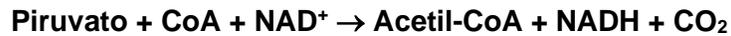
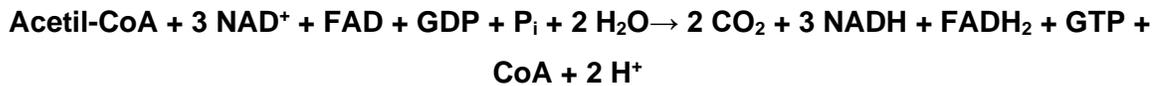


CICLO DE KREBS

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



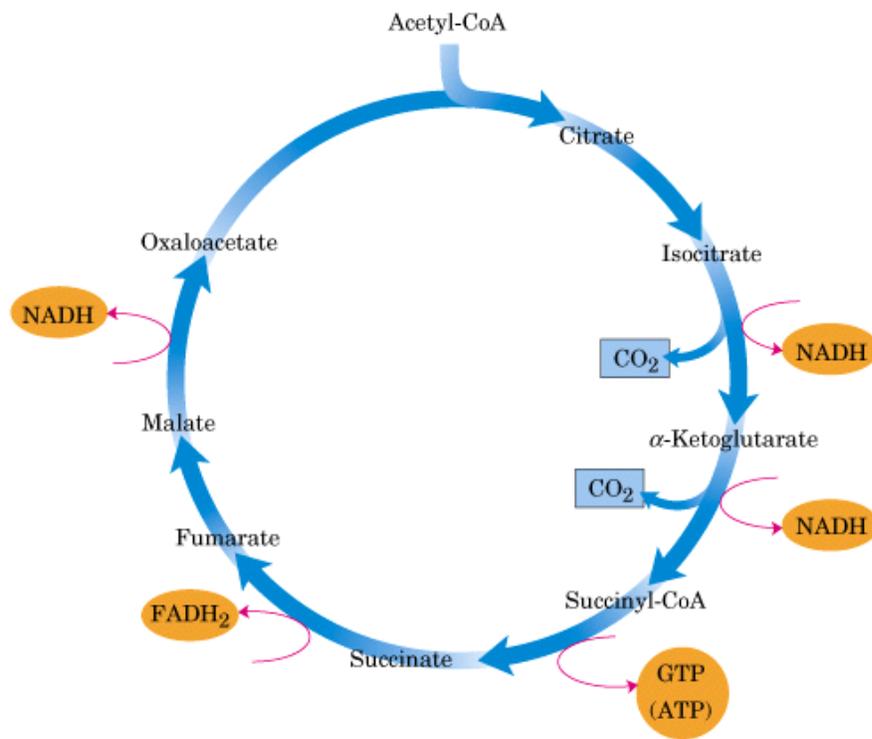
2. O acetilCoA resultante da metabolização do piruvato é totalmente oxidado no ciclo do ácido cítrico, também chamado ciclo de Krebs, conforme a seguinte reação geral:



O ciclo de Krebs, esquematizado na figura, compreende 8 reações, envolvendo 8 enzimas e 8 ácidos carboxílicos, di e tri-ácidos, todos dispersos na matriz da mitocôndria. Portanto, começando no piruvato e passando pelo acetilCoA, ocorre oxidação completa desses metabolitos liberando 3CO₂ sem participação de O₂ molecular. Os agentes oxidantes em todas as reações são NAD⁺ ou FAD e as formas reduzidas destas co-enzimas (NADH + FADH₂), resultantes do processo, só são reoxidadas na cadeia respiratória, uma via especializada que se localiza na membrana mitocondrial interna e será considerada mais adiante.

1. O ciclo de Krebs, conforme sua reação geral indica, é essencialmente catabólico, pois promove a oxidação do radical acetil a 2CO₂ e retém parte da energia livre desta reação na forma de coenzimas reduzidos que, posteriormente, servirão à produção de ATP através da fosforilação oxidativa. Para cumprir esta função basta que os 8 intermediários do ciclo ocorram em concentrações catalíticas. Mas, o ciclo possui outra função, além da catabólica, diversos de seus intermediários alimentam as vias de síntese de aminoácidos, lipídeos e glicose, isto é, o ciclo tem também função anabólica e, portanto, deve ser classificado como anfibólico. Para que o ciclo desempenhe concomitantemente ambas as funções, catabólica e anabólica, as concentrações dos intermediários são mantidas e controladas através de um complexo sistema de reações auxiliares, conhecidas como reações anapleróticas. Um exemplo de reação anaplerótica é a carboxilação de piruvato para obter oxalacetato, catalisada pela enzima piruvato carboxilase.

2. A transformação de piruvato em acetil-CoA, é uma reação para a qual convergem diversas vias catabólicas e anabólicas, além da glicólise. Por esse motivo a piruvato desidrogenase está sujeita a um controle altamente elaborado, compreendendo dois níveis de regulação: a) controle alostérico através da inibição pelo produto, exercido por NADH e acetil-CoA; b) modificação covalente reversível da subunidade E₁ da enzima, por fosforilação/desfosforilação.
3. As enzimas citrato sintase, isocitrato desidrogenase e α -cetoglutarato desidrogenase são as reguladoras do fluxo metabólico através do ciclo de Krebs e estão sujeitas a controle alostérico, envolvendo NADH como inibidor e Ca⁺ e ADP como ativadores.



http://www.iubmb-nicholson.org/swf/tca_cycle_v9.swf

Exercícios Aula 13 parte 1 (atente-se que existe a parte 2 sobre glicogênio)

1. Quais enzimas catalisam reações irreversíveis no ciclo de Krebs? Explicar como funciona sua regulação alostérica caso exista.
2. Quais são os efetadores alostéricos da isocitrato desidrogenase? Como atuam?
3. Que composto do ciclo de Krebs acumula-se quando a razão ATP/ADP é alta? E quando a razão NAD⁺/NADH é baixa?

4. Indicar a direção preferencial da reação catalisada pela aconitase se reagentes e produtos estiverem em concentrações equivalentes. Explique.
5. Verificar se é possível a ocorrência do ciclo de Krebs adicionando-se a um tubo que contém, além das enzimas e coenzimas:
- a. acetil-CoA b. oxaloacetato c. acetil-CoA + oxaloacetato d. acetil-CoA + succinato
- Em cada caso, qual o porcentual do composto adicionado estará presente no final da reação?
6. A síndrome de Wernicke-Korsakoff é caracterizada por confusão mental, ataxia, oftalmoplegia e letargia, observada normalmente em alcoólatras crônicos. Esta síndrome pode ser revertida completamente através da administração de tiamina. Baseado nesses dados, explique a causa da doença e porque compromete principalmente as funções cerebrais.
7. A deficiência de biotina, uma doença rara, causa intolerância a exercício e hipoglicemia de jejum. Explique esse quadro clínico.
- 8) Uma suspensão de mitocôndrias, suplementada com acetil-CoA marcada com C^{14} , produz CO_2 marcado apenas quando suprida de oxigênio. Em condições anaeróbicas, a adição de azul de metileno restaura a produção de CO_2 marcado, observando-se também a descoloração do corante (azul de metileno reduzido é incolor). Explique estes dados.

METABOLISMO DO GLICOGÊNIO

1. O glicogênio é um polissacarídeo que funciona como forma de reserva de energia em animais e microrganismos. Em animais, o glicogênio está depositado no fígado, um órgão central de reserva de energia, e, também, nos músculos, onde é degradado localmente. O glicogênio hepático é exportado para manter a glicemia.
2. A natureza polimérica e semi-solúvel do glicogênio constitui-se numa maneira perfeita de armazenar energia na forma de glicose. O estoque de glicogênio do fígado na forma de glicose causaria tamanha pressão osmótica, que a viabilidade do hepatócito seria impossível.
3. O glicogênio é um polímero de α -D-glico-piranosose altamente ramificado. Na cadeia os monômeros são interligados por ligações glicosídicas α (1→4); nos pontos de ramificação a ligação também é glicosídica, mas α (1→6).

4. A glicose, na forma de glicose-1-P, é liberada da reserva de glicogênio pela fosforólise da ligação α (1→4) da extremidade não redutora do polímero. Esta reação é catalisada pela

glicogênio fosforilase.

5. A glicogênio fosforilase degrada até restarem 4 resíduos antes de uma ramificação até que a enzima desramificadora transfere 3 dos 4 resíduos para outra extremidade da cadeia de glicogênio formando uma nova ligação α (1→4). O resíduo restante está ligado a cadeia pela ligação α (1→6) que é hidrolisada pela enzima desramificadora através de sua atividade α (1→6) glicosidase.

6. Glicose-1-fosfato é convertida a glicose-6-fosfato pela fosfoglicomutase, esta pode ser liberada pela circulação no fígado pela ação da glicose-6-fosfatase ou degradada pelo músculo.

7. A síntese do glicogênio se dá através de via uma diferente da de degradação. A glicose-1-P é primeiro ativada à uridinadifosfato-glicose, ou simplesmente UDP-G. UDP-G é o substrato da glicogênio sintase que catalisa a adição de um resíduo de glicose ao carbono 4 da glicose de uma extremidade não redutora do glicogênio, liberando ainda como produto UDP. Esta reação necessita de cadeias glicogênicas pré-existentes que funcionam como PRIMER da reação, oferecendo extremidades não redutoras para reagir com UDP-G.

Gli 6-P = Gli 1-P

Gli 1-P + UTP \rightleftharpoons UDP-Gli + PPI (1-fosfato uridil transferase)

UDP-Gli + glicogênio (n) \rightleftharpoons UDP + glicogênio (n + 1)

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

PPI + H₂O \rightleftharpoons 2 PI (pirofosfatase)

UDP + ATP \rightleftharpoons UTP + ADP (nucleosídeo difosfato quinase)

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

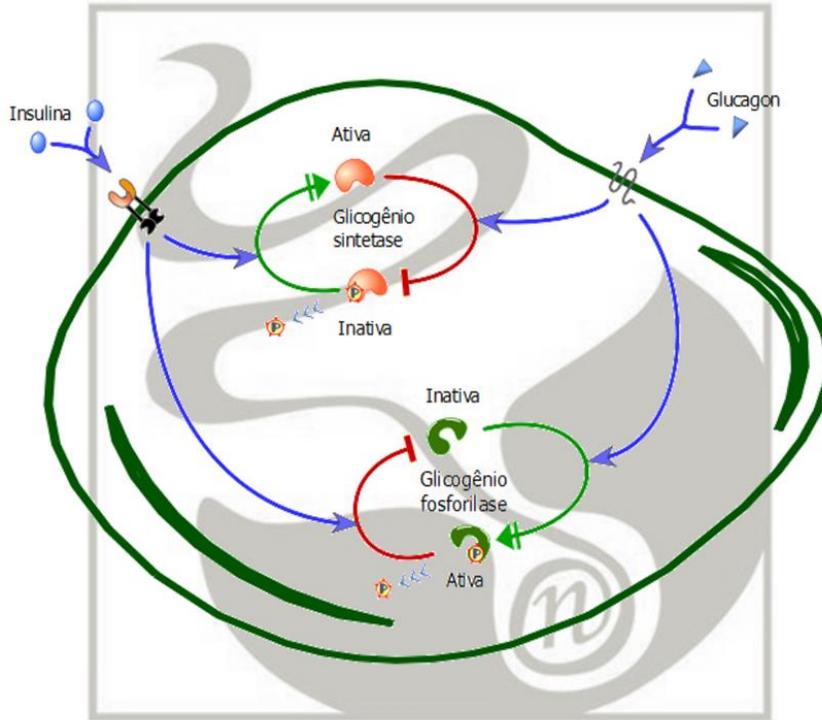
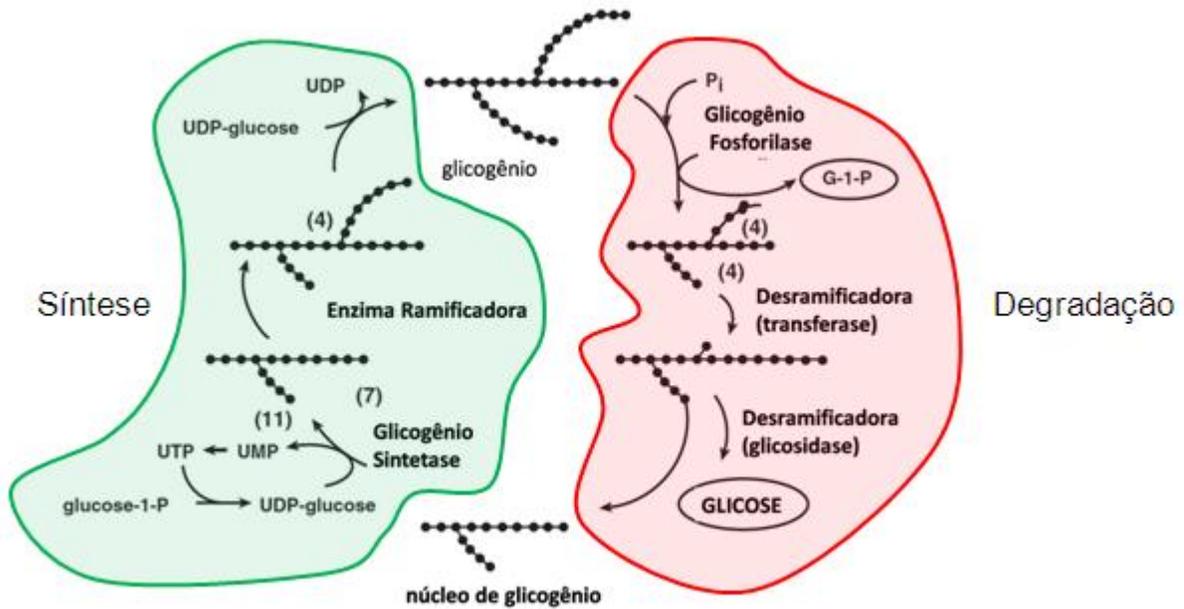


Figura 1- Ação da insulina e do glucagon na ativação e inativação das enzimas glicogênio sintetase e glicogênio fosforilase.



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



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

9. Ambas fosforilase e sintase são reguladas por fosforilação (modificação covalente) em resíduos específicos de serina, reações catalisadas pela mesma proteína-quinase que possui dupla especificidade, sendo por isso chamada de sintase-fosforilase quinase. A fosforilase e a sintase são espécies fosforiladas, portanto a fosforilação, catalisada pela sintase-fosforilase quinase, causa ativação da fosforilase e inativação da sintase.

10. A fosforilase a e a sintase I (formas ativas), por um lado, e a fosforilase b e a sintase D (formas não ativas), por outro, são, respectivamente interconvertíveis. Para tanto é necessário que fosforilase a e a sintase I sejam desfosforiladas, através de uma reação que requer catálise. A principal enzima, catalisadora comum destas desfosforilações, é a fosfoproteína fosfatase 1.

11. A integração metabólica requerida pelo bom funcionamento do organismo faz com que as interconversões coordenadas da fosforilase e sintase do glicogênio no fígado, por fosforilação, sejam controladas extracelularmente por hormônios específicos, principalmente: adrenalina, glucagon e insulina.

12. As formas inativas fosforilase b e sintase D são intracelularmente estimuladas por fatores alostéricos positivos, por razões de economia interna do metabolismo celular, independentemente de controle hormonal. São estimuladores alostéricos da fosforilase b e sintase D, respectivamente, 5'-AMP e glicose-6P.

Exercícios Aula 13 parte 2

1. As duas extremidades do glicogênio são idênticas? Todas as ligações glicosídicas encontradas no glicogênio são do tipo α -1-4 ou α -1-6. Correto?
2. Quais são as diferenças entre as reações de degradação intracelular e digestiva do glicogênio quanto aos reagentes e produtos?
3. As degradações do glicogênio no fígado e no músculo iniciam-se por estímulos hormonais diferentes; a partir de que etapa os processos são idênticos?

4. É possível a degradação de glicogênio na ausência de ATP?
5. Qual a finalidade das reservas de glicogênio do fígado e músculo? Qual a principal diferença bioquímica entre esses tecidos?
6. Equacione as etapas de mobilização da glicose a partir do glicogênio no fígado e no músculo. Mostre:
 - a) no fígado (desde a fosforólise até a liberação de glicose no plasma);
 - b) no músculo (desde a fosforólise até o aproveitamento na glicólise).

Indique as enzimas envolvidas, reagentes e produtos das reações. Neste exercício, não se preocupe com a regulação das vias.

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