precursor para a síntese de nucleotídeos.

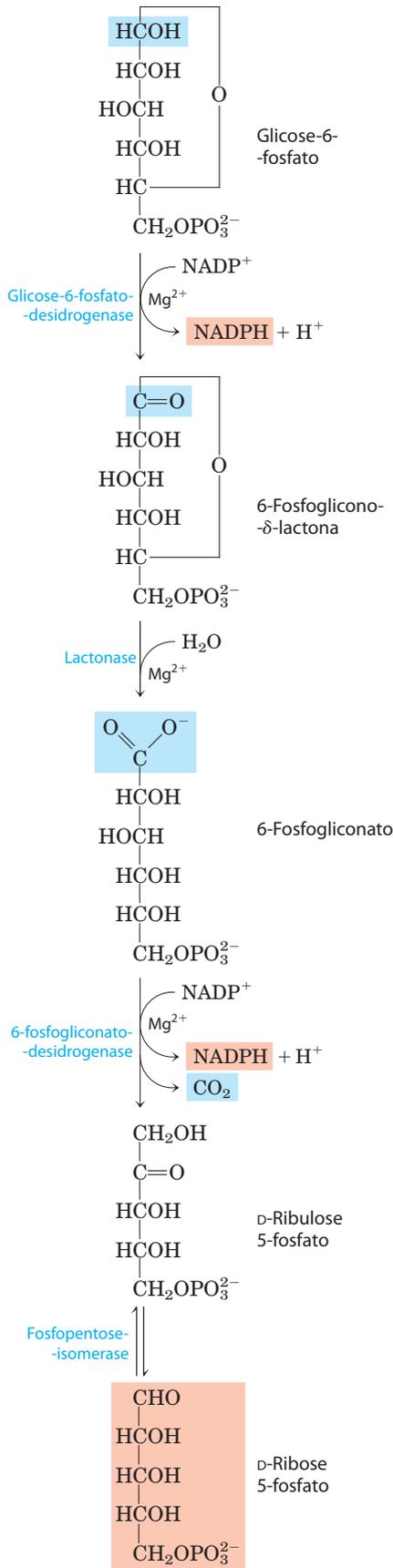
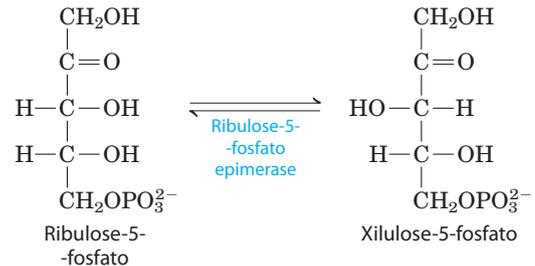


FIGURA 14-22 Reações oxidativas da via das pentoses-fosfato. Os produtos finais são ribose-5-fosfato, CO_2 e NADPH.

A fase não oxidativa recicla as pentoses-fosfato a glicose-6-fosfato

Em tecidos que requerem principalmente NADPH, as pentoses-fosfato produzidas na fase oxidativa da via são recicladas em glicose-6-fosfato. Nessa fase não oxidativa, a ribulose-5-fosfato é primeiro epimerizada a xilulose-5-fosfato:



A seguir, em uma série de rearranjos dos esqueletos de carbono (**Figura 14-23**), seis moléculas de açúcar-fosfato de cinco átomos de carbono são convertidas a cinco moléculas de açúcar-fosfato com seis átomos de carbono, completando o ciclo e permitindo a oxidação contínua de glicose-6-fosfato com a produção de NADPH. A reciclagem contínua leva finalmente à conversão de glicose-6-fosfato a seis CO_2 . Duas enzimas exclusivas da via das pentoses-fosfato agem nessas interconversões de açúcares: a transcetolase e a transaldolase. A **transcetolase** catalisa a transferência de um fragmento de dois carbonos de uma cetose doadora a uma aldose acceptora (**Figura 14-24a**). Em sua primeira aparição na via das pentoses-fosfato, a transcetolase transfere C-1 e C-2 da xilulose-5-fosfato para a ribose-5-fosfato, formando o produto de sete carbonos sedoheptulose-7-fosfato (**Figura 14-24b**). O fragmento de três carbonos remanescente da xilulose é o gliceraldeído-3-fosfato.

Em seguida, a **transaldolase** catalisa uma reação semelhante à reação da aldolase na glicólise: um fragmento de três carbonos é removido da sedoheptulose-7-fosfato e condensado com o gliceraldeído-3-fosfato, formando frutose-6-fosfato e a tetrose eritrose-4-fosfato (**Figura 14-25**). Neste ponto, a transcetolase age novamente, formando frutose-6-fosfato e gliceraldeído-3-fosfato a partir de eritrose-4-fosfato e xilulose-5-fosfato (**Figura 14-26**). Duas moléculas de gliceraldeído-3-fosfato formadas por duas repetições dessas reações podem ser convertidas a uma molécula de frutose-1,6-bisfosfato como na gliconeogênese (**Figura 14-17**), e finalmente a FBPase-1 e a fosfo-hexose-isomerase convertem frutose-1,6-bisfosfato a glicose-6-fosfato. No total, seis pentoses-fosfato são convertidas a cinco hexoses-fosfato (**Figura 14-23b**) – agora o ciclo está completo!

A transcetolase requer o cofator tiamina-pirofosfato (TPP), que estabiliza um carbânion de dois carbonos nessa reação (**Figura 14-27a**), da mesma forma que o faz na reação da piruvato-descarboxilase (**Figura 14-15**). A transaldolase usa a cadeia lateral de uma Lys para formar a base de Schiff com o grupo carbonil de seu substrato, a cetose, dessa forma estabilizando o carbânion (**Figura 14-27b**) que é central para o mecanismo da reação.

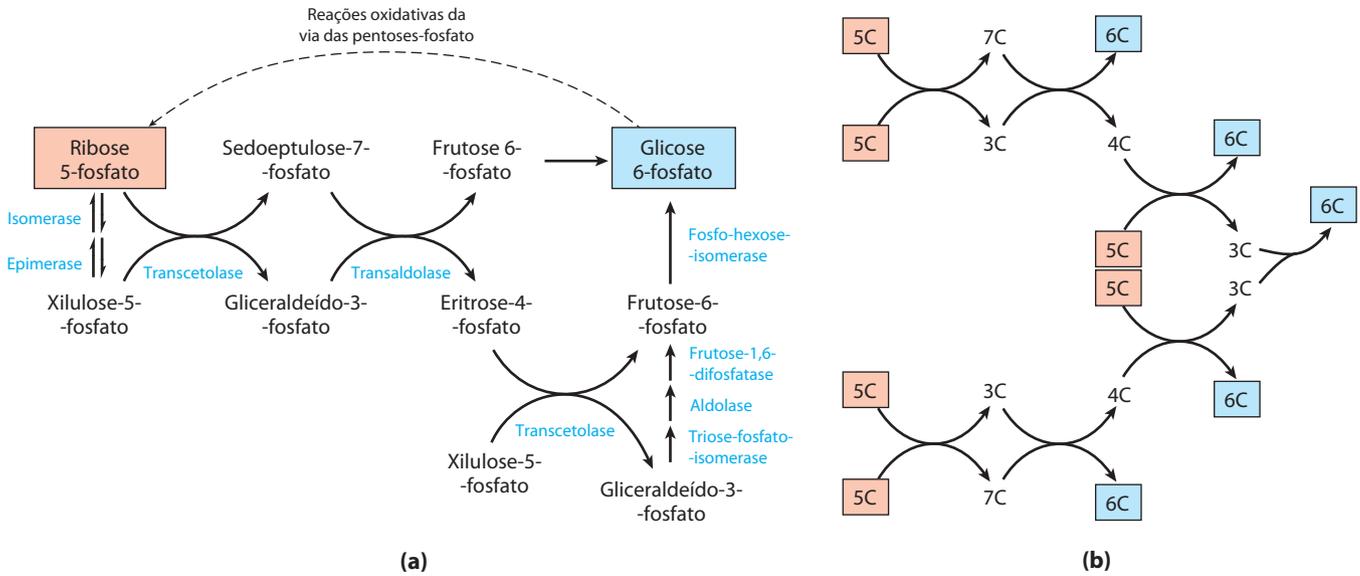


FIGURA 14-23 Reações não oxidativas da via das pentoses-fosfato. (a) Essas reações convertem pentoses-fosfato a hexoses-fosfato, permitindo a continuação das reações de oxidação (ver Figura 14-22). A transcetolase e a transaldolase são específicas dessa via; as outras enzimas também participam das vias glicolítica e gliconeogênica. (b) Diagrama esquemático mostrando a via a partir de seis pentoses (6C) a cinco hexoses (5C). Note que isto envolve dois grupos de interconversões mostrados em (a). Todas as reações mostradas aqui são reversíveis; setas unidirecionais são usadas apenas para deixar claro o sentido das reações durante a oxidação contínua da glicose-6-fosfato. Nas reações independentes de luz da fotossíntese, o sentido dessas reações é invertido (ver Figura 20-10).

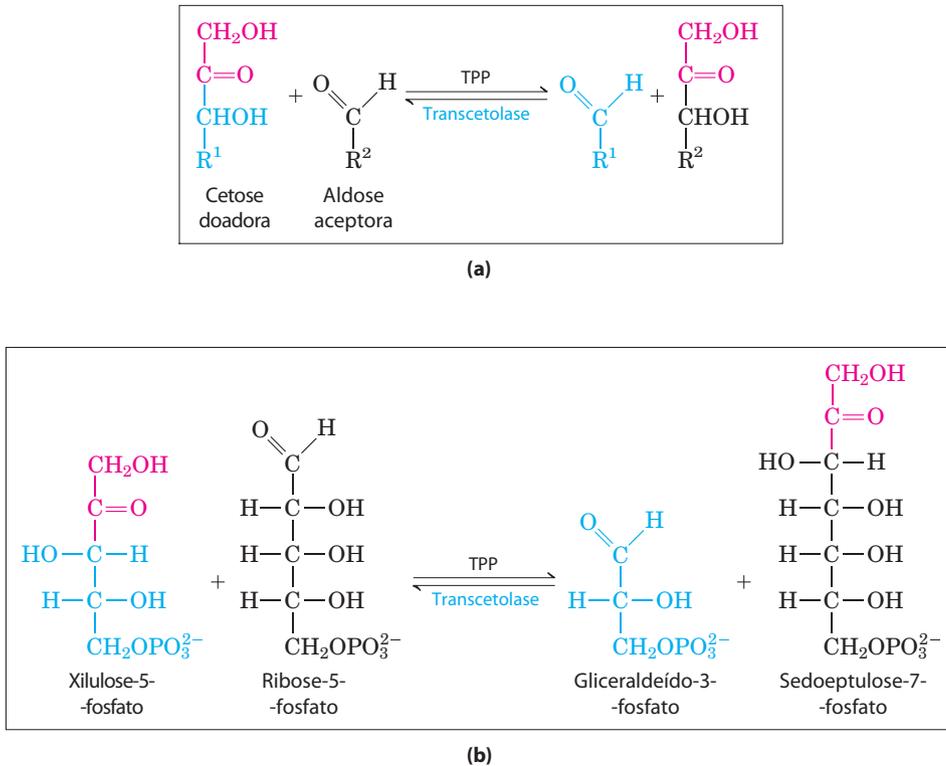


FIGURA 14-24 A primeira reação catalisada pela transcetolase. (a) A reação geral catalisada pela transcetolase é a transferência de um grupo de dois carbonos, transportado temporariamente pela TPP ligada à enzima, de uma cetose doadora para uma aldose acceptora. (b) Conversão de duas pentoses-fosfato em uma triose-fosfato e um açúcar-fosfato de sete carbonos, sedoheptulose-7-fosfato.

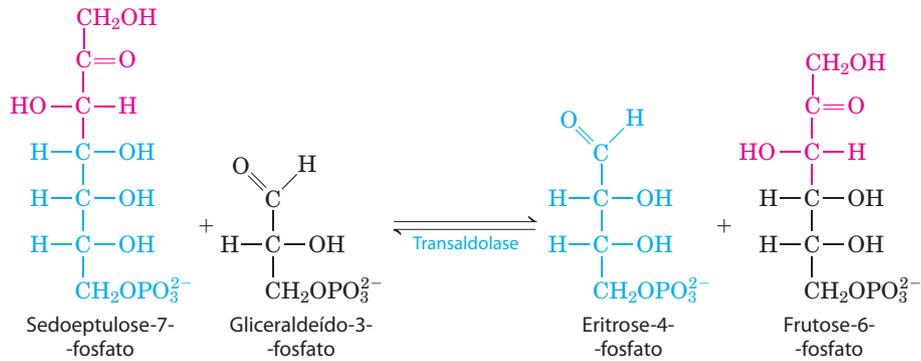


FIGURA 14-25 A reação catalisada pela transaldolase.

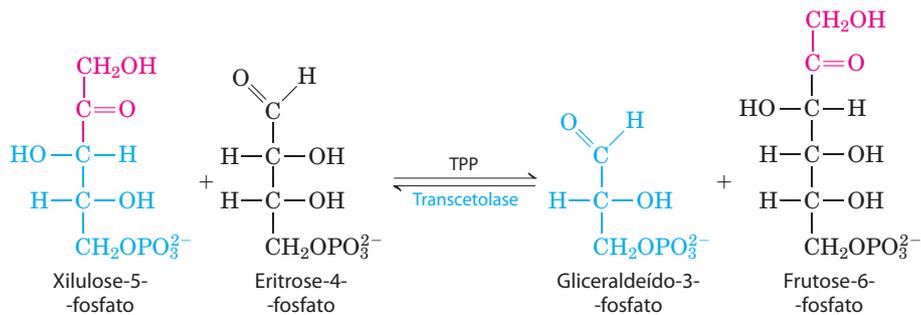
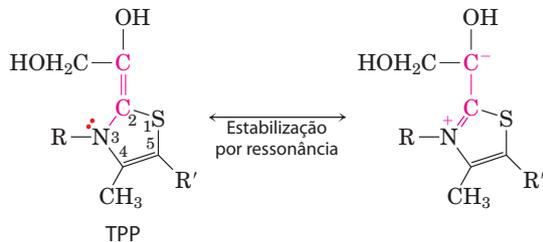


FIGURA 14-26 A segunda reação catalisada pela transcetolase.

(a) Transcetolase



(b) Transaldolase

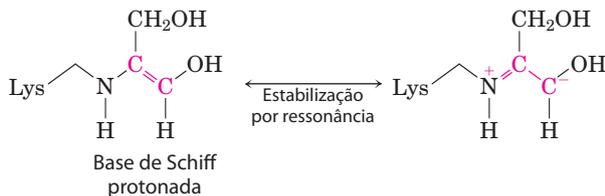


FIGURA 14-27 Intermediários carbânions estabilizados por interações covalentes com a transcetolase e a transaldolase. (a) O anel da TPP estabiliza o carbânion no grupo hidroxietil transportado pela transcetolase; ver Figura 14-15 para a química da ação da TPP. (b) Na reação da transaldolase, a base de Schiff protonada formada entre o grupo ε-amino da cadeia lateral de uma Lys e o substrato estabiliza o carbânion C-3 formado após a clivagem aldólica.

O processo descrito na Figura 14-22 é conhecido como a **via oxidativa das pentoses-fosfato**. A primeira e a terceira etapa são oxidações com grandes variações negativas de energia livre padrão e são essencialmente irreversíveis na célula. As reações da parte não oxidativa da via das pentoses-fosfato (Figura 14-23) são prontamente reversíveis e assim também proporcionam uma maneira de converter hexoses-fosfato a pentoses-fosfato. Como será visto no Capítulo 20, o processo que converte hexoses-fosfato a pentoses-fosfato é crucial para a fixação fotosintética de CO₂ pelas plantas. Essa via, a **via redutora das pentoses-fosfato**, é essencialmente o inverso das reações mostradas na Figura 14-23 e utiliza muitas das mesmas enzimas.

Todas as enzimas da via das pentoses-fosfato estão localizadas no citosol, como aquelas da glicólise e a maioria das enzimas da gliconeogênese. De fato, essas três vias estão conectadas por meio de vários intermediários e enzimas compartilhados. O gliceraldeído-3-fosfato formado pela ação da transcetolase é prontamente convertido a di-hidroxiacetona-fosfato pela enzima glicolítica triose-fosfato-isomerase, e essas duas trioses podem ser unidas pela aldolase como na gliconeogênese, formando frutose-1,6-bis-fosfato. Alternativamente, a triose-fosfato pode ser oxidada a piruvato pelas reações glicolíticas. O destino das trioses é determinado pelas necessidades relativas das células por pentoses-fosfato, NADPH e ATP.

A síndrome de Wernicke-Korsakoff é exacerbada por um defeito na transcetolase

 A síndrome de Wernicke-Korsakoff é um distúrbio causado por uma deficiência grave de tiamina, componente da TPP. A síndrome é mais comum entre pessoas alcoólatras do que na população em geral porque o consumo crônico e intenso de álcool interfere com a absorção intestinal de tiamina. A síndrome pode ser exacerbada por uma mutação no gene da transcetolase que resulta em uma enzima com baixa afinidade por TPP – uma afinidade dez vezes menor que a normal. Esse defeito torna os indivíduos muito mais sensíveis à deficiência de tiamina: mesmo uma deficiência moderada de tiamina (tolerável por indivíduos com transcetolase não mutada) faz o nível de TPP cair abaixo daquele necessário para saturar a enzima. O resultado é uma redução da velocidade de toda via das pentoses-fosfato. Em pessoas com a síndrome de Wernicke-Korsakoff isso resulta no agravamento dos sintomas, que podem incluir perda severa da memória, confusão mental e paralisia parcial. ■

A glicose-6-fosfato é repartida entre a glicólise e a via das pentoses-fosfato

A entrada da glicose-6-fosfato na glicólise ou na via das pentoses-fosfato depende das necessidades momentâneas da célula e da concentração de NADP^+ no citosol. Na ausência deste aceptor de elétrons, a primeira reação da via das pentoses-fosfato (catalisada por G6PD) não pode prosseguir. Quando a célula está convertendo rapidamente NADPH em NADP^+ em reduções biossintéticas, o nível de NADP^+ eleva-se, estimulando alostericamente G6PD e dessa forma aumentando o fluxo de glicose-6-fosfato pela via das pentoses-fosfato (**Figura 14-28**). Quando a demanda por NADPH é menor, o nível de NADP^+ diminui, a via das pentoses-fosfato também diminui, e a glicose-6-fosfato é usada para alimentar a glicólise.

RESUMO 14.5 Oxidação da glicose pela via das pentoses-fosfato

- ▶ A via *oxidativa* das pentoses-fosfato (via do fosfogliconato ou via da hexose-monofosfato) realiza a oxidação e a descarboxilação da glicose-6-fosfato em C-1, reduzindo NADP^+ em NADPH e produzindo as pentoses-fosfato.
- ▶ O NADPH fornece a força redutora para as reações biossintéticas, e a ribose-5-fosfato é um precursor para a síntese de nucleotídeos e ácidos nucleicos. Tecidos em crescimento rápido e tecidos realizando biossíntese ativa de ácidos graxos, colesterol ou hormônios esteroides enviam mais glicose-6-fosfato para a via das pentoses-fosfato do que os tecidos com menor demanda por pentoses-fosfato e poder redutor.
- ▶ A primeira fase da via das pentoses-fosfato consiste em duas oxidações, que convertem glicose-6-fosfato a ribulose-5-fosfato e reduzem NADP^+ a NADPH . A segunda fase compreende etapas não oxidativas que convertem

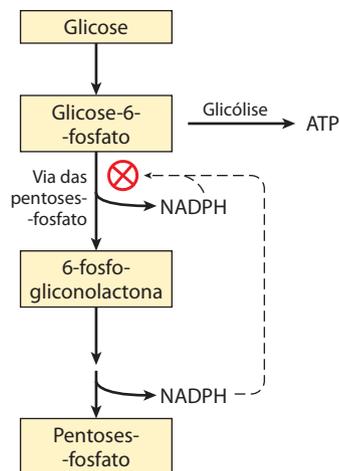


FIGURA 14-28 Papel do NADPH na regulação da partilha da glicose-6-fosfato entre a glicólise e a via das pentoses-fosfato. Quando NADPH é formado mais rápido do que está sendo consumido para biossíntese e redução da glutatona (ver Figura 14-21), a $[\text{NADPH}]$ aumenta e inibe a primeira enzima da via das pentoses-fosfato. Como resultado, mais glicose-6-fosfato está disponível para glicólise.

pentoses-fosfato a glicose-6-fosfato, que inicia o ciclo novamente.

- ▶ Na segunda fase, a transcetolase (com TPP como cofator) e a transaldolase catalisam a interconversão de açúcares de três, quatro, cinco, seis e sete átomos de carbono, com a conversão reversível de seis pentoses-fosfato a cinco hexoses-fosfato. Nas reações de fixação de carbono da fotossíntese, as mesmas enzimas catalisam o processo inverso, a via *reduzora* das pentoses-fosfato: a conversão de cinco hexoses-fosfato a seis pentoses-fosfato.
- ▶ Um defeito genético da transcetolase provoca a diminuição da sua afinidade por TPP e agrava a síndrome de Wernicke-Korsakoff.
- ▶ A entrada de glicose-6-fosfato na via glicolítica ou na via das pentoses-fosfato é basicamente determinada pelas concentrações relativas de NADP^+ e NADPH .

Termos-chave

Os termos em **negrito** estão definidos no glossário.

glicólise 544	mutases 560
fermentação 544	isomerases 560
fermentação láctica 546	intolerância à lactose 561
hipoxia 546	galactosemia 562
fermentação etanólica (alcoólica) 546	tiamina-pirofosfato (TPP) 565
isoenzimas 548	gliconeogênese 568
acil-fosfato 552	biotina 570
fosforilação no nível do substrato 553	via das pentoses-fosfato 575
fosforilação ligada à respiração 553	via do fosfogliconato 575
fosfoenolpiruvato (PEP) 554	via da hexose-monofosfato 575

Leituras adicionais

Geral

Fruton, J.S. (1999) *Proteins, Genes, and Enzymes: The Interplay of Chemistry and Biology*, Yale University Press, New Haven.

Este texto inclui uma detalhada consideração histórica sobre a pesquisa em glicólise.

Glicólise

Boiteux, A. & Hess, B. (1981) Design of glycolysis. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.* **293**, 5–22.

Uma revisão de nível intermediário da via e da visão clássica de seu controle.

Dandekar, T., Schuster, S., Snel, B., Huynen, M., & Bork, P. (1999) Pathway alignment: application to the comparative analysis of glycolytic enzymes. *Biochem. J.* **343**, 115–124.

Uma revisão de nível intermediário sobre a visão bioinformática da evolução da glicólise.

Dang, C.V. & Semenza, G.L. (1999) Oncogenic alterations of metabolism. *Trends Biochem. Sci.* **24**, 68–72.

Uma breve revisão sobre as bases moleculares para o aumento da glicólise em tumores.

Erlandsen, H., Abola, E.E., & Stevens, R.C. (2000) Combining structural genomics and enzymology: completing the picture in metabolic pathways and enzyme active sites. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **10**, 719–730.

Uma revisão de nível intermediário sobre as estruturas das enzimas glicolíticas.

Gatenby, R.A. & Gillies, R.J. (2004) Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nat. Rev. Cancer* **4**, 891–899.

Hardie, D.G. (2000) Metabolic control: a new solution to an old problem. *Curr. Biol.* **10**, R757–R759.

Harris, A.L. (2002) Hypoxia—a key regulatory factor in tumour growth. *Nat. Rev. Cancer* **2**, 38–47.

Heinrich, R., Melendez-Hevia, E., Montero, F., Nuno, J.C., Stephani, A., & Waddell, T.D. (1999) The structural design of glycolysis: an evolutionary approach. *Biochem. Soc. Trans.* **27**, 294–298.

Herling, A., König, M., Bulik, S., & Holzhütter, H.G. (2011) Enzymatic features of the glucose metabolism in tumor cells. *FEBS J.* **278**, 2436–2459.

Keith, B. & Simon, M.C. (2007) Hypoxia-inducible factors, stem cells, and cancer. *Cell* **129**, 465–472.

Revisão de nível intermediário.

Knowles, J. & Alberly, W.J. (1977) Perfection in enzyme catalysis: the energetics of triose phosphate isomerase. *Acc. Chem. Res.* **10**, 105–111.

Kresge, N., Simoni, R.D., & Hill, R.L. (2005) Otto Fritz Meyerhof and the elucidation of the glycolytic pathway. *J. Biol. Chem.* **280**, e3.

Uma breve revisão sobre os artigos clássicos, que também estão disponíveis *on-line*.

Kritikou, E. (2006) p53 turns on the energy switch. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 552–553.

Pelicano, H., Martin, D.S., Zu, R.H., & Huang, P. (2006) Glycolysis inhibition for anticancer treatment. *Oncogene* **25**, 4633–4646.

Revisão de nível intermediário.

Phillips, D., Blake, C.C.F., & Watson, H.C. (eds). (1981) The Enzymes of Glycolysis: Structure, Activity and Evolution. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.* **293**, 1–214.

Uma coleção de excelentes revisões sobre as enzimas glicolíticas, escrita em nível desafiador, mas compreensível para o estudante iniciante em bioquímica.

Plaxton, W.C. (1996) The organization and regulation of plant glycolysis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **47**, 185–214.

Uma revisão muito útil sobre a localização subcelular das enzimas glicolíticas e a regulação da glicólise em plantas.

Rose, I. (1981) Chemistry of proton abstraction by glycolytic enzymes (aldolase, isomerases, and pyruvate kinase). *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.* **293**, 131–144.

Revisão de nível intermediário sobre os mecanismos dessas enzimas.

Shirmer, T. & Evans, P.R. (1990) Structural basis for the allosteric behavior of phosphofructokinase. *Nature* **343**, 140–145.

Smith, T.A. (2000) Mammalian hexokinases and their abnormal expression in cancer. *Br. J. Biomed. Sci.* **57**, 170–178.

Uma revisão sobre as quatro enzimas hexocinases de mamíferos: suas propriedades, distribuição tecidual e sua expressão durante o desenvolvimento de tumores.

Vias alimentadoras da glicólise

Elsas, L.J. & Lai, K. (1998) The molecular biology of galactosemia. *Genet. Med.* **1**, 40–48.

Novelli, G. & Reichardt, J.K. (2000) Molecular basis of disorders of human galactose metabolism: past, present, and future. *Mol. Genet. Metab.* **71**, 62–65.

Petry, K.G. & Reichardt, J.K. (1998) The fundamental importance of human galactose metabolism: lessons from genetics and biochemistry. *Trends Genet.* **14**, 98–102.

Van Beers, E.H., Buller, H.A., Grand, R.J., Einerhand, A.W.C., & Dekker, J. (1995) Intestinal brush border glycohydrolases: structure, function, and development. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **30**, 197–262.

Fermentações

Demain, A.L., Davies, J.E., Atlas, R.M., Cohen, G., Hershberger, C.L., Hu, W.-S., Sherman, D.H., Willson, R.C., & Wu, J.H.D. (eds). (1999) *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*, American Society for Microbiology, Washington, DC.

Introdução clássica a todos os aspectos das fermentações industriais.

Liese, A., Seelbach, K., & Wandrey, C. (eds). (2006) *Industrial Biotransformations*, John Wiley & Sons, New York.

O uso de microrganismos na indústria para a síntese de produtos valiosos a partir de matérias-primas baratas.

Sticklen, M.B. (2008) Plant genetic engineering for biofuel production: towards affordable cellulosic ethanol. *Nat. Rev. Genet.* **9**, 433–443.

Gliconeogênese

Aschenback, J.R., Kristensen, N.B., Donkin, S.S., Hammon, H.M., & Penner, G.B. (2010) Gluconeogenesis in dairy cows: the secret of making sweet milk from sour dough. *IUBMB Life* **62**, 869–877.

Gerich, J.E., Meyer, C., Woerle, H.J., & Stumvoll, M. (2001) Renal gluconeogenesis: its importance in human glucose homeostasis. *Diabetes Care* **24**, 382–391.

Revisão de nível intermediário sobre a contribuição do tecido renal à gliconeogênese.

Gleeson, T. (1996) Post-exercise lactate metabolism: a comparative review of sites, pathways, and regulation. *Annu. Rev. Physiol.* **58**, 565–581.

Hers, H.G. & Hue, L. (1983) Gluconeogenesis and related aspects of glycolysis. *Annu. Rev. Biochem.* **52**, 617–653.

Matte, A., Tari, L.W., Goldie, H., & Delbaere, L.T.J. (1997) Structure and mechanism of phosphoenolpyruvate carboxykinase. *J. Biol. Chem.* **272**, 8105–8108.

Via oxidativa das pentoses-fosfato

Chayen, J., Howat, D.W., & Bitensky, L. (1986) Cellular biochemistry of glucose 6-phosphate and 6-phosphogluconate dehydrogenase activities. *Cell Biochem. Funct.* **4**, 249–253.

Horecker, B.L. (1976) Unraveling the pentose phosphate pathway. In *Reflections on Biochemistry* (Kornberg, A., Cornudella, L., Horecker, B.L., & Oro, J., eds), pp. 65–72, Pergamon Press, Inc., Oxford.

Kletzien, R.F., Harris, P.K., & Foellmi, L.A. (1994) Glucose 6-phosphate dehydrogenase: a “housekeeping” enzyme subject to tissue-specific regulation by hormones, nutrients, and oxidant stress. *FASEB J.* **8**, 174–181.

Uma revisão de nível intermediário.

Kresge, N., Simoni, R.D., & Hill, R.L. (2005) Bernard L. Horecker's contributions to elucidating the pentose phosphate pathway. *J. Biol. Chem.* **280**, e26.

Uma breve revisão sobre os artigos clássicos, que estão disponíveis *on-line*.

Martini, G. & Ursini, M.V. (1996) A new lease on life for an old enzyme. *BioEssays* **18**, 631–637.

Uma revisão de nível intermediário sobre a glicose-6-fosfato-desidrogenase, os efeitos de mutações nessa enzima em humanos e os efeitos de mutação *knock-out* em comundongos.

Notaro, R., Afolayan, A., & Luzzatto, L. (2000) Human mutations in glucose 6-phosphate dehydrogenase reflect evolutionary history. *FASEB J.* **14**, 485–494.

Perl, A., Hanczko, R., Relarico, T., Oaks, Z., & Landas, S. (2011) Oxidative stress, inflammation and carcinogenesis are controlled through the pentose phosphate pathway by transaldolase. *Trends Mol. Med.* **17**, 395–403.

Saggerson, D. (2009) Getting to grips with the pentose phosphate pathway in 1953. *Biochem J.* (doi:10.1042/BJ20081961).

Vulliamy, T., Mehta, A., Luzzatto, L. (2006) Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. In *Scriver's Online Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease* (Valle, D., Beaudet, A.L., Vogelstein, B., Kinzler, K.W., Antonarakis, S.E., Ballabio, A., eds) (<http://dx.doi.org/10.1036/ommbid.212>).

Essa clássica enciclopédia médica, última publicação em 2001 como um conjunto de quatro volumes, agora é mantida *on-line* (www.ommbid.com). Ela contém descrições dos aspectos clínicos, bioquímicos e genéticos de centenas de doenças metabólicas humanas – uma fonte autorizada e leitura fascinante.

Wood, T. (1985) *The Pentose Phosphate Pathway*, Academic Press, Inc., Orlando, FL.

Wood, T. (1986) Physiological functions of the pentose phosphate pathway. *Cell Biochem. Funct.* **4**, 241–247.

Problemas

1. Equação para a fase preparatória da glicólise. Escreva equações bioquímicas equilibradas para todas as reações do catabolismo da glicose em duas moléculas de gliceraldeído-3-fosfato (a fase preparatória da glicólise), incluindo a variação de energia livre padrão para cada reação. Depois escreva a equação global ou líquida para a fase preparatória da glicólise, com a variação de energia livre padrão líquida.

2. Fase de pagamento da glicólise em músculo esquelético. 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. 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.

3. Os transportadores GLUT. Compare a localização de GLUT4 com a de GLUT2 e GLUT3, e explique por que essas localizações são importantes na resposta do músculo, do tecido adiposo, do cérebro e do fígado à insulina.

4. Produção de etanol em leveduras. 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 25°C, utilizando os potenciais de redução padrão que estão na Tabela 13-7.

5. Variações energéticas da reação da aldolase. A aldolase catalisa a reação glicolítica



A variação de energia livre padrão para esta reação no sentido descrito é +23,8 kJ/mol. As concentrações dos três intermediários no hepatócito de um mamífero são frutose-1,6-bifosfato, $1,4 \times 10^{-5}$ M; gliceraldeído-3-fosfato, 3×10^{-6} M; di-hidroxiacetona-fosfato, $1,6 \times 10^{-5}$ M. Qual é a variação de energia livre para essa reação na temperatura corporal (37°C)?

6. O caminho dos átomos na fermentação. 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 $[1-^{14}\text{C}]$ glicose (glicose marcada em C-1 com ^{14}C) é utilizada como substrato, qual é a localização do ^{14}C no etanol produzido? Explique.

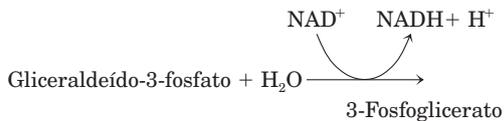
(b) Onde teria que estar localizado ^{14}C na glicose inicial para assegurar que toda atividade do ^{14}C seja liberada como $^{14}\text{CO}_2$ durante a fermentação a etanol? Explique.

7. O calor das fermentações. Os fermentadores industriais de larga escala geralmente requerem resfriamento constante e eficaz. Por quê?

8. A fermentação para a produção de molho de soja. 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. Como esses dois compostos são produzidos? 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?

9. Equivalência das trioses-fosfato. Gliceraldeído-3-fosfato marcado com ^{14}C foi adicionado a um extrato de levedura. Após um curto período de tempo, foi isolada frutose-1,6-bifosfato marcada com ^{14}C em C-3 e C-4. Qual era a localização do ^{14}C no gliceraldeído-3-fosfato inicial? De onde veio a segunda marcação com ^{14}C na frutose-1,6-bifosfato? Explique.

10. Atalho da glicólise. Suponha que você descobriu uma levedura mutante cuja via glicolítica foi encurtada devido à presença de uma nova enzima que catalisa a reação



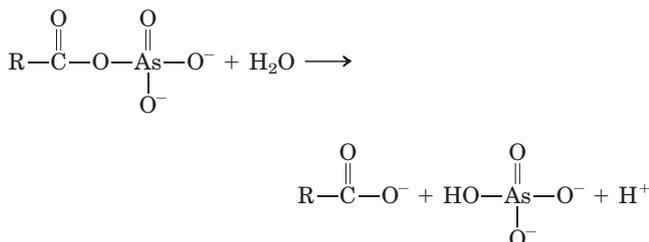
O encurtamento da via glicolítica resultante beneficiaria a célula? Explique.

11. Papel da lactato-desidrogenase. Durante atividade intensa, a demanda por ATP no tecido muscular aumenta muito. Nos músculos das pernas do coelho ou no músculo das asas do peru, o ATP é produzido quase exclusivamente por fermentação láctica. O ATP é formado na fase de pagamento da glicólise por meio de duas reações, promovidas pela fosfoglicerato-cinase e pela piruvato-cinase. Suponha que o músculo esquelético seja desprovido da lactato-desidrogenase. Poderia ele desenvolver atividade física vigorosa, ou seja, gerar ATP em alta taxa pela glicólise? Explique.

12. Eficiência da produção de ATP no músculo. 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 anaeróbica no músculo é um desperdício de glicose? Explique.

13. Variação da energia livre para a oxidação das trioses-fosfato. A oxidação do gliceraldeído-3-fosfato a 1,3-bifosfoglicerato, catalisada pela gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase, ocorre com uma constante de equilíbrio desfavorável ($K'_{\text{eq}} = 0,08$; $\Delta G'^{\circ} = 6,3 \text{ kJ/mol}$), mas o fluxo por esse ponto da via glicolítica ocorre facilmente. Como a célula supera o equilíbrio desfavorável?

14. Envenenamento por arsenato. A arsenato é estrutural e quimicamente similar ao fosfato inorgânico (P_i), e muitas enzimas que necessitam de fosfato também usariam o arsenato. No entanto, os compostos orgânicos de arsenato são menos estáveis do que os compostos de fosfato análogos. Por exemplo, acil-*arsenatos* se decompõem rapidamente por hidrólise:



Por outro lado, acil-*fosfatos*, como o 1,3-bifosfoglicerato, são mais estáveis e são transformados nas células por meio de ação enzimática.

(a) Antecipe o efeito na reação líquida catalisada pela gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase se o fosfato fosse substituído por arsenato.

(b) Qual seria a consequência para um organismo se o fosfato fosse substituído por arsenato? O arsenato é muito tóxico para a maioria dos organismos. Explique por quê.

15. Necessidade de fosfato para a fermentação alcoólica. 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: (1) Fosfato inorgânico foi essencial para a fermentação; quando o suprimento de fosfato esgotava, a fermentação parava antes que toda a glicose fosse utilizada. (2) Durante a fermentação nessas condições havia acúmulo de etanol, CO_2 e uma hexose-bifosfato. (3) 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 .

(a) Por que a fermentação cessa quando o suprimento de fosfato se esgota?

(b) 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?

(c) 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? (ver Problema 14.)

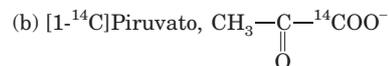
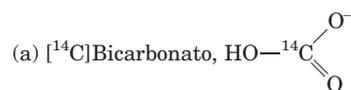
16. Papel da vitamina niacina. Adultos engajados em exercício físico intenso requerem, para nutrição adequada, uma ingestão de cerca de 160 g de carboidrato diariamente, mas apenas em torno de 20 mg de niacina. Dado o papel da niacina na glicólise, como você explica essa observação?

17. Síntese do glicerol-fosfato. O glicerol-3-fosfato necessário para a síntese de glicerofosfolípidos pode ser sintetizado a partir de um intermediário glicolítico. Proponha uma sequência de reações para essa conversão.

 **18. Gravidade dos sintomas clínicos devido à deficiência de enzimas.** Os sintomas clínicos das duas formas de galactosemia – deficiência de galactocinase ou de UDP-glicose:galactose-1-fosfato-uridiltransferase – mostram severidades radicalmente diferentes. Embora os dois tipos provoquem desconforto gástrico após a ingestão de leite, a deficiência da transferase também leva a disfunções do fígado, dos rins, do baço, do cérebro e finalmente à morte. Quais produtos se acumulam no sangue e nos tecidos em cada tipo de deficiência enzimática? Estime as toxicidades relativas desses produtos a partir da informação acima.

19. Definimento dos músculos durante o jejum prolongado. Uma consequência do jejum prolongado é a redução da massa muscular. O que acontece com as proteínas musculares?

20. A via dos átomos na gliconeogênese. Um extrato de fígado capaz de realizar todas as reações metabólicas normais do fígado é incubado por um curto período, em experimentos distintos, com os seguintes precursores marcados com ^{14}C .



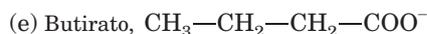
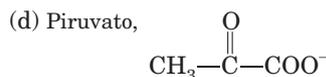
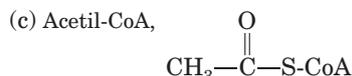
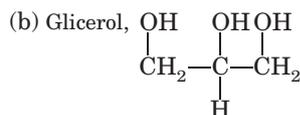
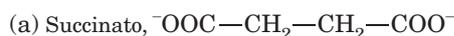
Trace a via de cada precursor ao longo da gliconeogênese. Indique a localização do ^{14}C em todos os intermediários e no produto, a glicose.

21. Custo energético de um ciclo de glicólise e gliconeogênese. Qual é o custo (em equivalentes de ATP) de transformar glicose em piruvato pela via glicolítica e de este voltar à glicose pela gliconeogênese?

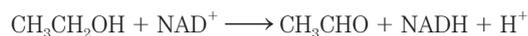
22. Relação entre gliconeogênese e glicólise. Por que é importante que a gliconeogênese não seja o inverso exato da glicólise?

23. Variações energéticas da reação da piruvato-cinase. Explique em termos bioenergéticos como a conversão de piruvato a fosfoenolpiruvato na gliconeogênese supera a grande variação negativa da energia livre padrão da reação da piruvato-cinase na glicólise.

24. Substratos glicogênicos. Um procedimento comum para determinar a eficiência de um composto como precursor de glicose em mamíferos é manter um animal faminto até que os estoques de glicogênio do fígado sejam consumidos e então administrar o composto em questão. O substrato que levar a um aumento líquido do glicogênio hepático é chamado de glicogênico, porque ele deve ser primeiro convertido a glicose-6-fosfato. Mostre por meio de reações enzimáticas conhecidas quais substratos a seguir são glicogênicos.



25. O etanol afeta os níveis de glicose no sangue. O consumo de álcool (etanol), especialmente após períodos de atividade intensa ou depois de várias horas sem comer, resulta em uma deficiência de glicose no sangue, uma condição conhecida como hipoglicemia. A primeira etapa no metabolismo do etanol pelo fígado é a oxidação a acetaldeído, catalisada pela álcool-desidrogenase hepática:



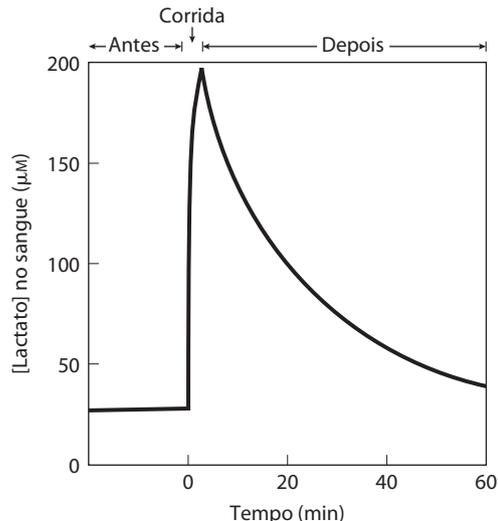
Explique como essa reação inibe a transformação de lactato em piruvato. Por que isso leva à hipoglicemia?

26. Níveis de lactato no sangue durante exercício intenso. As concentrações de lactato no plasma sanguíneo antes, durante e depois de uma corrida de 400 m estão mostradas no gráfico.

(a) O que causa o rápido aumento na concentração de lactato?

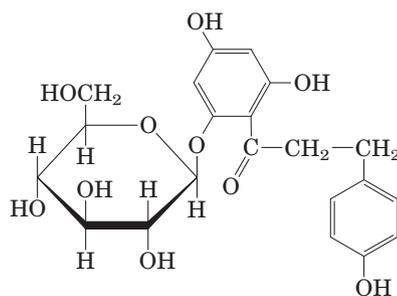
(b) O que causa o declínio da concentração de lactato após o término da corrida? Por que o declínio ocorre mais lentamente do que o aumento?

(c) Por que a concentração de lactato não é zero durante o estado de repouso?



27. Relação entre frutose-1,6-bisfosfato e os níveis de lactato no sangue. Um defeito congênito na enzima hepática 1,6-bisfosfatase resulta em níveis de lactato anormalmente altos no plasma sanguíneo. Explique.

28. Efeito da florizina no metabolismo dos carboidratos. A florizina, um glicosídeo tóxico da casca da pereira, bloqueia a reabsorção normal de glicose no túbulo renal, fazendo com que a glicose presente no sangue seja quase completamente excretada na urina. Em um experimento, ratos alimentados com florizina e succinato de sódio excretaram cerca de 0,5 mol de glicose (sintetizada por gliconeogênese) para cada 1 mol de succinato de sódio ingerido. Como o succinato é transformado em glicose? Explique a estequiometria.



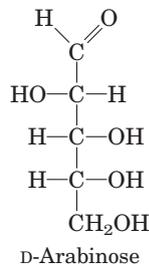
Florizina

29. Excesso de captação de oxigênio durante a gliconeogênese. O lactato absorvido pelo fígado é convertido em glicose, com o consumo de 6 mols de ATP por mol de glicose produzida. A extensão desse processo em uma preparação de fígado de rato pode ser monitorada pela administração de $[^{14}\text{C}]$ lactato e pela medida da quantidade de $[^{14}\text{C}]$ glicose produzida. Como a estequiometria entre o consumo de O_2 e a produção de ATP é conhecida (cerca de 5 ATP por O_2), pode-se prever o consumo extra de O_2 , acima da velocidade normal, quando uma dada quantidade de lactato é administrada. No entanto, quando o O_2 extra utilizado na síntese de glicose a partir de lactato é efetivamente medido, é sempre maior que o predito pela relação estequiométrica conhecida. Sugira uma explicação possível para essa observação.

30. Papel da via das pentoses-fosfato. Se a oxidação da glicose-6-fosfato pela via das pentoses-fosfato estivesse sendo utilizada para gerar principalmente NADPH para reações de biossíntese, o outro produto, ribose-5-fosfato, se acumularia. Que problemas isto poderia causar?

Problema de análise de dados

31. Criando um sistema de fermentação. A fermentação de matéria vegetal para a produção de etanol combustível é um método potencial para reduzir o uso de combustíveis fósseis e assim as emissões de CO₂ que levam ao aquecimento global. Muitos microrganismos podem degradar celulose e então fermentar a glicose a etanol. No entanto, muitas fontes potenciais de celulose, incluindo resíduos da agricultura e *switchgrass* (*Panicum virgatum*, gramínea perene nativa da América do Norte), também contêm quantidades substanciais de arabinose, que não é tão facilmente fermentada.



A *Escherichia coli* é capaz de fermentar arabinose a etanol, mas a bactéria não é naturalmente tolerante a altos níveis de etanol, dessa forma limitando sua utilidade para a produção de etanol comercial. Outra bactéria, *Zymomonas mobilis*, é naturalmente tolerante a altos níveis de etanol, mas não pode fermentar arabinose. Deanda, Zhang, Eddy e Picataggio (1996) descreveram seus esforços para combinar as principais características úteis desses dois organismos, introduzindo os genes das enzimas metabolizadoras de arabinose de *E. coli* em *Z. mobilis*.

(a) Por que essa é uma estratégia mais simples que o inverso: criar *E. coli* mais tolerante a etanol?

Deanda e colaboradores inseriram cinco genes de *E. coli* no genoma de *Z. mobilis*: *araA*, codifica L-arabinose-isomerase, que interconverte L-arabinose em L-ribulose; *araB*, L-ribulocinase, que usa ATP para fosforilar L-ribulose em C-5; *araD*, L-ribulose-5-fosfato-epimerase, que interconverte L-ribulose-5-fosfato em L-xilulose-5-fosfato; *talB*, transaldolase; e, *tktA*, transcetolase.

(b) Descreva brevemente a transformação química catalisada por cada uma das três enzimas *ara* e, quando possível, indique uma enzima discutida neste capítulo que realize uma reação análoga.

Os cinco genes de *E. coli* inseridos em *Z. mobilis* permitiram a entrada da arabinose na fase não oxidativa da via das pentoses-fosfato (Figura 14-23), na qual ela foi convertida em glicose-6-fosfato e fermentada a etanol.

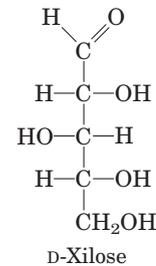
(c) As três enzimas converteram enfim a arabinose em que açúcar?

(d) O produto da parte (c) alimenta a via mostrada na Figura 14-23. Combinando as cinco enzimas de *E. coli* listadas com as enzimas dessa via, descreva a via global para a fermentação de seis moléculas de arabinose a etanol.

(e) Qual é a estequiometria da fermentação de seis moléculas de arabinose a etanol e CO₂? Quantas moléculas de ATP você esperaria que essa reação gerasse?

(f) *Zymomonas mobilis* utiliza uma via para a fermentação etanólica levemente diferente daquela descrita neste capítulo. Como resultado, o rendimento de ATP esperado é apenas 1 ATP por molécula de arabinose. Apesar disso ser menos benéfico para a bactéria, é melhor para a produção de etanol. Por quê?

Outro açúcar comumente encontrado em material vegetal é a xilose.



(g) Quais enzimas adicionais você precisaria introduzir na linhagem de *Z. mobilis* modificada, descrita anteriormente, para capacitá-la a usar xilose assim como arabinose para produzir etanol? Você não precisa nomear as enzimas (elas nem mesmo devem existir); apenas cite as reações que elas precisariam catalisar.

Referência

Deanda, K., Zhang, M., Eddy, C., & Picataggio, S. (1996) Development of an arabinose-fermenting *Zymomonas mobilis* strain by metabolic pathway engineering. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**, 4465-4470.

Esta página foi deixada em branco intencionalmente.