

QBQ0204- bioquímica: estruturas e metabolismo

SÍNTESE DE LIPÍDIOS

(monitor responsável: Flávia)

1. Por que grande concentração mitocondrial de ATP resulta no aparecimento de quantidades apreciáveis de acetil-CoA no citossol?

A síntese de ácidos graxos ocorre quando há excesso de carboidratos e lipídeos. Nesse caso, há maior concentração de ATP, e a razão $[ATP]/[ADP]$ fica maior. A enzima isocitrato desidrogenase, enzima do ciclo de Krebs que converte isocitrato a alfa-cetoglutarato, tem como efetador positivo o ADP. Nas condições de excesso de carbono, diminui-se a concentração de ADP e a isocitrato desidrogenase fica inibida, e dessa forma, o ciclo de Krebs não prossegue.

O citrato mitocondrial, gerado pela enzima citrato sintase, é formado por acetil-CoA e oxaloacetato, e é capaz de passar a membrana da mitocôndria, ao contrário do acetil-CoA. Esse acúmulo de citrato atravessa a membrana da mitocôndria, pela enzima tricarboxilato translocase e vai para o citossol.

Uma vez no citossol, a citrato liase cliva o citrato, regenerando oxaloacetato e acetil-CoA às custas de ATP. Enquanto o oxaloacetato é reduzido à malato pela malato desidrogenase citossólica, este mesmo malato é convertido a piruvato pela enzima málica (gerando NADPH), sendo o piruvato levado novamente ao interior da membrana pela piruvato translocase, onde uma vez na mitocôndria, o piruvato é convertido à oxaloacetato pela enzima piruvato carboxilase. Já a acetil-CoA no citossol será direcionado para a síntese de lipídeos.

2. Que semelhança existe entre as reações catalisadas pela enzima málica e pela glicose 6-fosfato desidrogenase?

A glicose 6-fosfato desidrogenase é uma enzima da via das pentoses-fosfato que catalisa a conversão de glicose 6-fosfato em glicono δ -lactona 6-fosfato, às custas da redução de $NADP^+$:



O NADPH atua como um efetador alostérico negativo da enzima glicose 6-fosfato desidrogenase, então quanto maior for a concentração de NADPH, mais a glicose será direcionada para a via glicolítica.

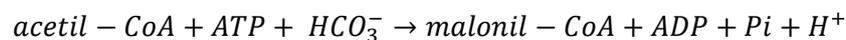
A enzima málica converte malato a piruvato, também produzindo NADPH:



Dessa forma, as duas são reações de oxidorredução, com formação de NADPH. Tanto o NADPH fornecido pela enzima málica quanto o fornecido pela glicose 6-fosfato desidrogenase poderão ser usados como agente redutor na síntese de ácidos graxos: tanto na etapa de redução de β -cetoacil-ACP para β -hidroxiacil-ACP, quanto de enoil-ACP para butiril-ACP.

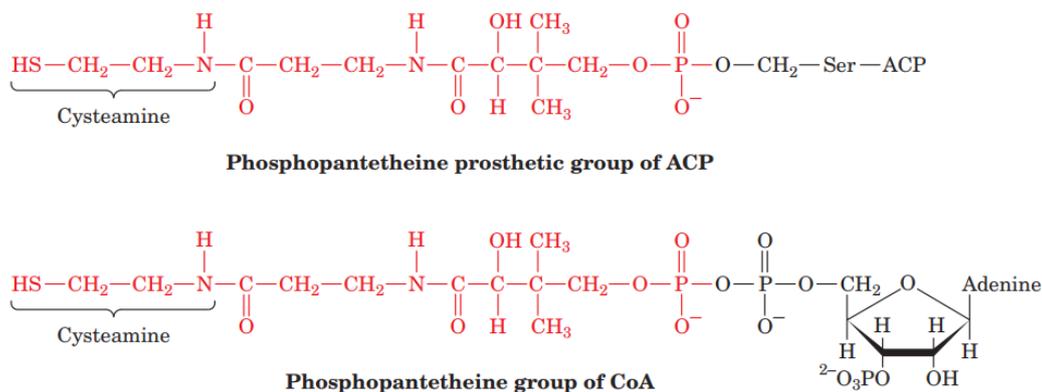
3. Por que a síntese de malonil-CoA é favorecida quando a concentração citossólica de citrato é elevada?

O malonil-CoA é fundamental para a síntese de ácidos graxos. A enzima que sintetiza malonil-CoA a partir de acetil-CoA no citossol é a acetil-CoA carboxilase. O citrato atua como efetador alostérico positivo da acetil-CoA carboxilase, lembrando que a concentração de citrato citossólico aumenta com o aumento da razão $[ATP]/[ADP]$, visto que a isocitrato desidrogenase ficará inibida na mitocôndria, levando ao acúmulo e direcionamento do citrato ao citossol.



4. Apontar semelhanças e diferenças na estrutura e na função de ACP e coenzima A.

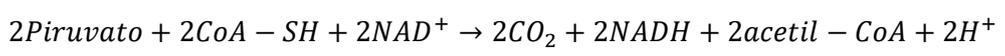
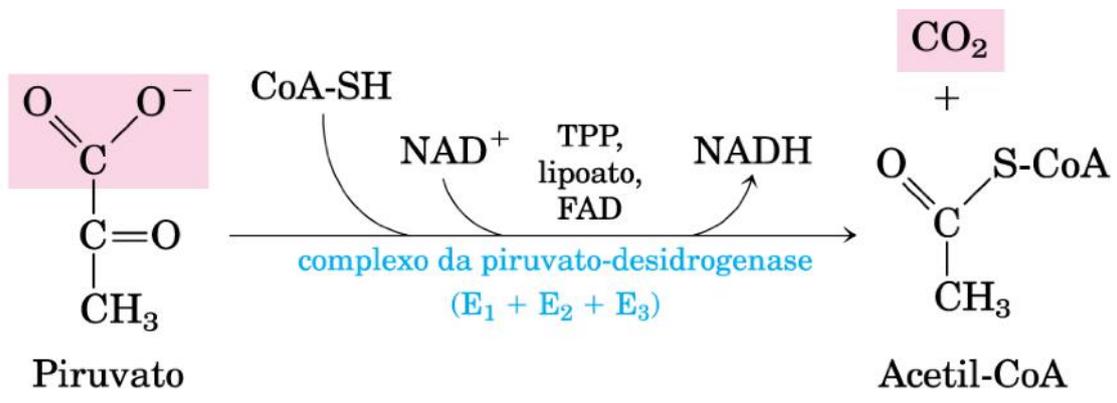
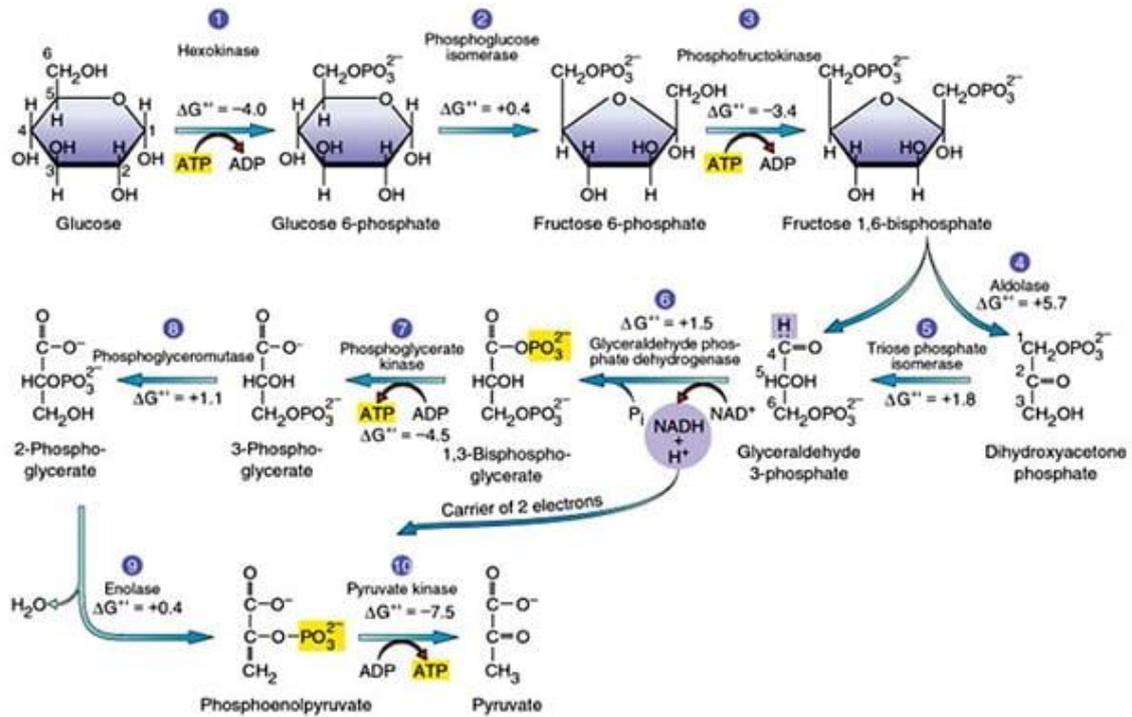
ACP (Acil-carrier-protein, proteína carreadora de acila) é uma enzima que, semelhantemente a coenzima A, possui um grupo fosfopanteteína, que forma ligação tioéster com acilas.



Entretanto, a ACP, apesar de possuir o mesmo grupo, difere da Coenzima A: na Coenzima A, o grupo fosfopanteteína se liga a uma Adenosina difosfato fosfato (ADP), enquanto na ACP, a fosfopanteteína se liga à hidroxila de um resíduo de serina que constitui a proteína.

5. Se fosse fornecida à uma célula glicose marcada com H³, seria possível encontrar ácidos graxos também marcados com esse isótopo?

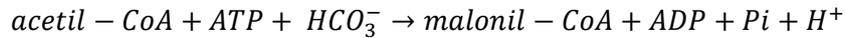
Sim. Considerando que na glicólise não haveria a perda desse hidrogênio, e que a glicose no final, formaria duas moléculas de piruvato marcadas, que posteriormente, poderiam ser convertidas em acetil-CoA pelo complexo piruvato desidrogenase. Nessa reação, há a perda de CO₂, mas não de hidrogênio.



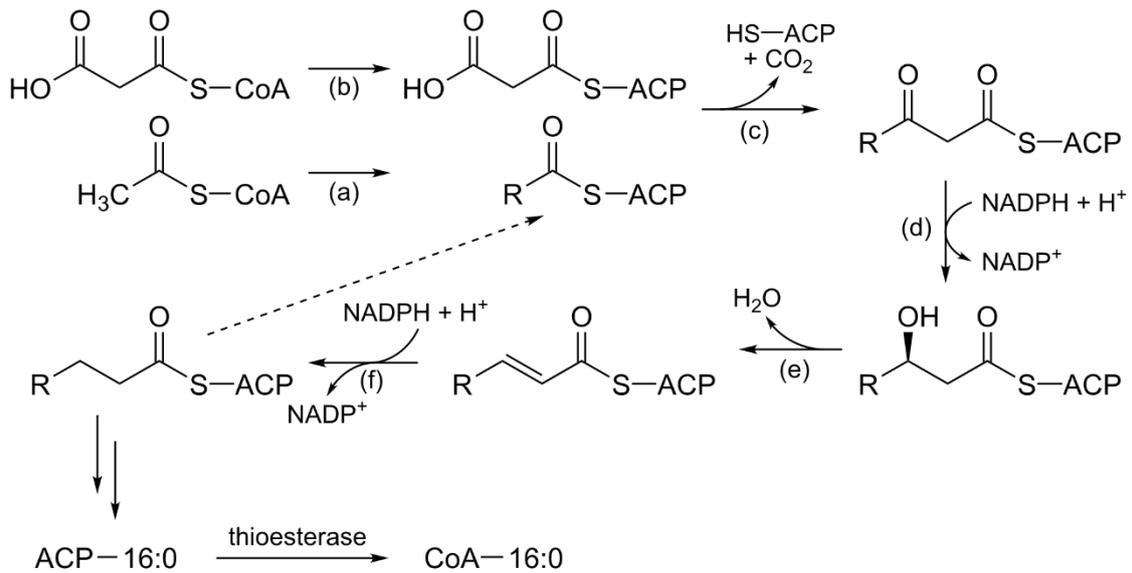
Esse acetil-CoA marcado, com oxaloacetato, poderia formar citrato, catalisado pela citrato sintase. Em situação de excesso de carboidratos, o ciclo de Krebs ficará inibido e o citrato será transportado da mitocôndria para o citossol pela tricarboxilato translocase. Uma vez no citossol, a citrato liase quebrará novamente o citrato em acetil-CoA e oxaloacetato:



A porção acetil provém da própria porção do citrato que foi formada por acetil na mitocôndria. Esse acetil-CoA citossólico poderá ser convertido à malonil-CoA, com a perda de um hidrogênio. Porém, existe a possibilidade que o hidrogênio retirado não seja o radioisótopo:



O malonil-CoA ou o acetil-CoA contendo o radioisótopo então poderão ser incluídos na cadeia de síntese do ácido graxo. Lembrando que haverá perdas de hidrogênios para o acréscimo de cada acetil, porém, sempre há a probabilidade de um hidrogênio marcado permanecer.



6. Quantas moléculas de glicose precisam ser oxidadas a glicona δ lactona 6-fosfato para gerar os equivalentes redutores necessários à síntese de palmitato?

O ácido palmítico possui 16 carbonos. A primeira volta da síntese de ácido graxo forma uma cadeia de 4 carbonos (butiril-ACP), uma vez que une acetil de acetil-CoA com malonil de malonil-CoA. Sobram então 16-4= 12 carbonos. Os ciclos subsequentes ao primeiro acrescentam 2 carbonos de malonil-CoA a cada volta, então 12/2=6 voltas. Dessa forma, para a síntese do palmitato/ácido palmítico, serão necessárias 7 voltas. Cada volta gasta 2 NADPH na síntese, logo 7*2=14 NADPH.



A oxidação de glicose 6-fosfato à glicona δ lactona 6-fosfato gera um NADPH, portanto, seriam necessárias a oxidação de 6 moléculas de glicose 6-fosfato, que provém da glicose.

7. Quais são os tecidos onde ocorre a biossíntese de ácidos graxos?

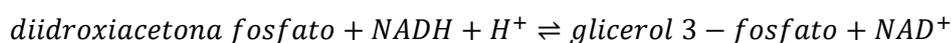
A maior parte da síntese de ácidos graxos ocorre no tecido hepático e em menor extensão, no tecido adiposo.

8. O tecido muscular não sintetiza glicerol 3-fosfato. Que decorrência isto tem?

Isso significa que o tecido muscular não consegue sintetizar triacilgliceróis, já que o glicerol 3-fosfato é seu precursor. Portanto, em situação de jejum, o músculo utiliza a glicose proveniente de seu próprio glicogênio para gerar ATP, e também deve receber ácido graxo liberado na corrente sanguínea pelo tecido adiposo e pelo fígado para que possa utilizá-lo na síntese de acetil-CoA, não sendo capaz de estocar TAG.

9. Como o fígado e o tecido adiposo obtêm glicerol 3-fosfato?

O tecido adiposo obtém glicerol 3-fosfato a partir da diidroxiacetona fosfato, reação catalisada pela enzima glicerol 3-fosfato desidrogenase, às custas de NADH. Dessa forma, o tecido adiposo obtém glicerol 3-fosfato da via glicolítica. Já o fígado pode obter por uma via alternativa, em que o glicerol, fornecido principalmente pela degradação de triacilgliceróis, é fosforilado pela enzima glicerol quinase, às custas de ATP.



10. O que impede a síntese e degradação simultâneas de ácidos graxos?

A degradação de ácidos graxos depende do fornecimento de substrato, Coenzima A, NAD⁺ e FAD, e por sua vez, o fornecimento das coenzimas depende da cadeia transportadora de elétrons.

Em situação de excesso de carboidratos, a insulina entra em ação e estimula a acetil-CoA carboxilase, aumentando a concentração de malonil-CoA, que é um dos precursores na síntese de ácido graxo. Além disso, a isocitrato desidrogenase estará inibida, aumentando a concentração de citrato mitocondrial, que posteriormente, será transportado para o citosol pela tricarboxilato translocase. O citrato citossólico então, será um ativador da acetil-CoA carboxilase, assim como a insulina, aumentando a concentração de malonil-CoA no citoplasma. O malonil-CoA é um inibidor da enzima carnitina acil transferase I, que leva acilas para a mitocôndria, permitindo que a oxidação

ocorra. Dessa forma, a entrada de ácidos graxos recém-sintetizados fica inibida, pois estão compartimentalizadas na célula.

Quando no jejum ou esforço físico, a situação se inverte e a degradação de ácidos graxos fica ativa: o glucagon (no fígado) ou adrenalina (nos músculos) estimulam o receptor que produz cAMP (AMP cíclico), ativando a proteína quinase dependente de cAMP (PKA). Uma vez ativada, a PKA fosforila a enzima lipase, ativando-a. Uma vez ativa, a lipase inicia a degradação de triacilglicereóis, gerando ácidos graxos e glicerol. Os ácidos graxos, por sua vez, terão sua concentração aumentada, ficando mais disponíveis, sendo transportados para a mitocôndria pela carnitina acil transferase, dando início à sua degradação. O glucagon e a adrenalina inibem a atividade da acetil-CoA carboxilase, diminuindo a concentração de malonil-CoA, que é um inibidor da carnitina acil transferase. Outro inibidor da acetil-CoA carboxilase é o próprio produto da síntese de ácidos graxos, o pantoil-CoA, ou seja, quando a concentração do produto final da síntese aumenta, a via fica inibida.

Resumidamente: adrenalina e glucagon estimulam a degradação e inibem a síntese de ácidos graxos, enquanto a insulina inibe a degradação e estimula a síntese.

11. Citar o precursor básico e as coenzimas necessárias para a síntese de colesterol. Analisar a regulação desta via.

O precursor básico do colesterol é acetil-CoA, que formam estruturas isoprenoides que posteriormente serão ciclizadas em esqualeno, as coenzimas necessárias são NADPH e O₂, além de ter gasto de 18 moléculas de ATP em todo o processo.

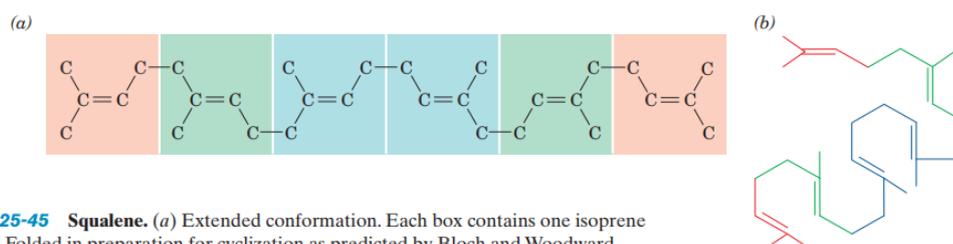
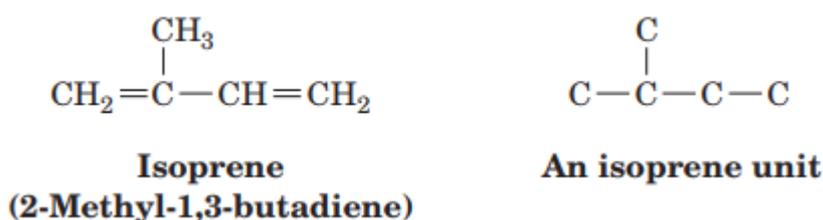


Figure 25-45 Squalene. (a) Extended conformation. Each box contains one isoprene unit. (b) Folded in preparation for cyclization as predicted by Bloch and Woodward.

Para mencionar a regulação de colesterol, é importante citar sobre seu transporte pela corrente sanguínea. Após uma refeição rica em carboidratos, o intestino secreta quilomícrons, que levam colesterol da alimentação e o fígado sintetiza triacilgliceróis e colesterol, e o que excede a necessidade do fígado é usado para sintetizar VLDL (Very low density Lipoprotein), uma lipoproteína de baixa densidade que tem como função transportar triglicerídeos pela corrente sanguínea. Os triacilgliceróis das VLDL são hidrolisados à medida que circulam pelo corpo e o que sobra na lipoproteína é o colesterol, resultando então na IDL (Intermediate Density Lipoprotein), uma lipoproteína enriquecida em colesterol.

Parte do IDL no sangue é captado pelo fígado, a outra parte é utilizada por tecidos periféricos, consumindo o pouco de triacilglicerol que restou, dessa forma, a lipoproteína fica com maior conteúdo de colesterol, sendo denominada de LDL (Low Density Lipoprotein). Com a exceção do fígado e intestino, a maior parte dos tecidos obtém colesterol de LDL, por endocitose.

Já as lipoproteínas chamadas de HDL (High Density Lipoprotein) são sintetizadas no fígado, contendo baixo teor de colesterol e alto de proteína. As HDL circulam pela corrente sanguínea e recebem colesterol intracelular de tecidos, onde o colesterol é passado da membrana plasmática para HDL, aumentando sua quantidade de colesterol. Essas HDLs são chamadas de “maduras” e podem ser absorvidas pelo fígado, onde o colesterol pode ser transformado em sais biliares e posteriormente, excretado pelo intestino. Alternativamente, o colesterol da HDL madura pode ser transferido para outras lipoproteínas plasmáticas, como LDL e VLDL.

Resumidamente:

Partícula lipoproteica	TAG e ácido graxo	Proteína	Colesterol	Localização
VLDL	+++	+	+	fígado → tecidos
IDL	++	+	++	Tecidos parte pode retornar ao fígado
LDL	+	+	+++	Tecidos Parte pode retornar ao fígado

HDL (nascente)	+	+++	+	Fígado → tecidos
HDL (maduro)	+	++	++	Tecidos → fígado

Dessa forma, o colesterol pode ser regulado:

- Repressão de genes que codificam as enzimas de via de síntese do colesterol;
- Repressão das enzimas da via de síntese do colesterol, a exemplo, a HMG-CoA redutase, que é inibida por fosforilação;
- Repressão do receptor LDL por aumento da concentração de colesterol. Altas concentrações de colesterol inibem a síntese do receptor da membrana para LDL, dessa forma, diminuem a captação de LDL pela membrana.
- O excesso de colesterol dos tecidos periféricos induz a expressão de genes envolvidos no transporte de colesterol dos tecidos para o fígado na forma de HDL, aumentando concentração de HDL;
- Alta concentração de colesterol induz a expressão de genes relacionados à excreção do colesterol a sais biliares aumentando, portanto, a excreção na forma de sais biliares. Resumidamente, o aumento da concentração de colesterol diminui a captação de colesterol pelas células periféricas, aumenta o transporte de colesterol para o fígado para que possa ser excretado, além de inibir enzimas da via de síntese do colesterol.

12. Como a hipoglicemia e uma descarga de adrenalina interferem no metabolismo de triacilgliceróis?

A lipase é a enzima responsável pela clivagem de um ácido graxo do triacilglicerol, sendo esta enzima ativada ao ser fosforilada pela enzima PKA (proteína quinase dependente de cAMP). A PKA, por sua vez, é ativada quando os receptores de glucagon ou epinefrina são ativados, liberando cAMP. Lembrando que a epinefrina (adrenalina) é liberada em situações de esforço físico e o glucagon é liberado quando em jejum (baixa concentração de glicose no sangue, ou seja, hipoglicemia). Assim, tanto em hipoglicemia quanto em descarga de adrenalina, o metabolismo do triacilgliceróis está regulado para a sua degradação. A adrenalina e o glucagon funcionam como inibidores da enzima acetil-CoA carboxilase, enzima esta que catalisa a carboxilação de acetil-CoA para Malonil-CoA. O Malonil-CoA, por sua vez, é um inibidor da carnitina acil transferase, responsável por disponibilizar acilas para a mitocôndria realizar a degradação de ácidos graxos. Com a inibição da síntese de malonil-CoA, a degradação de ácidos graxos ocorre.

O triacilglicerol, para ser sintetizado, necessita de radicais acilas (ácidos graxos, no caso) para serem ligados, formando ligações ésteres com o glicerol 3-fosfato. A síntese de triacilglicerol pode ficar prejudicada, visto que para a formação do precursor de TAG, é necessário glicerol 3-fosfato, que no tecido adiposo provêm exclusivamente da glicólise.

13. A insulina estimula a síntese de triacilgliceróis?

Sim. A insulina estimula a via glicolítica, aumentando a concentração de diidroxiacetona fosfato, que pode ser convertida ao glicerol 3-fosfato pela glicose 3-fosfato desidrogenase, precursor de TAG. A citrato liase, enzima responsável por quebrar o citrato citossólico em acetil-CoA e oxaloacetato, o qual o acetil-CoA será usado na síntese de lipídeos, fica ativa quando desfosforilada, sendo a citrato liase fosforilada pela enzima GSK3 (Glicogênio sintase quinase-3), que fica inativada na presença de insulina, dessa forma, se GSK3 está inativada, não fosforila citrato liase, e esta última permanece ativa.

O complexo piruvato desidrogenase também é estimulado pela insulina, produzindo mais Acetil-CoA, precursora da malonil-CoA: tanto malonil-CoA quanto acetil-CoA são necessárias para a síntese de ácidos graxos. A enzima glicerol 3-fosfato acil transferase, uma enzima da via de síntese de TAG que catalisa a transferência de uma acila para glicerol 3-fosfato, também é estimulada pela insulina.