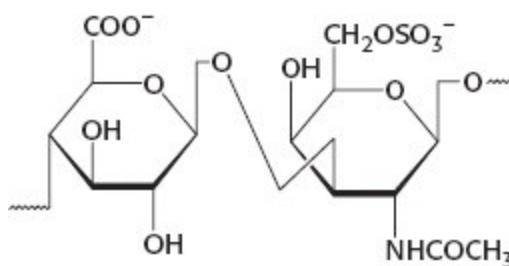


QBQ0204 Bioquímica: Estrutura de Biomoléculas e Metabolismo

Guia de estudos

Aula 7: Carboidratos

Seguindo o padrão adotado temos as leituras básica, complementar e avançada, retiradas de J. M. Berg, J. L. T. e L. Stryer - Biochemistry – 7a ed.



Os carboidratos são importantes fontes de energia, porém desempenham muitas outras funções bioquímicas, como a proteção contra forças de alto impacto. A cartilagem do pé de um corredor, por exemplo, amortece o impacto de cada passo. Um componente essencial da cartilagem são as moléculas denominadas glicosaminoglicanos, grandes polímeros constituídos por numerosas repetições de dímeros, como o par mostrado acima. [Radiografia sem título/Nick Veasey/Getty Images.]

SUMÁRIO

- 11.1** Os monossacarídeos são os carboidratos mais simples
- 11.2** Os monossacarídeos estão ligados entre si para formar carboidratos complexos
- 11.3** Os carboidratos podem ligar-se às proteínas para formar glicoproteínas
- 11.4** As lectinas são proteínas que ligam carboidratos específicos

urante muitos anos, o estudo dos carboidratos foi considerado menos interessante do que muitos outros temas da bioquímica. Os carboidratos eram reconhecidos como importantes fontes de energia e componentes estruturais, porém acreditava-se que estivessem subordinados à maioria das atividades essenciais da célula. Em essência, eram considerados a viga mestra e fonte de energia subjacente de uma suntuosa obra de arquitetura bioquímica. Essa visão mudou muito nos últimos anos. Aprendemos que as células de todos os organismos são revestidas por uma densa e complexa camada de carboidratos. As proteínas secretadas são, com frequência, extensamente decoradas com carboidratos essenciais a determinada função de uma proteína. A matriz extracelular nos eucariotos superiores – o ambiente no qual vivem as células – é rico em carboidratos secretados, que são fundamentais para a sobrevivência da célula e a comunicação celular. Os carboidratos são cruciais para o desenvolvimento e o funcionamento de todos os organismos, não apenas como fonte de energia, mas também como moléculas ricas em informações. Os carboidratos, as proteínas que contêm carboidratos e as proteínas específicas que ligam carboidratos são necessários para interações que tornam as células capazes de formar tecidos, constituem a base dos grupos sanguíneos nos seres humanos e são usados por uma variedade de patógenos para ter acesso a seus hospedeiros. Com efeito, mais do que meros componentes infraestruturais, os carboidratos contribuem com detalhes e realces para a arquitetura bioquímica da célula, ajudando a definir a beleza, a funcionalidade e a singularidade das células.

Uma propriedade importante dos carboidratos que possibilita o desempenho de suas numerosas funções é a enorme *diversidade* estrutural possível dentro dessa classe de moléculas. Os carboidratos são formados a partir de monossacarídeos, pequenas moléculas – contendo, tipicamente, três a nove átomos de carbono ligados a grupos hidroxila – que variam no tamanho e na configuração estereoquímica em um ou mais centros de carbono. Esses monossacarídeos podem ligar-se uns aos outros, formando uma grande variedade de estruturas oligossacarídicas. A quantidade de oligossacarídeos possíveis torna essa classe de moléculas rica em informações, as quais podem aumentar ainda mais a imensa diversidade das proteínas quando se ligam a elas.

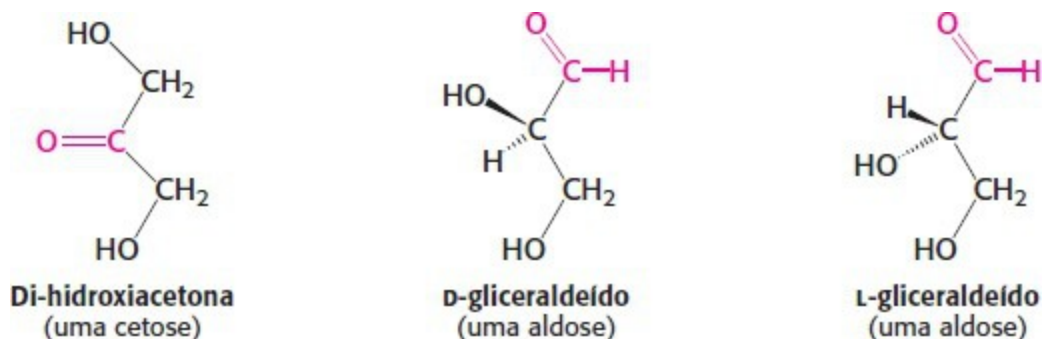
O reconhecimento da importância dos carboidratos para numerosos aspectos da bioquímica deu origem a um campo de estudo conhecido como *glicobiologia*. A glicobiologia é o estudo da síntese e da estrutura dos carboidratos e do modo pelo qual se ligam a outras moléculas, como as proteínas, e são reconhecidos por elas. Ao lado desse novo campo, surge uma nova “ômica” para juntar-se à genômica e à proteômica – a *glicômica*. A glicômica é o estudo do glicoma, isto é, de todos os carboidratos e moléculas associadas a carboidratos produzidos pelas células. À semelhança do proteoma, o glicoma não é estático e pode se modificar, dependendo das condições celulares e ambientais. A elucidação das estruturas dos oligossacarídeos e dos efeitos de sua ligação a outras moléculas constitui um grande desafio no campo da bioquímica.

11.1 Os monossacarídeos são os carboidratos mais simples

Os carboidratos são moléculas à base de carbono ricas em grupos hidroxila. Com efeito, a fórmula empírica de muitos carboidratos é $(\text{CH}_2\text{O})_n$ – literalmente, um hidrato de carbono. Os carboidratos simples são denominados monossacarídeos. Esses açúcares simples servem não apenas como fontes de energia, mas também como componentes fundamentais dos sistemas vivos. Por exemplo, o DNA é construído a partir de açúcares simples: seu arcabouço é constituído de grupos fosforila alternados e

desoxirribose, um açúcar cíclico de cinco carbonos.

Os monossacarídeos são aldeídos ou cetonas que têm dois ou mais grupos hidroxila. Os monossacarídeos menores, compostos de três átomos de carbono, são a di-hidroxiacetona e o D e L-gliceraldeído.



A di-hidroxiacetona é chamada de *cetose*, pois contém um grupo ceto (em vermelho, acima), enquanto o gliceraldeído é uma *aldose*, já que contém um grupo aldeído. Ambos são designados como *trioses* (tri para indicar três, referindo-se aos três átomos de carbono que eles contêm). De modo semelhante, os monossacarídeos simples com quatro, cinco, seis e sete átomos de carbono são denominados, respectivamente, *tetroses*, *pentoses*, *hexoses* e *heptoses*. Talvez os monossacarídeos que mais conhecemos são as hexoses, como a glicose e a frutose. A glicose representa uma fonte de energia essencial para praticamente todas as formas de vida. A frutose é comumente utilizada como adoçante, sendo convertida em derivados de glicose no interior da célula.

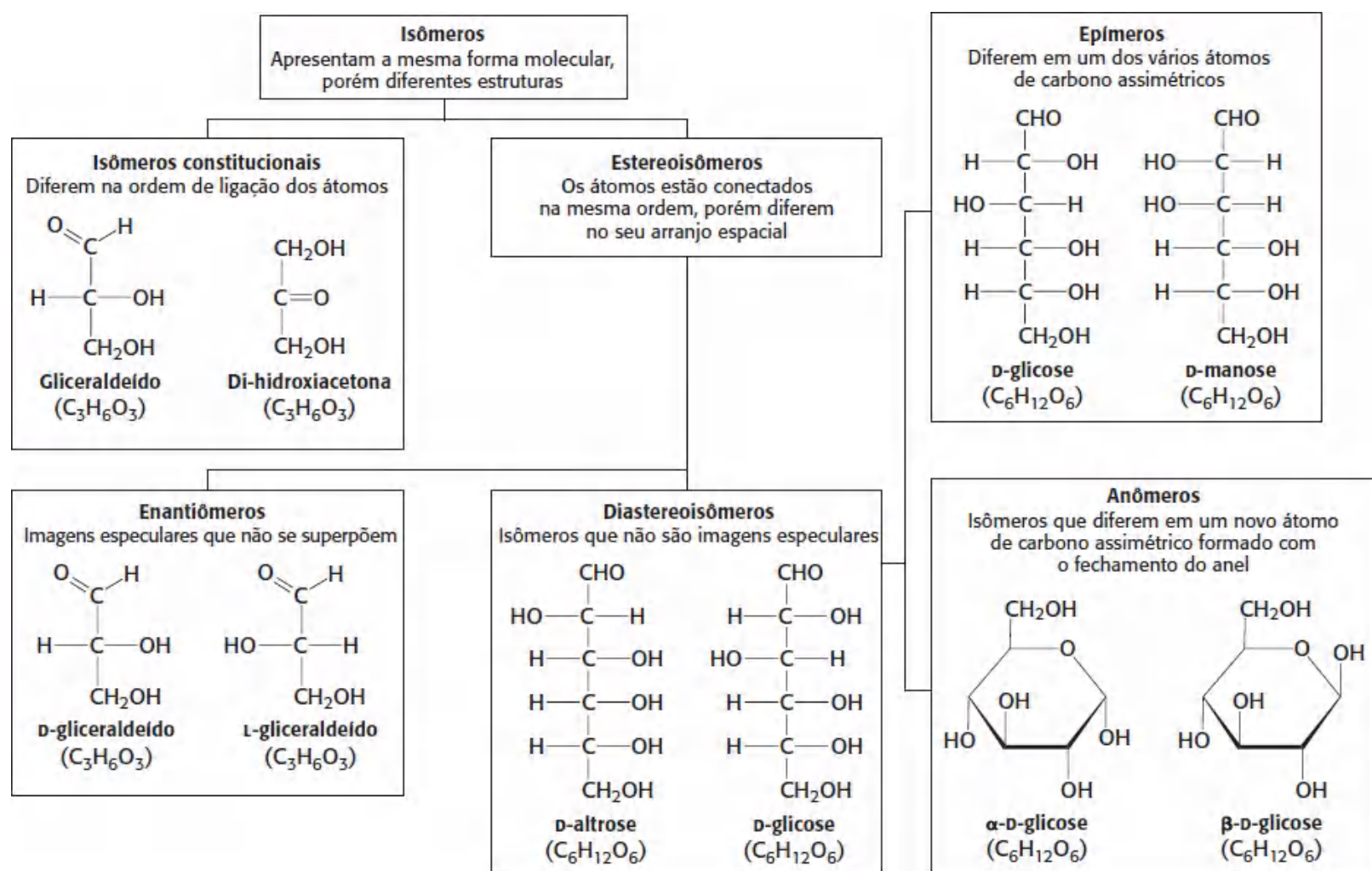


Figura 11.1 Formas isoméricas dos carboidratos.

Os carboidratos podem existir em uma variedade deslumbrante de formas isoméricas (Figura 11.1). A di-hidroxiacetona e o gliceraldeído são denominados *isômeros constitucionais*, uma vez que apresentam fórmulas moleculares idênticas, porém diferem na ordenação dos átomos. Os estereoisômeros são isômeros que diferem no seu arranjo espacial. Conforme discutido anteriormente sobre os aminoácidos (p. 29), os estereoisômeros são designados pela sua configuração D ou L. O gliceraldeído tem um único átomo de carbono assimétrico, e, portanto, existem dois estereoisômeros desse açúcar: o D-gliceraldeído e o L-gliceraldeído. Essas moléculas constituem um tipo de estereoisômero, denominadas *enantiômeros*, que são imagens especulares uma da outra. Os monossacarídeos de vertebrados têm, em sua maioria, a configuração D. Por convenção, os isômeros D e L são determinados pela configuração do átomo de carbono assimétrico mais distante do grupo aldeído ou ceto. A di-hidroxiacetona é o único monossacarídeo que não tem sequer um átomo de carbono assimétrico.

Os monossacarídeos constituídos de mais de três átomos de carbono têm múltiplos carbonos assimétricos e, portanto, podem existir não apenas como enantiômeros, mas também como *diastereoisômeros*, isto é, isômeros que não são imagens especulares um do outro. O número de estereoisômeros possíveis é igual a 2^n , onde n é o número de átomos de carbono assimétricos. Por conseguinte, uma aldose de seis carbonos com quatro átomos de carbono assimétricos pode existir em 16 diastereoisômeros possíveis, sendo a glicose um desses isômeros.

A Figura 11.2 mostra os açúcares comuns que veremos com mais frequência em nosso estudo de bioquímica. A D-ribose, o componente de carboidrato do RNA, é uma aldose de cinco carbonos, assim como a desoxirribose, o componente monossacarídico dos desoxinucleotídeos. A D-glicose, a D-manose e a D-galactose são aldoses de seis carbonos abundantes. Observe que a D-glicose e a D-manose diferem somente na configuração em C-2, o átomo de carbono na segunda posição. Os açúcares diastereoisômeros que diferem na configuração em apenas um único centro de assimetria são denominados *epímeros*. Por conseguinte, a D-glicose e a D-manose são epímeras em C-2; a D-glicose e a D-galactose são epímeras em C-4.

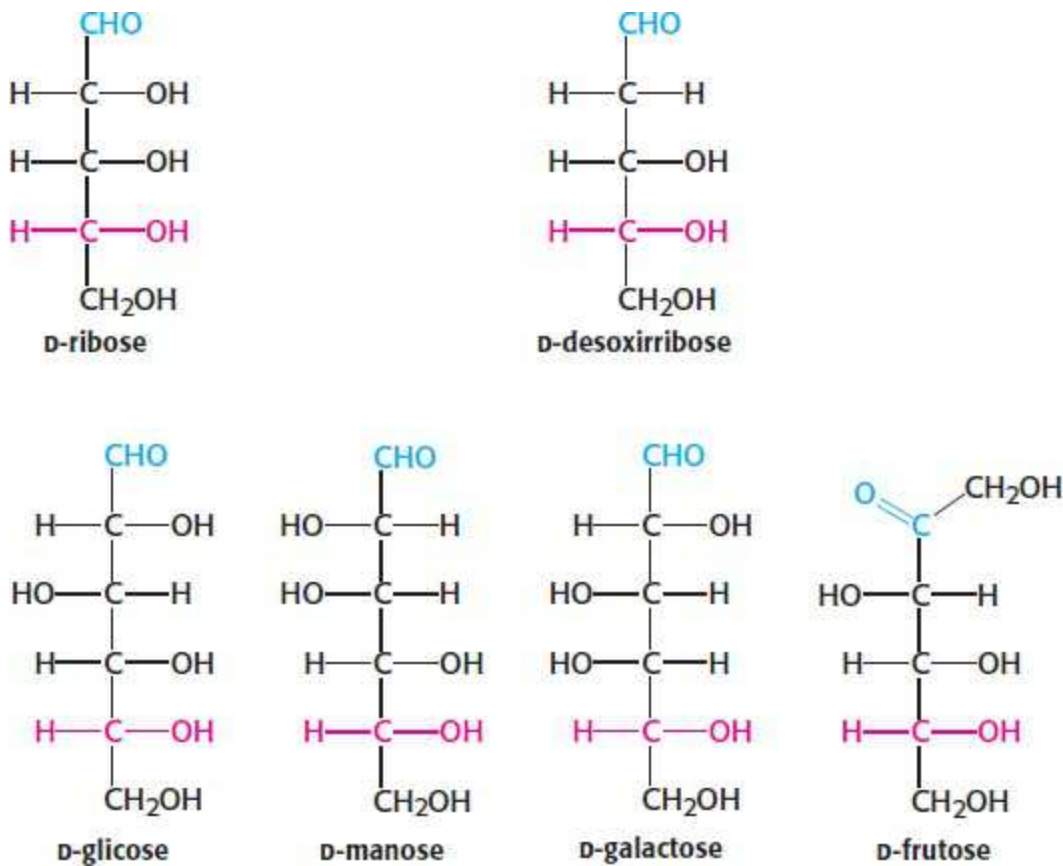
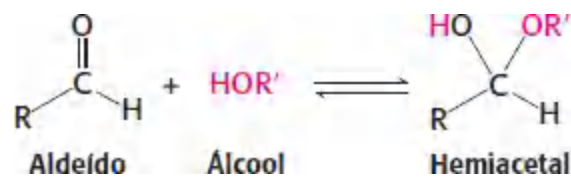


Figura 11.2 Monossacarídeos comuns. As aldoses contêm um aldeído (mostrado em azul), enquanto as cetoses, como a frutose, contêm uma cetose (também mostrada em azul). O átomo de carbono assimétrico mais distante do aldeído ou da cetona (mostrado em vermelho) designa as estruturas na configuração D.

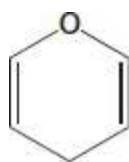
Observe que as cetoses apresentam um centro assimétrico a menos do que as aldoses com o mesmo número de átomos de carbono. A D-frutose é a mais abundante das ceto-hexoses.

Muitos açúcares comuns existem em formas cíclicas

As formas predominantes da ribose, da glicose, da frutose e de muitos outros açúcares em solução, como ocorre no interior da célula, não estão em cadeias abertas. Na verdade, as formas abertas desses açúcares ciclizam-se em anéis. A base química para a formação do anel reside no fato de que um aldeído pode reagir com um álcool para formar um *hemiacetal*.

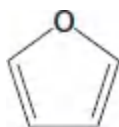
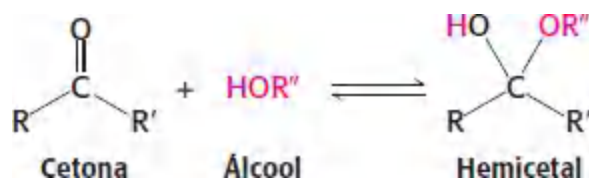


Para uma aldo-hexose, como a glicose, uma única molécula fornece tanto o aldeído quanto o álcool: o aldeído em C-1 na forma da glicose de cadeia aberta reage com o grupo hidroxila em C-5, formando um *hemiacetal intramolecular* (Figura 11.3). O hemiacetal cíclico resultante, um anel de seis membros, é denominado *piranose*, em virtude de sua semelhança com o *pirano*.



Pirano

De modo semelhante, uma cetona pode reagir com um álcool, formando um *hemiacetal*.



Furano

O grupo ceto em C-2 na forma de cadeia aberta de uma ceto-hexose, como a frutose, pode formar um *hemiacetal intramolecular* ao reagir com o grupo hidroxila em C-6, formando um hemiacetal cíclico de seis membros, ou com o grupo hidroxila em C-5, formando um hemiacetal cíclico de cinco membros (Figura 11.4). O anel pentagonal é denominado *furanose*, em virtude de sua semelhança com o *furano*.

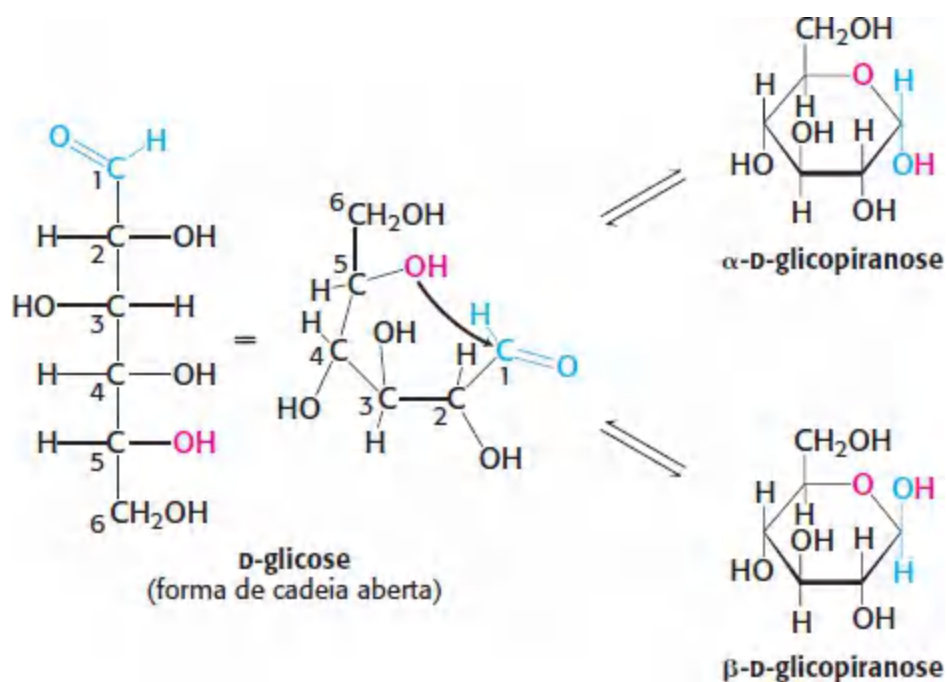


Figura 11.3 Formação de piranose. A forma da glicose de cadeia aberta cicliza-se quando o grupo hidroxila do C-5 ataca o átomo de oxigênio do grupo aldeído do C-1, formando um hemiacetal intramolecular. Podem resultar duas formas anoméricas, designadas como α e β .

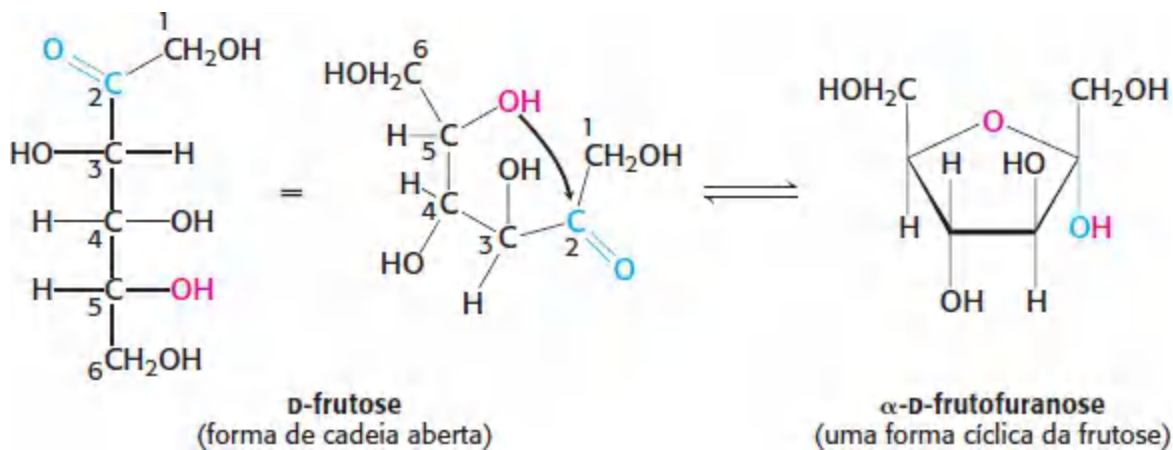


Figura 11.4 Formação de furanose. A forma da frutose de cadeia aberta cicliza-se para formar um anel pentagonal quando o grupo hidroxila do C-5 ataca a cetona do C-2, formando um hemiacetal intramolecular. Dois anômeros são possíveis, porém apenas o anômero α é mostrado.

As representações da glicopiranosose (glicose) e da frutofuranose (frutose) mostradas nas Figuras 11.3 e 11.4 são *projeções de Haworth*. Nessas projeções, os átomos de carbono do anel não são exibidos. O plano aproximado do anel é perpendicular ao plano do papel, e a linha espessa do anel projeta-se em direção ao leitor.

Verificamos que os carboidratos podem conter muitos átomos de carbono assimétricos. Um centro assimétrico adicional é criado quando se origina um hemiacetal cíclico, produzindo outra forma diastereoisomérica dos açúcares, denominada anômero. Na glicose, C-1 (o átomo de carbono carbonila na forma de cadeia aberta) torna-se um centro assimétrico. Por conseguinte, podem ser formadas duas estruturas em anel: a α -D-glicopiranosose e a β -D-glicopiranosose (ver Figura 11.3). Para os açúcares D representados nas projeções de Haworth na orientação padrão, conforme ilustrado na Figura 11.3, a designação α significa que o grupo hidroxila ligado a C-1 está no lado oposto ao anel em relação a C-6; β significa que o grupo hidroxila está no mesmo lado do anel em relação a C-6. O átomo de carbono C-1 é denominado *átomo de carbono anomérico*), e as formas α e β são denominadas *anômeros*. Uma mistura em equilíbrio de glicose contém aproximadamente um terço do anômero α , dois terços do anômero β e $< 1\%$ da forma de cadeia aberta.

A forma da frutose em anel de furanose também tem formas anoméricas, em que α e β se referem aos grupos hidroxila ligados a C-2, o átomo de carbono anomérico (ver Figura 11.4). A frutose forma ambos os anéis de piranosose e furanosose. A forma de piranosose predomina na frutose livre em solução, enquanto a forma de furanosose predomina em muitos derivados da frutose (Figura 11.5).

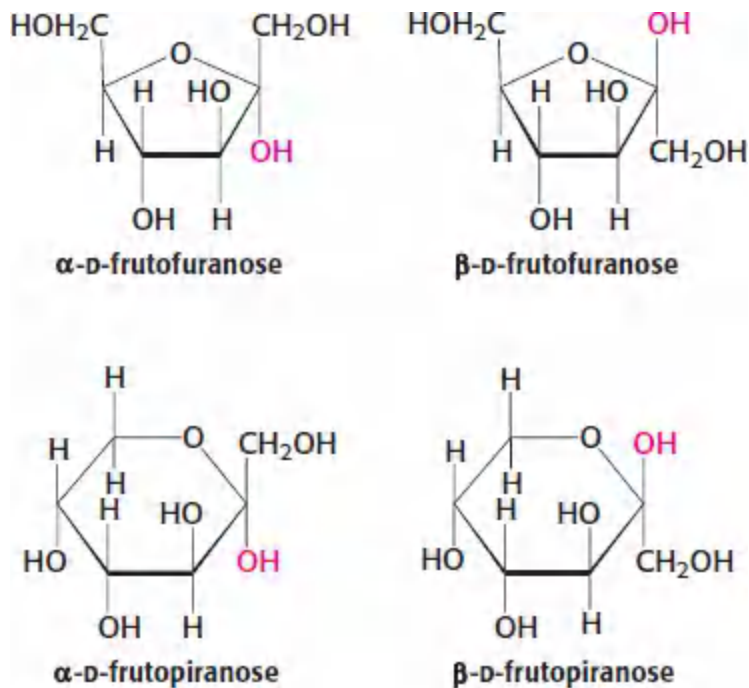


Figura 11.5 Estruturas em anel da frutose. A frutose pode formar tanto a furanose pentagonal quanto a piranose hexagonal. Em ambos os casos, são possíveis os anômeros tanto α quanto β .

A β -D-frutopiranoose, que é encontrada no mel, é uma das substâncias mais doces conhecidas. A β -D-fructofuranose não é tão doce. O aquecimento converte a β -frutopiranoose na forma β -fructofuranose, reduzindo o sabor doce da solução. Por esse motivo, o xarope de milho com alta concentração de frutose na forma de β -D-piranoose é usado como adoçante em bebidas frias, mas não quentes. A Figura 11.6 mostra os açúcares comuns discutidos anteriormente em suas formas de anel.

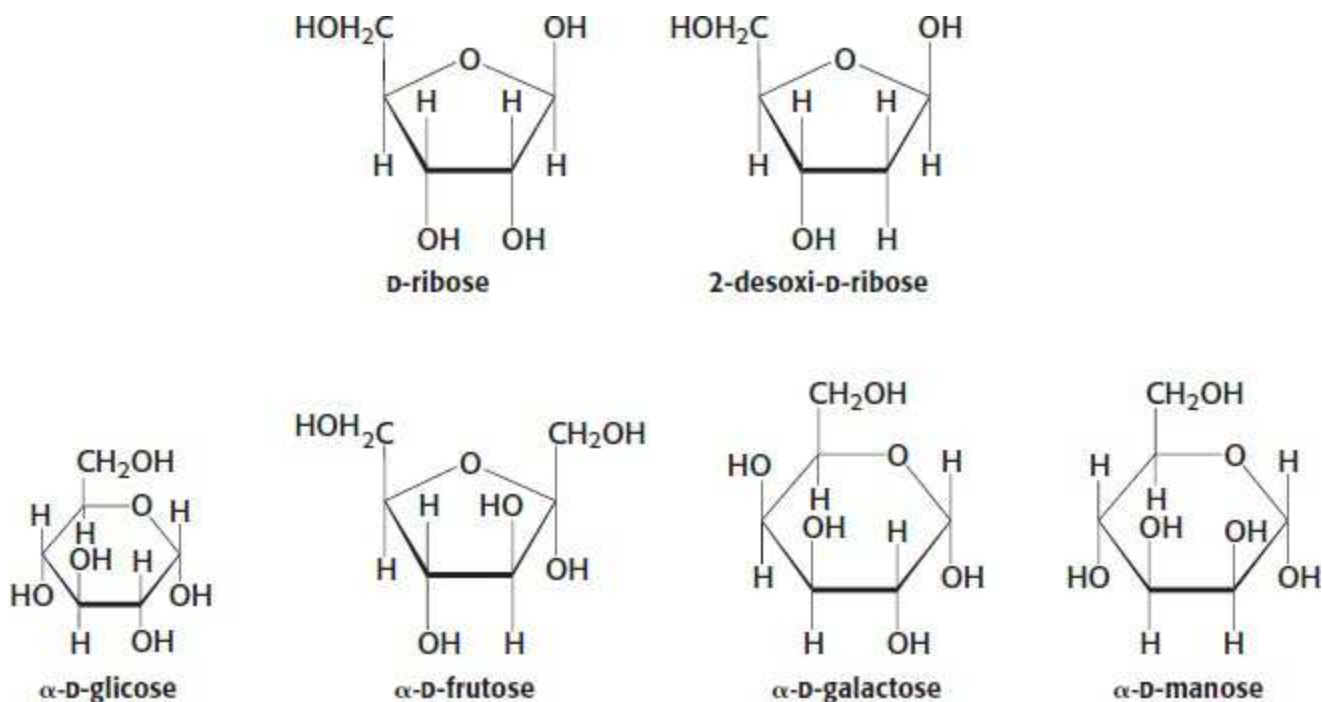


Figura 11.6 Monossacarídeos comuns em suas formas de anel.



Os anéis de piranose e de furanose podem assumir diferentes conformações

O anel hexagonal de piranose não é plano, devido à geometria tetraédrica de seus átomos de carbonos saturados. Com efeito, os anéis de piranose adotam duas classes de conformação: em cadeira e em barco, pois se parecem a esses objetos (Figura 11.7). Na forma em cadeira, os substituintes nos átomos de carbono em anel apresentam duas orientações: axial e equatorial. As ligações *axiais* são quase perpendiculares ao plano médio do anel, enquanto as ligações *equatoriais* são quase paralelas a este plano. Os substituintes axiais impedem estericamente uns aos outros de emergirem do mesmo lado do anel (p.ex., grupos 1,3-diaxiais). Em contraste, os substituintes equatoriais são menos numerosos. A forma em cadeira da β -D-glicopirranose predomina, visto que *todas as posições axiais estão ocupadas por átomos de hidrogênio*. Os grupos —OH e —CH₂OH mais volumosos emergem na periferia menos impedida. A forma da glicose em barco é desfavorecida, devido ao acentuado impedimento estérico.

Os anéis de furanose, como os de piranose, não são planos. Podem ser pregueados, de modo que quatro átomos são quase coplanares, enquanto o quinto está distante desse plano em cerca de 0,5 Å (Figura 11.8). Essa conformação é denominada *forma em envelope*, visto que a estrutura assemelha-se a um envelope aberto, com a borda traseira levantada. Na ribose encontrada na maioria das biomoléculas, C-2 ou C-3 estão fora do plano do mesmo lado que C-5. Essas conformações são denominadas C-2-endo e C-3-endo, respectivamente.

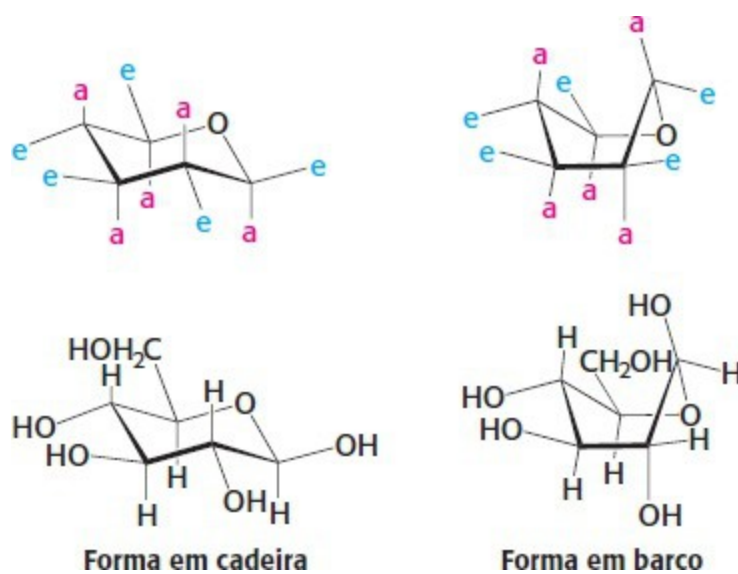


Figura 11.7 Formas em cadeira e em barco da β -D-glicopirranose. A forma em cadeira é mais estável, em virtude do menor impedimento estérico, já que as posições axiais estão ocupadas por átomos de hidrogênio. Abreviaturas: a, axial; e, equatorial.

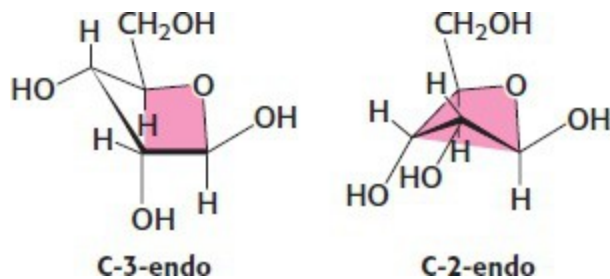
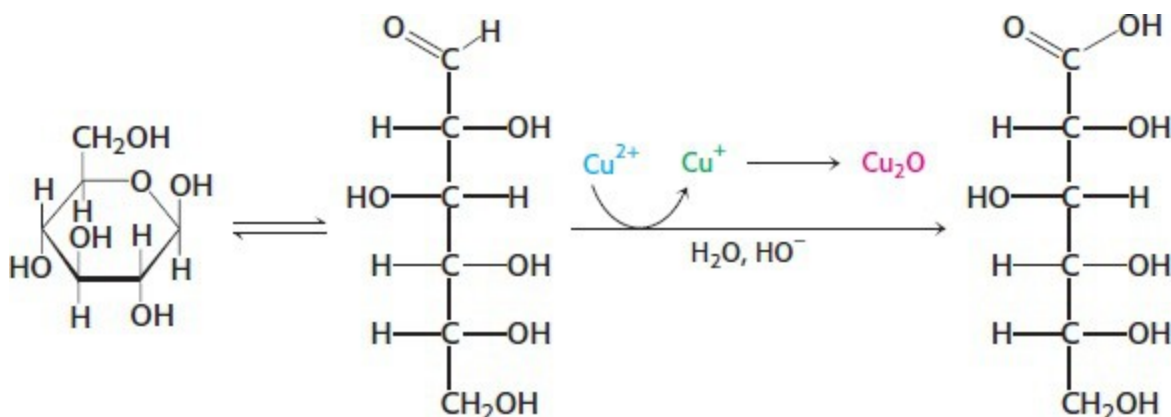


Figura 11.8 Conformações em envelope da β -D-ribose. São mostradas as formas C-3-endo e C-2-endo da β -D-ribose. A cor indica os quatro átomos que se dispõem aproximadamente em um plano.

A glicose é um açúcar redutor

Como os isômeros α e β da glicose encontram-se em um equilíbrio que passa pela forma de cadeia aberta, a glicose apresenta algumas das propriedades químicas dos aldeídos livres, como a capacidade de reagir com agentes oxidantes. Por exemplo, a glicose pode reagir com o íon cúprico (Cu^{2+}), reduzindo-o a íon cuproso (Cu^+) enquanto está sendo oxidada a ácido glicônico.



As soluções de íon cúprico (conhecidas como solução de Fehling) fornecem um teste simples para detectar a presença de açúcares, como de glicose. Os açúcares que reagem são denominados *açúcares redutores*, enquanto os que não o fazem são denominados *açúcares não redutores*. Com frequência, os açúcares redutores podem reagir inespecificamente com outras moléculas. Por exemplo, por ser um açúcar redutor, a glicose pode reagir com a hemoglobina, formando a hemoglobina glicosilada. O monitoramento das variações na quantidade de hemoglobina glicosilada constitui um método particularmente útil de avaliar a eficiência do tratamento do diabetes melito, uma condição caracterizada por altos níveis de glicemia (Seção 27.3). Como a hemoglobina glicosilada permanece na circulação, a quantidade de hemoglobina modificada corresponde à regulação a longo prazo – em um período de vários meses – dos níveis de glicose. No indivíduo não diabético, ocorre glicosilação de menos de 6% da hemoglobina, ao passo que, em pacientes com diabetes não controlada, quase 10% da hemoglobina está glicosilada. Embora a glicosilação da hemoglobina não tenha nenhum efeito sobre a ligação do oxigênio e, portanto, seja benigna, reações redutoras semelhantes entre açúcares e outras proteínas frequentemente são prejudiciais ao organismo, visto que as glicosilações alteram a função bioquímica normal das proteínas modificadas. As modificações, conhecidas como produtos finais de glicosilação avançada (AGE, do inglês *advanced glycosylation end products*) foram implicadas no envelhecimento, na arteriosclerose e no diabetes, bem como em outras condições patológicas. AGE é o mesmo nome dado a uma série de

reações entre um grupo amino que não participa de uma ligação peptídica em uma proteína e a forma aldeído de um carboidrato.

Os monossacarídeos são unidos a alcoóis e aminas por ligações glicosídicas

As propriedades bioquímicas dos monossacarídeos podem ser modificadas pela sua reação com outras moléculas. Essas modificações aumentam a versatilidade bioquímica dos carboidratos, possibilitando a sua atuação como moléculas de sinalização ou tornando-os mais suscetíveis à combustão. Três reagentes comuns são alcoóis, aminas e fosfato. A ligação formada entre o átomo de carbono anomérico da glicose e o átomo de oxigênio de um álcool é denominada *ligação glicosídica* – especificamente uma ligação *O-glicosídica*. As ligações *O* glicosídicas são proeminentes quando os carboidratos são ligados entre si para formar longos polímeros ou quando estão ligados às proteínas. Além disso, o átomo de carbono anomérico de um açúcar pode ser ligado ao átomo de nitrogênio de uma amina, formando uma *ligação N-glicosídica*, como aquela encontrada quando bases nitrogenadas são ligadas a unidades de ribose para formar nucleosídeos. A Figura 11.9 fornece exemplos de carboidratos modificados.

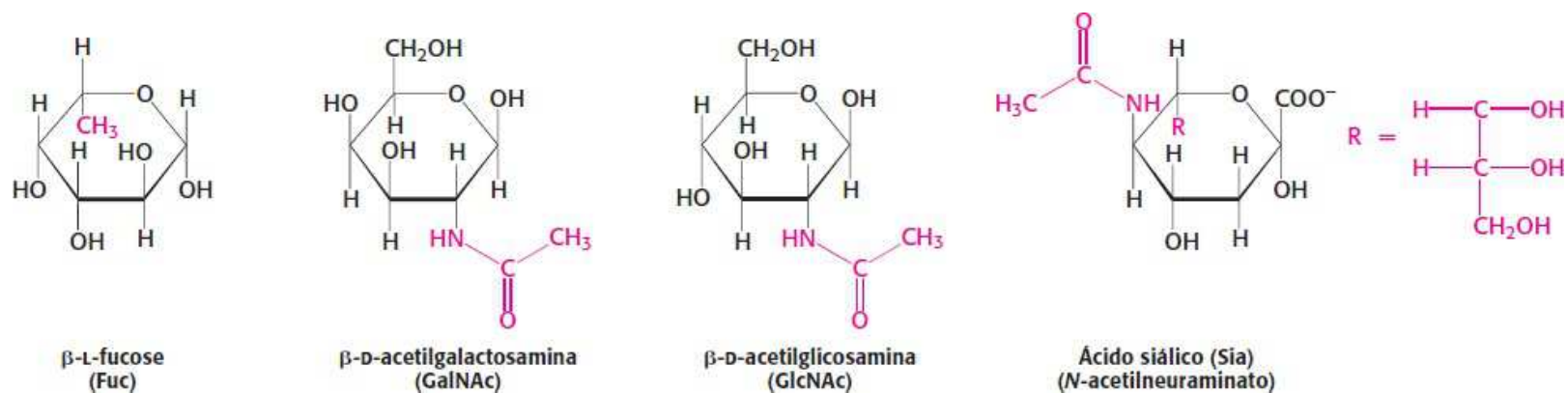
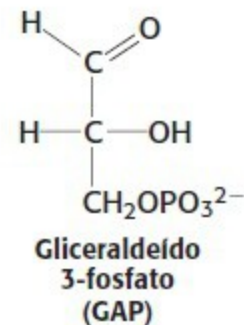
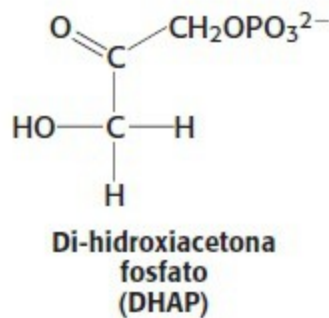
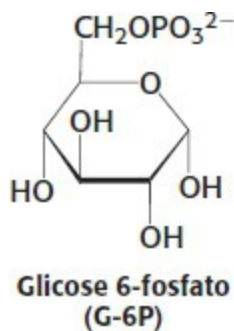


Figura 11.9 Monossacarídeos modificados. Os carboidratos podem ser modificados pela adição de substituintes (mostrado em vermelho) diferente dos grupos hidroxila. Esses carboidratos modificados são frequentemente expressos nas superfícies das células.

Os açúcares fosforilados são intermediários essenciais na geração de energia e processos de biossíntese

Uma modificação dos açúcares merece uma observação especial, devido à sua notoriedade no metabolismo. A adição de grupos fosforila é uma modificação comum dos açúcares. Por exemplo, a primeira etapa na degradação da glicose para obter energia é a sua conversão em glicose 6-fosfato. Vários intermediários subsequentes nessa via metabólica, como a di-hidroxiacetona fosfato e o gliceraldeído 3-fosfato, são açúcares fosforilados.



A fosforilação torna os açúcares aniônicos; a carga negativa impede que esses açúcares deixem espontaneamente a célula ao atravessar a bicamada lipídica das membranas. A fosforilação também cria intermediários reativos, que irão formar mais prontamente ligações com outras moléculas. Por exemplo, um derivado multifosforilado da ribose desempenha papéis essenciais na biossíntese dos nucleotídeos purínicos e pirimidínicos (Capítulo 25).

11.2 Os monossacarídeos estão ligados entre si para formar carboidratos complexos

Como os açúcares contêm muitos grupos hidroxila, as ligações glicosílicas podem unir um monossacarídeo a outro. Os oligossacarídeos são produzidos pela ligação de dois ou mais monossacarídeos por ligações O-glicosídicas (Figura 11.10). Na dissacarídeo maltose, por exemplo, dois resíduos de D-glicose são unidos por uma ligação glicosídica entre a forma α anomérica de C-1 de um açúcar e o átomo de oxigênio hidroxila de C-4 do açúcar adjacente. Essa ligação é denominada ligação α -1,4-glicosídica. Assim como as proteínas apresentam uma polaridade definida pelas extremidades aminoterminal e carboxiterminal, os oligossacarídeos exibem uma polaridade definida pelas suas extremidades redutora e não redutora. A unidade de carboidrato na extremidade redutora tem um átomo de carbono anomérico livre que possui atividade redutora, visto que pode formar a cadeia aberta, conforme discutido anteriormente (p. 327). Por convenção, essa extremidade do oligossacarídeo continua sendo denominada extremidade não redutora, mesmo quando está ligada a outra molécula como uma proteína, não apresentando mais propriedades redutoras.

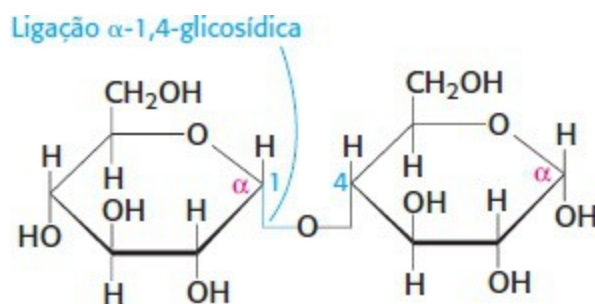


Figura 11.10 Maltose, um dissacarídeo. Duas moléculas de glicose são ligadas por uma ligação α -1,4-glicosídica para formar o dissacarídeo maltose. Os ângulos nas ligações ao átomo de oxigênio central não denotam átomos de carbono. Os ângulos são formados apenas para facilidade de ilustração. A molécula de glicose à direita é capaz de assumir a forma de cadeia aberta, que é capaz de atuar como agente redutor. A molécula de glicose à esquerda não pode assumir a forma de cadeia aberta, visto que o átomo de carbono C-1 está ligado a outra molécula.

O fato de que os monossacarídeos apresentam múltiplos grupos hidroxila significa a possibilidade

de muitas ligações glicosídicas diferentes. Por exemplo, consideremos três monossacarídeos – a glicose, a manose e a galactose. Essas moléculas podem ser ligadas umas às outras no laboratório, formando mais de 12.000 estruturas que diferem entre si na ordem dos monossacarídeos e dos grupos hidroxila que participam nas ligações glicosídicas. Por exemplo, o grupo hidroxila no carbono 1 de um monossacarídeo pode ligar-se aos carbonos 4 ou 6 do monossacarídeo seguinte. Nesta seção, examinaremos alguns do oligossacarídeos mais comuns encontrados na natureza.

A sacarose, a lactose e a maltose são os dissacarídeos comuns

Um *dissacarídeo* é constituído de dois açúcares unidos por uma ligação *O*-glicosídica. A sacarose, a lactose e a maltose são três dissacarídeos abundantes que encontramos com frequência (Figura 11.11). A sacarose (o açúcar comum de mesa) é obtida comercialmente a partir da cana ou da beterraba. Os átomos de carbono anoméricos de uma unidade de glicose e de frutose estão unidos nesse dissacarídeo; a configuração dessa ligação glicosídica é α para a glicose e β para a frutose. A sacarose pode se clivada em seus monossacarídeos componentes pela enzima *sacarase*.

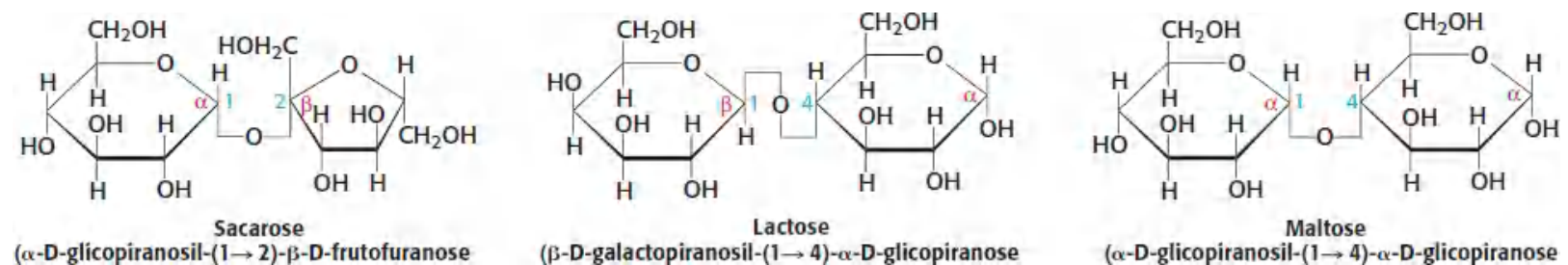


Figura 11.11 Dissacarídeos comuns. A sacarose, a lactose e a maltose são componentes comuns da alimentação. Os ângulos nas ligações aos átomos de oxigênio centrais não denotam átomos de carbono.

A *lactose*, o dissacarídeo do leite, é constituída de galactose unida à glicose por uma ligação β -1,4-glicosídica. A lactose é hidrolisada a esses monossacarídeos pela lactase nos seres humanos e pela β -*galactosidase* nas bactérias. Na *maltose*, duas unidades de glicose são unidas por uma ligação α -1,4-glicosídica. A maltose resulta da hidrólise de grandes oligossacarídeos poliméricos, como o amido e o glicogênio, e, por sua vez, é hidrolisada a glicose pela maltase. A sacarase, a lactase e a maltase estão localizadas na superfície externa das células epiteliais que revestem o intestino delgado (Figura 11.12). Os produtos de clivagem da sacarose, da lactose e da maltose podem ser ainda processados para fornecer energia na forma de ATP.

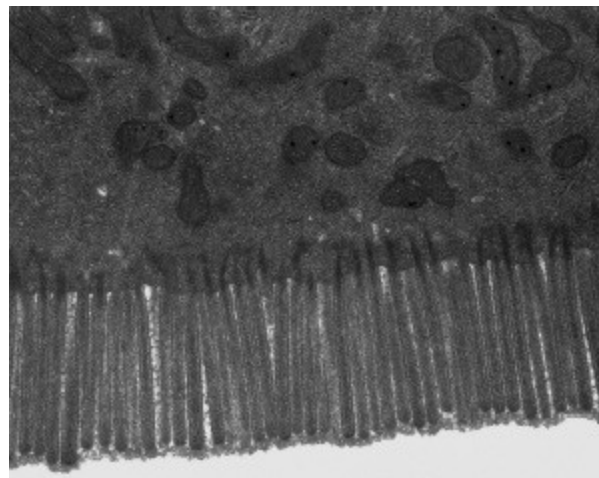


Figura 11.12 Micrografia eletrônica de microvilosidade. A lactase e outras enzimas que hidrolisam carboidratos estão presentes nas microvilosidades que se projetam da face externa da membrana plasmática das células epiteliais do intestino. [De Louisa Howard e Katherine Connolly. Cortesia de Louisa Howard, Dartmouth College.]

O glicogênio e o amido são formas de armazenamento da glicose

A glicose constitui uma importante fonte de energia em praticamente todas as formas de vida. Entretanto, as moléculas de glicose livre não podem ser armazenadas, visto que, se estiver presente em altas concentrações, a glicose perturbará o equilíbrio osmótico da célula, com a consequência potencial de morte celular. A solução é armazenar a glicose como unidades em um grande polímero, que não é osmoticamente ativo.

Os grandes oligossacarídeos poliméricos, formados pela ligação de múltiplos monossacarídeos, são denominados *polissacarídeos* e desempenham papéis vitais no armazenamento da energia e na manutenção de integridade estrutural do organismo. Se todas as unidades de monossacarídeo em um polissacarídeo forem iguais, o polímero é denominado *homopolímero*. O homopolímero mais comum nas células animais é o *glicogênio*, a forma de armazenamento da glicose. O glicogênio é encontrado na maioria dos nossos tecidos, porém é mais comum no músculo e no fígado. Conforme discutido detalhadamente no Capítulo 21, o glicogênio é um grande polímero ramificado de resíduos de glicose. A maior parte das unidades de glicose no glicogênio é unida por ligações α -1,4-glicosídicas. As ramificações são formadas por ligações α -1,6-glicosídicas, presentes a cerca de cada 10 unidades (Figura 11.13).

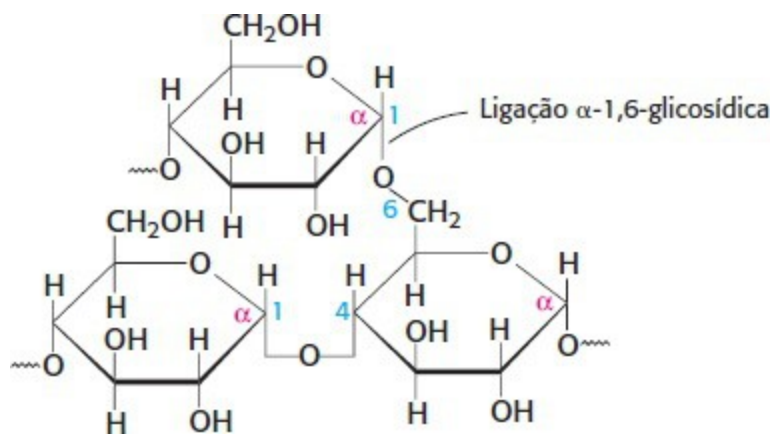


Figura 11.13 Ponto de ramificação do glicogênio. Duas cadeias de moléculas de glicose unidas por ligações α -1,4-glicosídicas estão ligadas por uma ligação α -1,6-glicosídica para criar um ponto de ramificação. Essa ligação α -1,6-glicosídica forma-se a, aproximadamente, cada 10 unidades de glicose, tornando o glicogênio uma molécula altamente ramificada.

O reservatório nutricional nas plantas é o homopolímero amido, do qual existem duas formas. A *amilose*, o tipo não ramificado de amido, é constituída de resíduos de glicose com ligação α -1,4. A *amilopectina*, a forma ramificada, tem cerca de uma ligação α -1,6 para cada 30 ligações α -1,4, de modo semelhante ao glicogênio, exceto por seu menor grau de ramificação. Mais da metade dos carboidratos ingeridos pelos seres humanos consiste em amido encontrado no trigo, nas batatas e no arroz. Para citar apenas algumas fontes. A amilopectina, a amilose e o glicogênio são rapidamente hidrolisados pela α -amilase, uma enzima secretada pelas glândulas salivares e pelo pâncreas.

Levamos em conta apenas os homopolímeros de glicose, mas, tendo em vista a variedade de diferentes monossacarídeos que podem ser reunidos em qualquer número de arranjos, a quantidade de

polissacarídios possíveis é enorme. Consideraremos alguns desses polissacarídios de modo sucinto.

A celulose, um componente estrutural das plantas, é constituída por cadeias de glicose

A *celulose*, o outro polissacarídeo importante de glicose encontrado nas plantas, desempenha um papel mais estrutural do que nutricional como importante componente da parede celular das plantas. *A celulose está entre os compostos orgânicos mais abundantes da biosfera.* Cerca de 10^{15} kg de celulose são sintetizados e degradados na Terra a cada ano, uma quantidade 1.000 vezes maior do que o peso combinado da raça humana. A celulose é um polímero não ramificado de resíduos de glicose unidos por ligações β -1,4, diferentemente da ligação α -1,4 observada no amido e no glicogênio. Essa simples diferença na estereoquímica produz duas moléculas com propriedades e funções fisiológicas extremamente diferentes. A configuração β faz com que a celulose possa formar cadeias retilíneas muito longas. As fibrilas são formadas por cadeias paralelas, que interagem umas com as outras por pontes de hidrogênio, produzindo uma estrutura rígida de suporte. As cadeias retilíneas formadas por ligações β são ideais para a construção de fibrilas com alta resistência à tensão. As ligações α -1,4 no glicogênio e no amido produzem uma arquitetura molecular muito diferente: forma-se uma hélice oca em lugar de uma cadeia retilínea (Figura 11.14). A hélice oca formada por ligações α é bem apropriada para o armazenamento de uma forma mais compacta e acessível de açúcar. Embora os mamíferos careçam de celulase e, portanto, sejam incapazes de digerir fibras da madeira e vegetais, a celulose e outras fibras vegetais ainda representam um importante constituinte da alimentação dos mamíferos como componente das fibras alimentares. As fibras solúveis, como a *pectina* (ácido poligalacturônico) tornam o movimento do alimento mais lento pelo trato gastrintestinal, possibilitando melhor digestão e absorção dos nutrientes. As fibras insolúveis, como a celulose, aumentam a velocidade pela qual os produtos da digestão passam pelo intestino grosso. Esse aumento de velocidade pode minimizar a disposição às toxinas presentes na alimentação. A celulose está sendo atualmente investigada com fonte potencial de etanol para biocombustíveis.

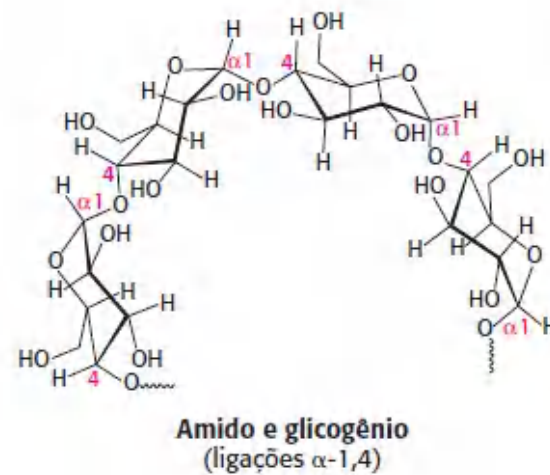
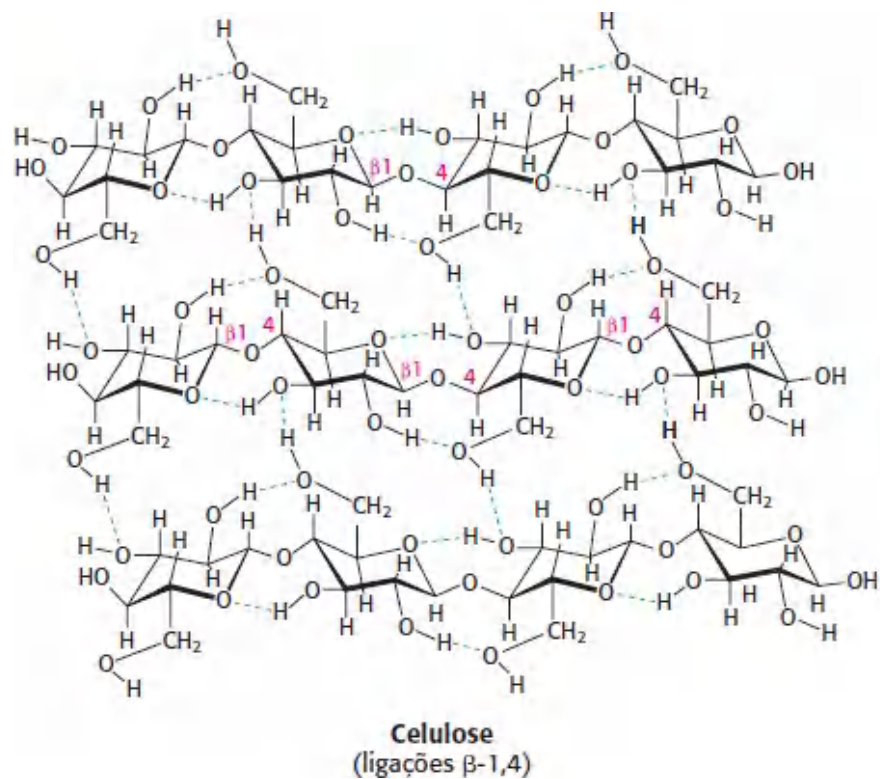
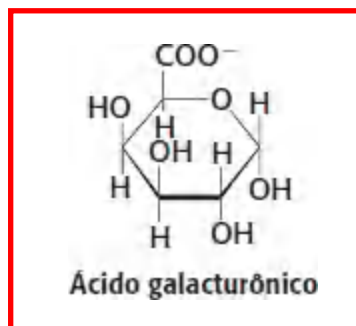


Figura 11.14 Ligações glicosídicas determinam a estrutura do polissacarídeo. As ligações β -1,4 favorecem cadeias retilíneas, que são ideais para fins estruturais. As ligações α -1,4 favorecem estruturas curvadas, que são mais apropriadas para armazenamento.



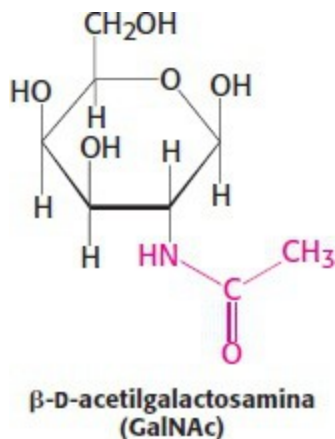
Término leitura básica

11.3 Os carboidratos podem ligar-se às proteínas para formar glicoproteínas

Início leitura complementar

Um grupo carboidrato pode ligar-se covalentemente a uma proteína, formando uma glicoproteína. Examinemos três classes de glicoproteínas. A primeira classe é simplesmente designada como glicoproteínas, das quais a proteína constitui o maior componente por peso. Essa classe versátil desempenha uma variedade de funções bioquímicas. Muitas glicoproteínas são componentes das membranas celulares, onde participam de vários processos, como adesão celular e ligação dos espermatozoides aos óvulos. Outras glicoproteínas são formadas pela ligação de carboidratos a proteínas solúveis; em particular, muitas das proteínas secretadas das células são glicosiladas ou modificadas pela ligação de carboidratos, incluindo a maioria das proteínas presentes no soro do sangue.

A segunda classe de glicoproteínas compreende os *proteoglicanos*. O componente proteico dos proteoglicanos é conjugado com um tipo particular de polissacarídeo, denominado *glicosaminoglicano*. Os carboidratos representam uma porcentagem muito maior por peso do proteoglicano em comparação com as glicoproteínas simples. Os proteoglicanos atuam como componentes estruturais e como lubrificantes.



À semelhança dos proteoglicanos, as *mucinas* ou *mucoproteínas* são constituídas predominantemente de carboidratos. A *N*-acetilgalactosamina é habitualmente carboidrato ligado à proteína nas mucinas. A *N*-acetilgalactosamina é um exemplo de um *amino açúcar*, assim designado pela substituição de um grupo hidroxila por um grupo amino. As mucinas, que são um componente essencial do muco, atuam como lubrificantes.

A glicosilação aumenta acentuadamente a complexidade do proteoma. Uma determinada proteína com vários sítios potenciais de glicosilação pode exibir muitas formas glicosiladas diferentes (algumas vezes denominadas *glicofomas*), e cada uma delas pode ser gerada apenas em um tipo celular ou estágio de desenvolvimento específico.

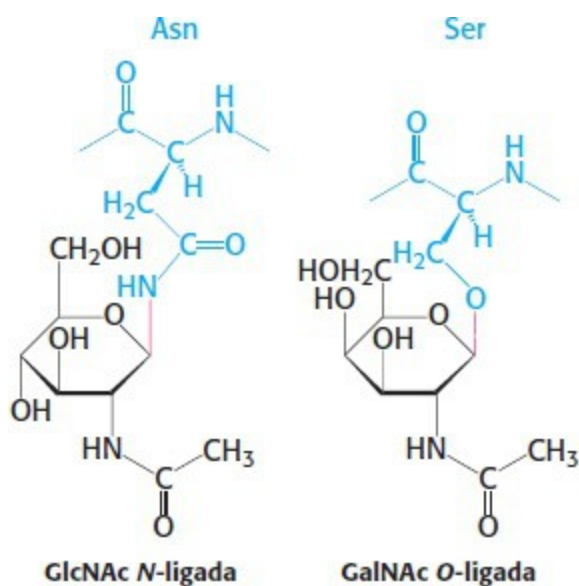


Figura 11.15 Ligações glicosídicas entre proteínas e carboidratos. Uma ligação glicosídica liga um carboidrato à cadeia lateral da asparagina (*N*-ligado) ou à cadeia lateral da serina ou treonina (*O*-ligado). As ligações glicosídicas são mostradas em vermelho.

Os carboidratos podem ser ligados às proteínas por meio de resíduos de asparagina (*N*-ligados) ou de serina ou treonina (*O*-ligados)

Os açúcares nas glicoproteínas são unidos ao átomo de nitrogênio amídico na cadeia lateral da asparagina (*N*-*ligação*) ou ao átomo de oxigênio na cadeia lateral de serina ou treonina (*O*-*ligação*), conforme ilustrado na Figura 11.15. Um resíduo de asparagina só pode aceitar um oligossacarídeo se ele fizer parte de uma sequência Asn-X-Ser ou Asn-X-Thr, em que X pode ser qualquer resíduo, exceto prolina. Por conseguinte, sítios potenciais de glicosilação podem ser detectados dentro das

seqüências de aminoácidos. Todavia, nem todos os sítios potenciais são glicosilados. Os sítios específicos que serão glicosilados dependem de outros aspectos da estrutura da proteína e do tipo de célula na qual essa proteína é expressa. Todos os oligossacarídeos *N*-ligados têm em comum um cerne pentassacarídico constituído de três resíduos de manose e dois resíduos de *N*-acetilglicosamina. Outros açúcares são ligados a esse cerne, formando a grande variedade de padrões de oligossacarídeos encontrados nas glicoproteínas (Figura 11.16).

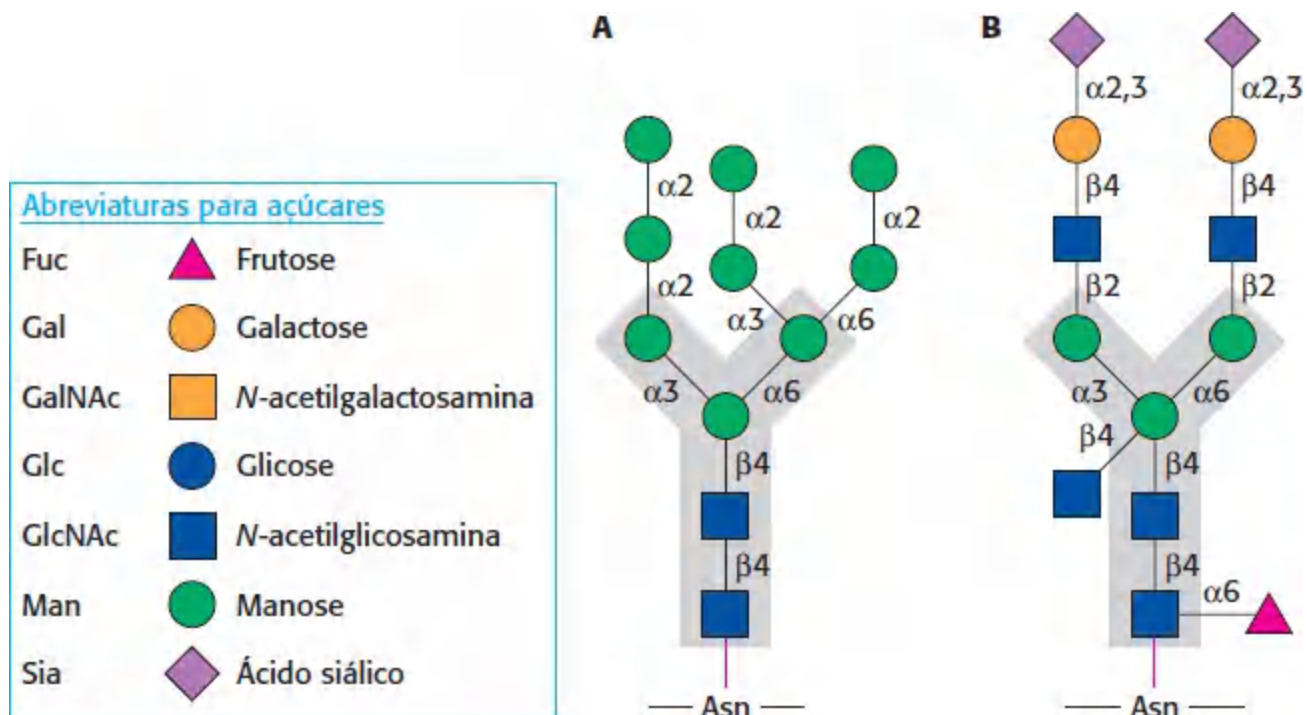



Figura 11.16 Oligossacarídeos *N*-ligados. Um cerne de pentassacarídeo (sombreado em cinza) é comum a todos os oligossacarídeos *N*-ligados e atua como base para uma ampla variedade de oligossacarídeos *N*-ligados, dois dos quais estão ilustrados: (A) tipo rico em manose; (B) tipo complexo.

A glicoproteína eritropoetina é um hormônio vital

 Examinemos uma glicoproteína presente no soro sanguíneo, que melhorou radicalmente o tratamento da anemia, em particular a anemia induzida pela quimioterapia do câncer. A eritropoetina (EPO), um hormônio glicoproteico, é secretada pelos rins e estimula a produção dos eritrócitos. A EPO é constituída de 165 aminoácidos e é *N*-glicosilada em três resíduos de asparagina e *O*-glicosilada em um resíduo de serina (Figura 11.17). A EPO madura tem 40% de carboidrato por peso, e a glicosilação aumenta a estabilidade da proteína no sangue. A proteína não glicosilada tem apenas cerca de 10% da bioatividade da forma glicosilada, visto que a proteína é rapidamente removida do sangue pelos rins. A disponibilidade de EPO humana recombinante ajudou muito no tratamento das anemias. Todavia, alguns atletas de resistência têm usado a EPO humana recombinante para aumentar a contagem de eritrócitos e, portanto, a sua capacidade de transporte de oxigênio. Os laboratórios toxicológicos são capazes de distinguir algumas formas de EPO humana recombinante proibida da EPO natural em atletas, detectando diferenças em seus padrões de glicosilação por meio de focalização isoeletrica (p. 75).

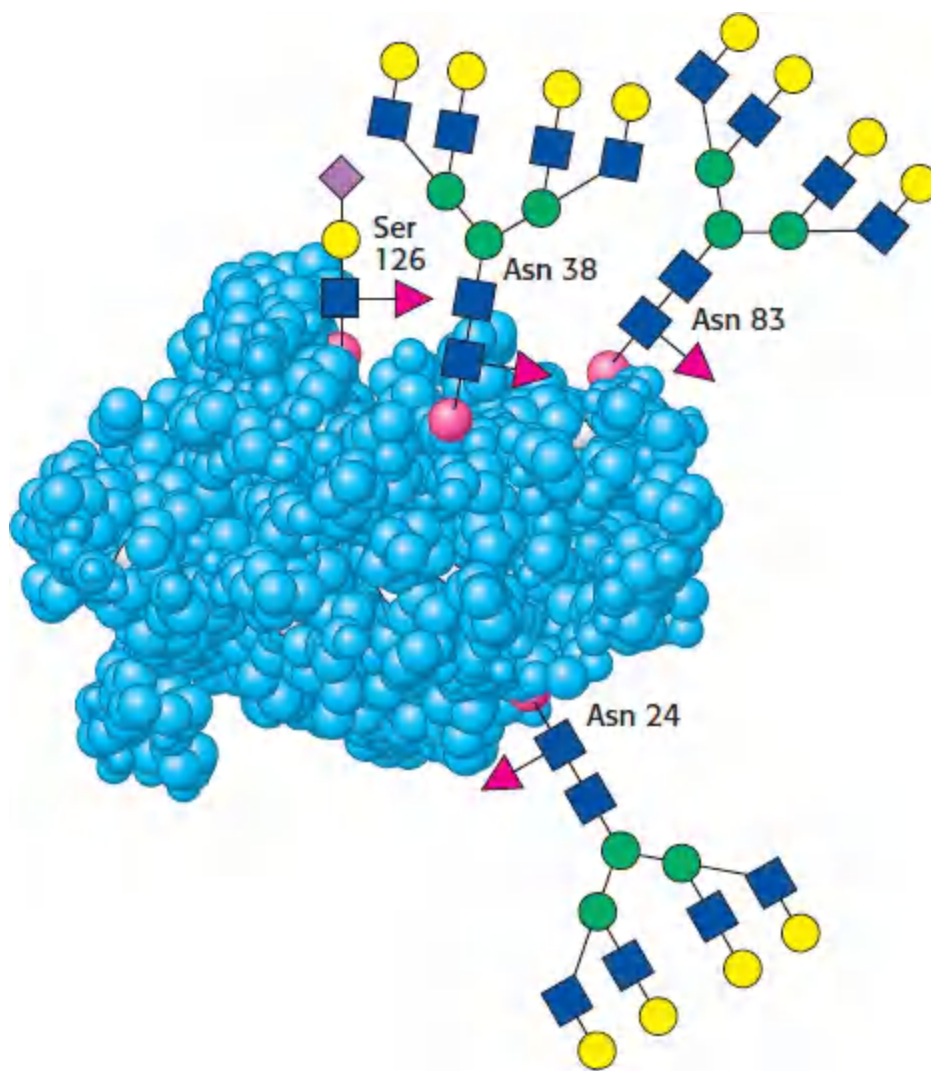



Figura 11.17 Oligossacarídeos ligados à eritropoetina. A eritropoetina tem oligossacarídeos ligados a três resíduos de asparagina e a um resíduo de serina. As estruturas mostradas estão aproximadamente na escala. Veja a chave dos carboidratos na Figura 11.16. [Desenhada a partir de 1BUY.pdf.]

Os proteoglicanos, que são compostos de polissacarídeos e proteína, desempenham papéis estruturais importantes

Conforme assinalado anteriormente, os proteoglicanos são proteínas ligadas a glicosaminoglicanos. O glicosaminoglicano constitui até 95% da biomolécula por peso e, portanto, o proteoglicano assemelha-se mais a um polissacarídeo do que a uma proteína. Os proteoglicanos não apenas funcionam como lubrificantes e componentes estruturais do tecido conjuntivo, mas também medeiam a adesão das células à matriz extracelular e ligam fatores que estimulam a proliferação celular.

 As propriedades dos proteoglicanos são determinadas principalmente pelo componente glicosaminoglicano. Muitos glicosaminoglicanos são constituídos por unidades repetidas de dissacarídeos contendo um derivado de amino açúcar, a glicosamina ou a galactosamina (Figura 11.18).

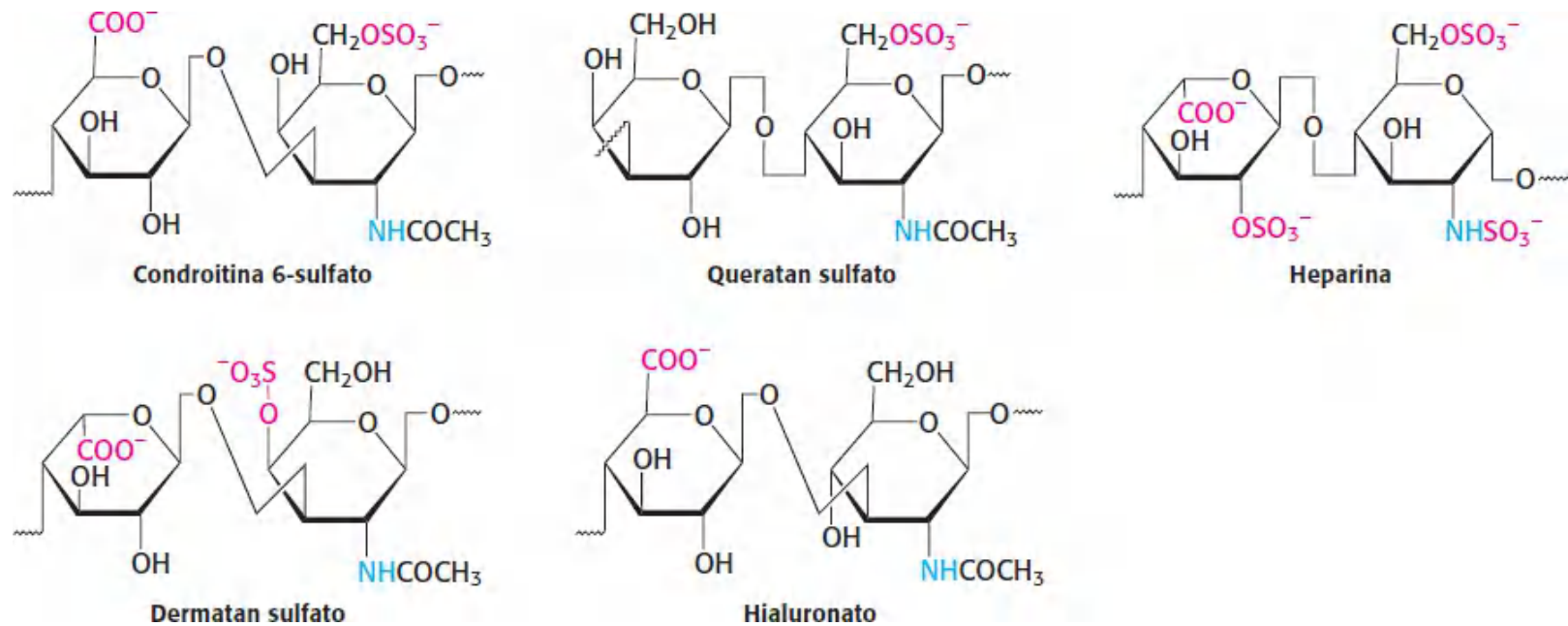


Figura 11.18 Unidades repetitivas nos glicosaminoglicanos. As fórmulas estruturais para cinco unidades repetitivas de glicosaminoglicanos importantes ilustram a variedade de modificações e de ligações possíveis. Os grupos amino são mostrados em azul e os grupos de carga negativa, em vermelho. Para maior clareza, foram omitidos os átomos de hidrogênio. A estrutura à direita é um derivado de glicosamina em cada caso.



Figura 11.19 Doença de Hurler. Antigamente denominada gargoilismo, a doença de Hurler é uma mucopolissacaridose, cujos sinais consistem em narinas largas, ponte nasal deprimida, lábios e lóbulos das orelhas espessos e dentes irregulares. Na doença de Hurler, os glicosaminoglicanos não podem ser degradados. O excesso dessas moléculas é armazenado nos tecidos moles da região facial, resultando nos traços faciais característicos. [Cortesia de National MPS Society, www.mpssociety.org.]

Pelo menos um dos dois açúcares na unidade repetitiva tem um *grupo carboxilado ou sulfatado de carga negativa*. Os principais glicosaminoglicanos nos animais são a condroitina sulfato, o queratan sulfato, a heparina, o heparan sulfato, o dermatan sulfato e o hialuronato. As *mucopolissacaridoses* representam um conjunto de doenças, como a doença de Hurler, que resultam da incapacidade de degradar os glicosaminoglicanos (Figura 11.19). Embora as características clínicas precisas variem de acordo com a doença, as mucopolissacaridoses resultam em deformidade

do esqueleto e redução da expectativa de vida.

Os proteoglicanos são importantes componentes da cartilagem

Entre os membros mais bem caracterizados dessa classe diversificada destaca-se o proteoglicano na matriz extracelular da cartilagem. O proteoglicano *agrecano* e a proteína *colágeno* são componentes essenciais da cartilagem. A hélice tríplice do colágeno (p. 45) fornece estrutura e resistência à tensão, enquanto o *agrecano* atua como elemento de absorção de choque. O componente proteico do *agrecano* é uma grande molécula constituída de 2.397 aminoácidos. A proteína tem três domínios globulares, e o sítio de ligação ao glicosaminoglicano é a região extensa compreendida entre os domínios globulares 2 e 3. Essa região linear contém sequências de aminoácidos altamente repetitivas, que são locais para a ligação do queratan sulfato e condroitina sulfato. Por sua vez, muitas moléculas de *agrecano* estão ligadas não covalentemente por meio do primeiro domínio globular a um filamento muito longo formado pela união de moléculas de hialuronano, um glicosaminoglicano (Figura 11.20). A água liga-se aos glicosaminoglicanos, atraída pelas numerosas cargas negativas. O *agrecano* pode amortecer forças compressivas, visto que a água absorvida possibilita a sua retração após ter sido deformada. Quando se exerce pressão, como quando a sola do pé bate no chão enquanto caminha, a água é espremida para fora do glicosaminoglicano, amortecendo o impacto. Quando a pressão é aliviada, a água volta a se ligar. A *osteoartrite* pode resultar da degradação proteolítica do *agrecano* e do colágeno na cartilagem.

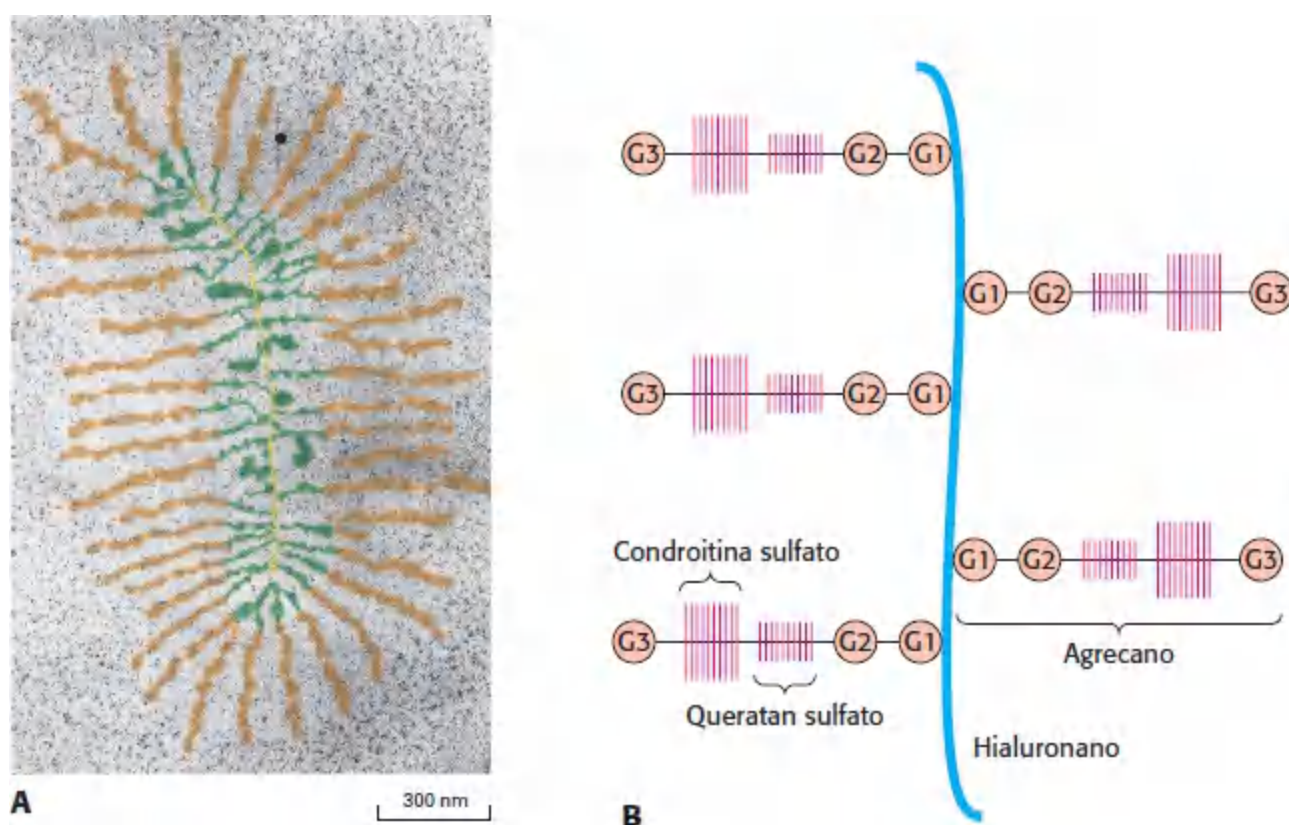


Figura 11.20 Estrutura do proteoglicano da cartilagem. **A.** Micrografia eletrônica de um proteoglicano da cartilagem (com cores falsas adicionadas). Os monômeros de proteoglicanos emergem lateralmente, a intervalos regulares dos lados opostos de um filamento central de hialuronano. **B.** Representação esquemática. G = domínio globular. [(A) Cortesia do Dr. Lawrence Rosenberg. De J. A. Buckwalter and L. Rosenberg. *Collagen Relat. Res.* 3:489-504, 1983.]

Além de serem um componente-chave dos tecidos estruturais, os glicosaminoglicanos são comuns

em toda biosfera. A quitina é um glicosaminoglicano encontrado no exoesqueleto dos insetos, crustáceos e aracnídeos e, depois da celulose, é o segundo polissacarídeo mais abundante da natureza (Figura 11.21).



Figura 11.21 A quitina, um glicosaminoglicano, é encontrada nas asas e no exoesqueleto dos insetos. Os glicosaminoglicanos são componentes do exoesqueleto dos insetos, crustáceos e aracnídeos. [FLPA/Alamy.]

As mucinas são componentes glicoproteicos do muco

Conforme assinalado anteriormente, outra classe de glicoproteínas é constituída pelas mucinas (mucoproteínas). Nas mucinas, a proteína componente é extensamente glicosilada nos resíduos de serina ou de treonina pela N-acetilgalactosamina (ver Figura 11.9). As mucinas são capazes de formar grandes estruturas poliméricas e são comuns nas secreções mucosas. Essas glicoproteínas são sintetizadas por células especializadas nos tratos traqueobrônquico, gastrintestinal e geniturinário. Como a principal função das mucinas consiste em atuar como lubrificantes, elas são abundantes na saliva.

A Figura 11.22A mostra um modelo de uma mucina. A característica que define as mucinas é uma região do arcabouço da proteína, denominada região de *número variável de repetições em série* (VNTR, do inglês *variable number of tandem repeats*), que é rica em resíduos de serina e de treonina que são O-glicosilados. Com efeito, a fração de carboidrato pode representar até 80% da molécula por peso. Várias estruturas de carboidratos do cerne são conjugadas à proteína componente da mucina. A Figura 11.22B mostra esse tipo de estrutura.

As mucinas aderem às células epiteliais e atuam como barreira protetora; além disso, elas hidratam as células subjacentes. Além de proteger as células de agressões ambientais, como o ácido gástrico, substâncias químicas inaladas nos pulmões e infecções bacterianas, as mucinas desempenham um papel na fecundação, na resposta imune e na adesão celular. As mucinas estão hiperexpressas na bronquite e na cirrose cística, e a hiperexpressão de mucinas é característica dos adenocarcinomas – cânceres das células glandulares de origem epitelial.

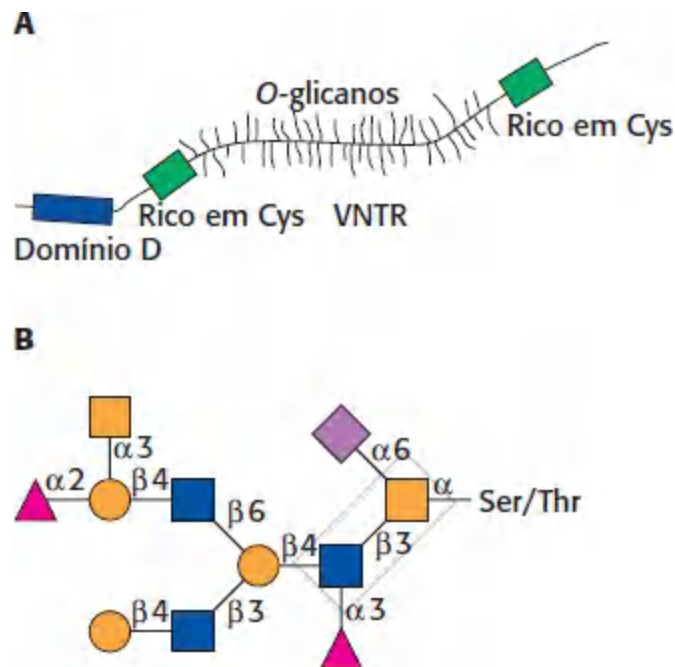


Figura 11.22 Estrutura da mucina. **A** Representação esquemática de uma mucoproteína. A região VNTR é altamente glicosilada, forçando a molécula a assumir uma conformação estendida. Os domínios ricos em Cys e o domínio D facilitam a polimerização de muitas dessas moléculas. **B**. Exemplo de um oligossacarídeo ligado à região VNTR da proteína. [De A. Varki *et al.* (Eds.), *Essentials of Glycobiology*, 2d ed. (Cold Spring Harbor Press, 2009), pp. 117, 118.]

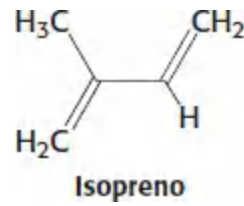


Figura 11.23 Complexo de Golgi e retículo endoplasmático. A micrografia eletrônica mostra o complexo de Golgi e o retículo endoplasmático adjacente. Os pontos pretos na superfície citoplasmática da membrana do RE são ribossomos. [Micrografia cortesia de Lynne Mercer.]

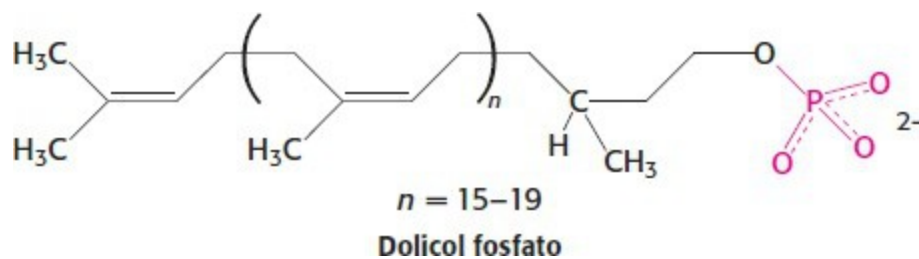
A glicosilação de proteínas ocorre no lúmen do retículo endoplasmático e no complexo de Golgi

As principais vias de glicosilação de proteínas são o lúmen do *retículo endoplasmático* (RE) e o *complexo de Golgi*, duas organelas que desempenham papéis fundamentais no tráfego das proteínas

(Figura 11.23). A proteína é sintetizada por ribossomos fixados à face citoplasmática da membrana do RE, e a cadeia peptídica é inserida no lúmen do RE (Seção 30.6). A glicosilação *N*-ligada começa no RE e continua no complexo de Golgi, enquanto a glicosilação *O*-ligada ocorre exclusivamente no complexo de Golgi.

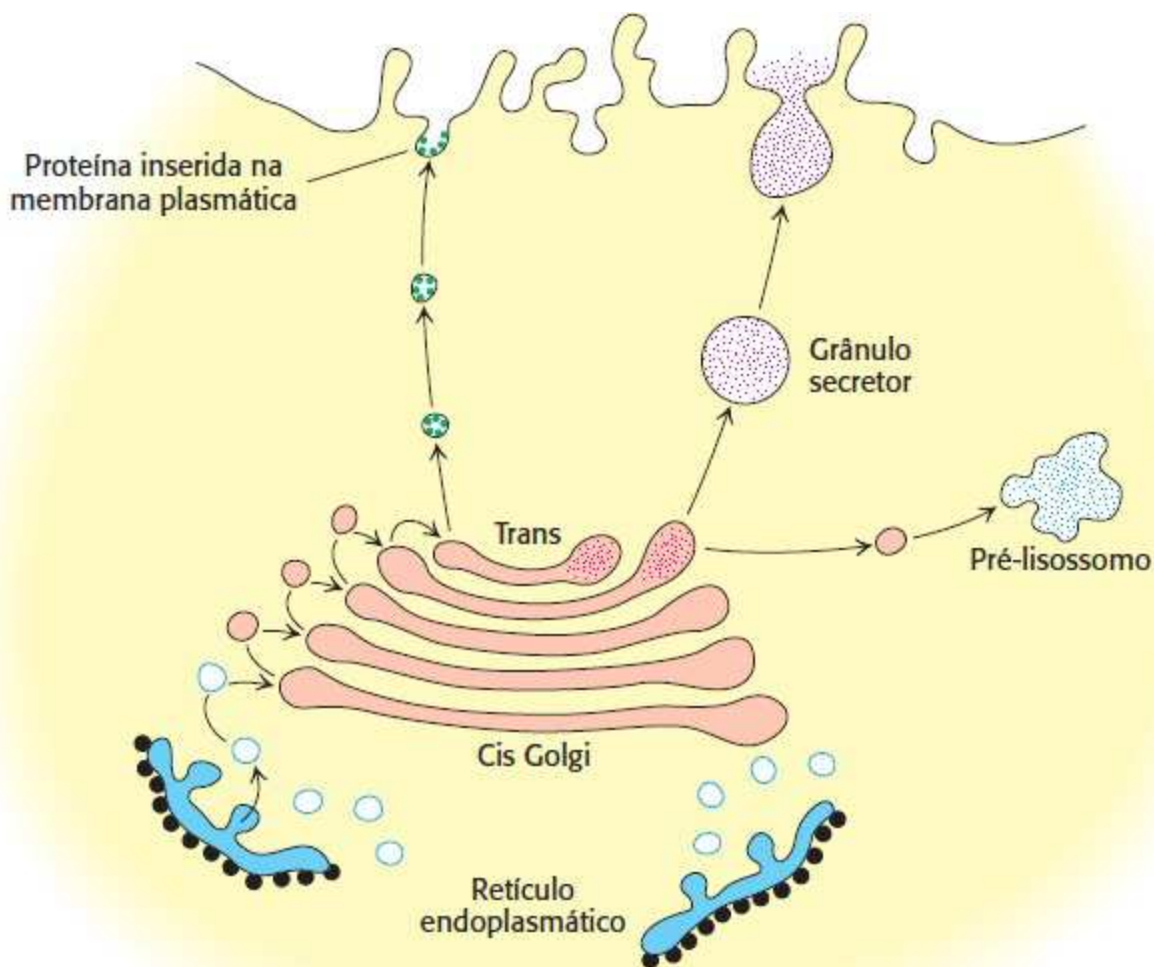


Um grande oligossacarídeo destinado à ligação ao resíduo de asparagina de uma proteína é montado no *dolicol fosfato*. Uma molécula lipídica especializada, localizada na membrana do RE e contendo cerca de 20 unidades de isopreno (C_5).



O grupo fosfato terminal do dolicol fosfato constitui o sítio de ligação do oligossacarídeo ativado, que é subsequentemente transferido a um resíduo específico de asparagina da cadeia polipeptídica em crescimento. Tanto os açúcares ativados quanto o complexo enzimático responsável pela transferência do oligossacarídeo à proteína localizam-se no lado luminal do RE. Por conseguinte, as proteínas no citoplasma não são glicosiladas por essa via.

As proteínas no lúmen do RE e na sua membrana são transportadas até o complexo de Golgi, que consiste em uma pilha de sacos membranosos achatados. *As unidades de carboidrato das glicoproteínas são alteradas e elaboradas no complexo de Golgi.* As unidades de açúcar *O*-ligadas são produzidas nesse local, enquanto os açúcares *N*-ligados, provenientes do RE como componente de uma glicoproteína, são modificados de diferentes maneiras. *O complexo de Golgi é o principal centro de ordenação da célula.* As proteínas prosseguem do complexo de Golgi para os lisossomos, os grânulos secretores ou a membrana plasmática, de acordo com sinais codificados dentro de suas sequências de aminoácidos e suas estruturas tridimensionais (Figura 11.24).



Proteína inserida na membrana plasmática

Grânulo secretor

Trans

Pré-lisossomo

Cis Golgi

Reticulo endoplasmático

Figura 11.24 O complexo de Golgi como centro de ordenação. O complexo de Golgi é o centro de ordenação do endereçamento de proteínas para os lisossomos, as vesículas secretoras e a membrana plasmática. A face cis do complexo de Golgi recebe vesículas do retículo endoplasmático, enquanto a face trans envia um conjunto diferente de vesículas para os locais-alvo. As vesículas também transferem proteínas de um compartimento do complexo de Golgi para outro. [Cortesia da Dra. Marilyn Farquhar.]

Enzimas específicas são responsáveis pela montagem dos oligossacarídeos

Como os carboidratos complexos são formados, sejam eles moléculas não conjugadas, como glicogênio, ou componentes de glicoproteínas? Os carboidratos complexos são sintetizados por meio da ação de enzimas específicas, as *glicosiltransferases*, que catalisam a formação de ligações glicosídicas. Tendo em vista a diversidade das ligações glicosídicas conhecidas, são necessárias muitas enzimas distintas. Com efeito, as glicosiltransferases representam 1 a 2% dos produtos gênicos em todos os organismos examinados.

A forma geral da reação da reação catalisada por uma glicosiltransferase é mostrada na Figura 11.25. O açúcar a ser acrescentado chega na forma de um nucleotídeo de açúcar ativado (rico em energia), como UDP-glicose (UDP é a abreviatura de uridina difosfato). A ligação de um nucleotídeo para aumentar o conteúdo de energia de uma molécula constitui uma estratégia comum na biossíntese, que veremos muitas vezes em nosso estudo de bioquímica. Os substratos aceptores para as glicosiltransferases são muito variados e incluem carboidratos, resíduos de serina, treonina e asparagina de proteínas, lipídios e, até mesmo, ácidos nucleicos.

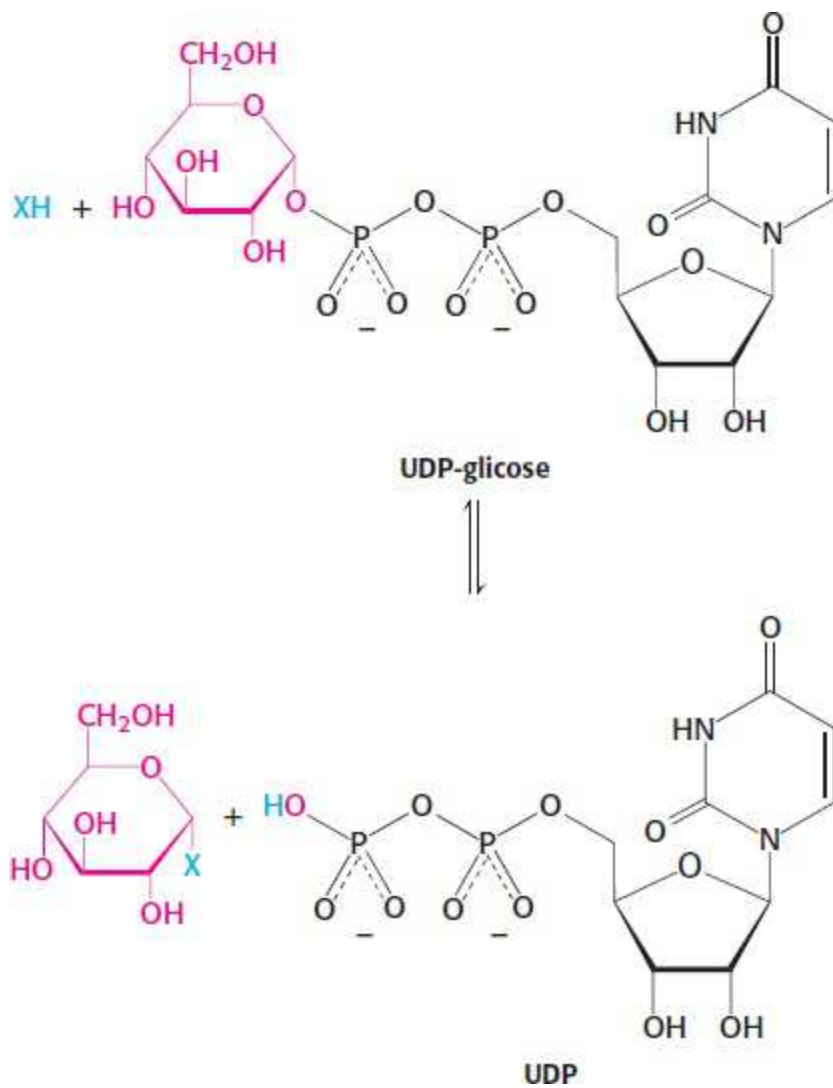



Figura 11.25 Forma geral de uma reação de glicosiltransferase. O açúcar a ser adicionado provém de um nucleotídeo de açúcar – neste caso, UDP-glicose. O aceptor, designado como X nesta ilustração, pode ser uma de várias biomoléculas, incluindo outros carboidratos ou proteínas.


Os grupos sanguíneos baseiam-se em padrões de glicosilação de proteínas

 Os grupos sanguíneos ABO humanos ilustram os efeitos das glicosiltransferases sobre a formação de glicoproteínas. Cada grupo sanguíneo é designado pela presença de um dos três carboidratos diferentes, denominados A, B ou O, ligados a glicoproteínas e glicolipídios sobre a superfície dos eritrócitos (Figura 11.26). Essas estruturas têm em comum uma base oligossacarídica, denominada antígeno O (ou, algumas vezes, H). Os antígenos A e B diferem do antígeno O pela adição de um monossacarídeo extra, a *N*-acetilgalactosamina (para o A) ou galactose (para o B), por meio de uma ligação α -1,3 a uma fração da galactose do antígeno O.

Glicosiltransferases específicas adicionam o monossacarídeo extra ao antígeno O. Cada indivíduo herda de cada genitor o gene para uma glicosiltransferase desse tipo. A transferase tipo A adiciona especificamente a *N*-acetilgalactosamina, enquanto a transferase tipo B acrescenta galactose. Essas enzimas são idênticas em todas as posições, exceto quatro das 354. O fenótipo O resulta de uma mutação que leva à terminação prematura da tradução e, portanto, à falta de produção de ambas as glicosiltransferases necessárias.

Essas estruturas têm importantes implicações nas transfusões de sangue e em outros procedimentos de transplante. Se um antígeno normalmente não presente em um indivíduo for introduzido, o sistema

imune desse indivíduo irá reconhecê-lo como estranho. Ocorre rápida lise dos eritrócitos, levando a uma acentuada queda da pressão arterial (hipotensão), choque, insuficiência renal e morte por colapso circulatório.

 Por que diferentes tipos sanguíneos estão presentes na população humana? Suponhamos que um organismo patogênico, como um parasito, expresse em sua superfície celular um antígeno de carboidrato semelhante a um dos antígenos de grupo sanguíneo. Esse antígeno pode não ser prontamente detectado como estranho em uma pessoa cujo tipo sanguíneo seja correspondente ao antígeno do parasito, de modo que este irá se multiplicar. Entretanto, outras pessoas com diferentes tipos sanguíneos serão protegidas. Por conseguinte, haverá uma pressão seletiva sobre os seres humanos para variar o tipo sanguíneo, de modo a impedir o mimetismo parasitário, e uma pressão seletiva correspondente sobre os parasitos para aumentar o mimetismo. Essa constante “queda de braço” entre microrganismos patogênicos e seres humanos impulsiona a evolução da diversidade dos antígenos de superfície na população humana.

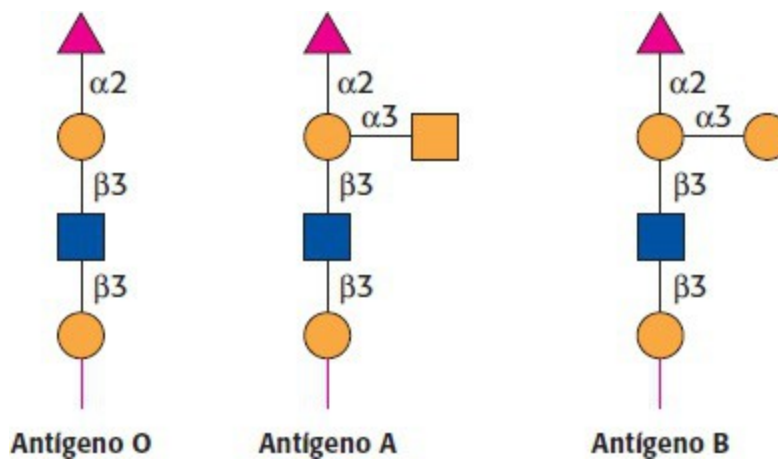



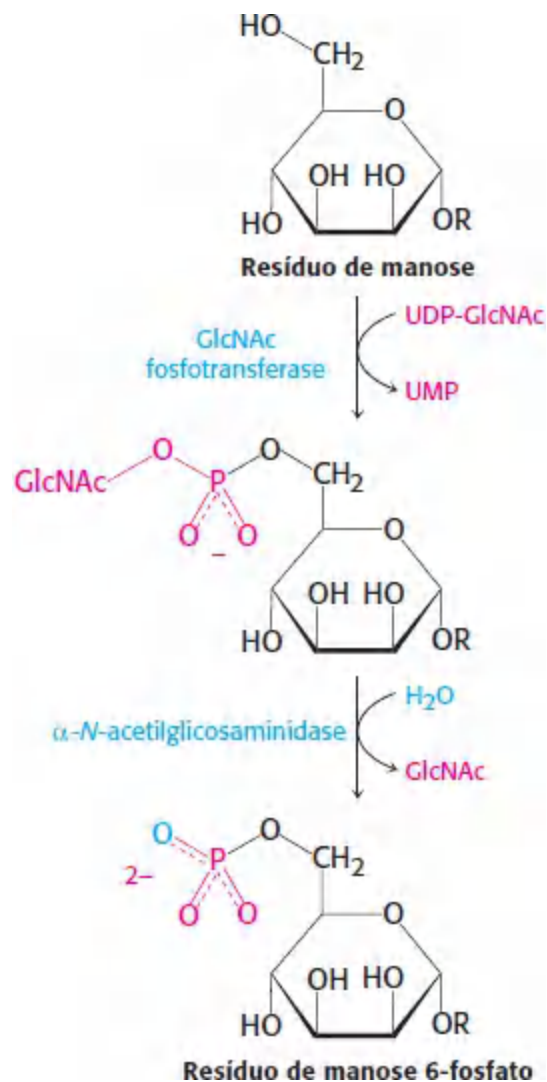
Figura 11.26 Estruturas dos antígenos oligossacarídicos A, B e O. As estruturas de carboidratos mostradas são representadas simbolicamente quando do emprego de um esquema (ver a chave na Figura 11.16) que está se tornando amplamente utilizado.

Erros na glicosilação podem resultar em condições patológicas.

 Embora o papel da ligação de carboidratos às proteínas não seja conhecido de modo detalhado na maioria dos casos, os dados disponíveis indicam que essa glicosilação é importante no processamento e estabilidade dessas proteínas, assim como para a EPO. Por exemplo, certos tipos de distrofia muscular podem ser atribuídos a uma glicosilação inadequada das proteínas de membranas. Com efeito, foi identificada toda uma família de doenças hereditárias humanas graves, denominadas *distúrbios congênitos da glicosilação*. Essas condições patológicas revelam a importância da modificação apropriada das proteínas por carboidratos e seus derivados.

Um exemplo particularmente claro do papel desempenhado pela glicosilação é fornecido pela *doença da célula I* (também denominada *muco lipídose II*), uma doença de armazenamento lisossômico. Normalmente, um marcador de carboidrato direciona certas enzimas digestivas do complexo de Golgi para os lisossomos, onde elas normalmente funcionam. Os lisossomos são organelas que degradam e reciclam componentes celulares lesionados ou material introduzido na célula por endocitose. Em pacientes com doença da célula “I”, os lisossomos contêm grandes

inclusões de glicosaminoglicanos e glicolípídios não digeridos – explicando o “I” no nome da doença. Essas inclusões estão presentes devido à ausência, nos lisossomos afetados, das enzimas normalmente responsáveis pela degradação dos glicosaminoglicanos. De modo notável, as enzimas estão presentes em níveis muito altos no sangue e na urina. Por conseguinte, ocorre síntese das enzimas ativas; todavia, na ausência de glicosilação apropriada, elas são exportadas em vez de serem capturadas pelos lisossomos. *Em outras palavras, na doença de célula I, um conjunto completo de enzimas é incorretamente endereçado e distribuído para um local incorreto.* Normalmente, essas enzimas contêm um resíduo de manose 6-fosfato, um componente de *N*-oligosacarídeo ligado a proteínas endereçado ao lisossomo. Entretanto, na doença da célula I, a manose ligada carece de um fosfato (Figura 11.27). A manose 6-fosfato é, de fato, o marcador que normalmente direciona muitas enzimas hidrolíticas do complexo de Golgi para os lisossomos. Os pacientes com doença da célula I apresentam deficiência da *N*-acetilglicosamina fosfotransferase, que catalisa a primeira etapa na adição do grupo fosforila; conseqüentemente, ocorre o direcionamento incorreto de oito enzimas essenciais. A doença da célula I faz com que o paciente desenvolva retardo psicomotor grave e deformidades esqueléticas, semelhantes àsquelas observadas na doença de Hurler.



Término leitura complementar

Figura 11.27 Formação de um marcador de manose 6-fosfato. Uma glicoproteína destinada a ser distribuída para os lisossomos adquire um marcador de fosfato no compartimento de Golgi, em um processo de duas etapas. Na primeira etapa, a GlcNAc fosfotransferase acrescenta uma unidade de fosfo-*N*-acetilglicosamina ao grupo 6-OH de uma manose; em seguida, uma *N*-acetilglicosaminidase remove o açúcar adicionado, gerando um resíduo de manose 6-fosfato no cerne

Os oligossacarídios podem ser “sequenciados”

Como é possível determinar a estrutura de uma glicoproteína – as estruturas oligossacarídicas e seus pontos de união? A maioria dos procedimentos recorre às enzimas que clivam oligossacarídios em tipos específicos de ligações.

A primeira etapa consiste em desprender o oligossacarídeo da proteína. Por exemplo, os oligossacarídios *N*-ligados podem ser liberados das proteínas por uma enzima, como a *peptidase N-glicosidase F*, que cliva as ligações *N*-glicosídicas que unem o oligossacarídeo à proteína. Em seguida, os oligossacarídios podem ser isolados e analisados. MALDI-TOF ou outras técnicas de espectrometria de massa (Seção 3.4) fornecem a massa de um fragmento oligossacarídico. Entretanto, muitas estruturas oligossacarídicas possíveis são compatíveis com determinada massa. Podem-se obter informações mais completas pela clivagem do oligossacarídeo com enzimas de especificidades variáveis. Por exemplo, a β -1,4-galactosidase cliva ligações β glicosídicas exclusivamente nos resíduos de galactose. Os produtos podem ser mais uma vez analisados por espectrometria de massa (Figura 11.28). A repetição desse processo com o uso de uma série de enzimas de diferentes especificidades revelará finalmente a estrutura do oligossacarídios.

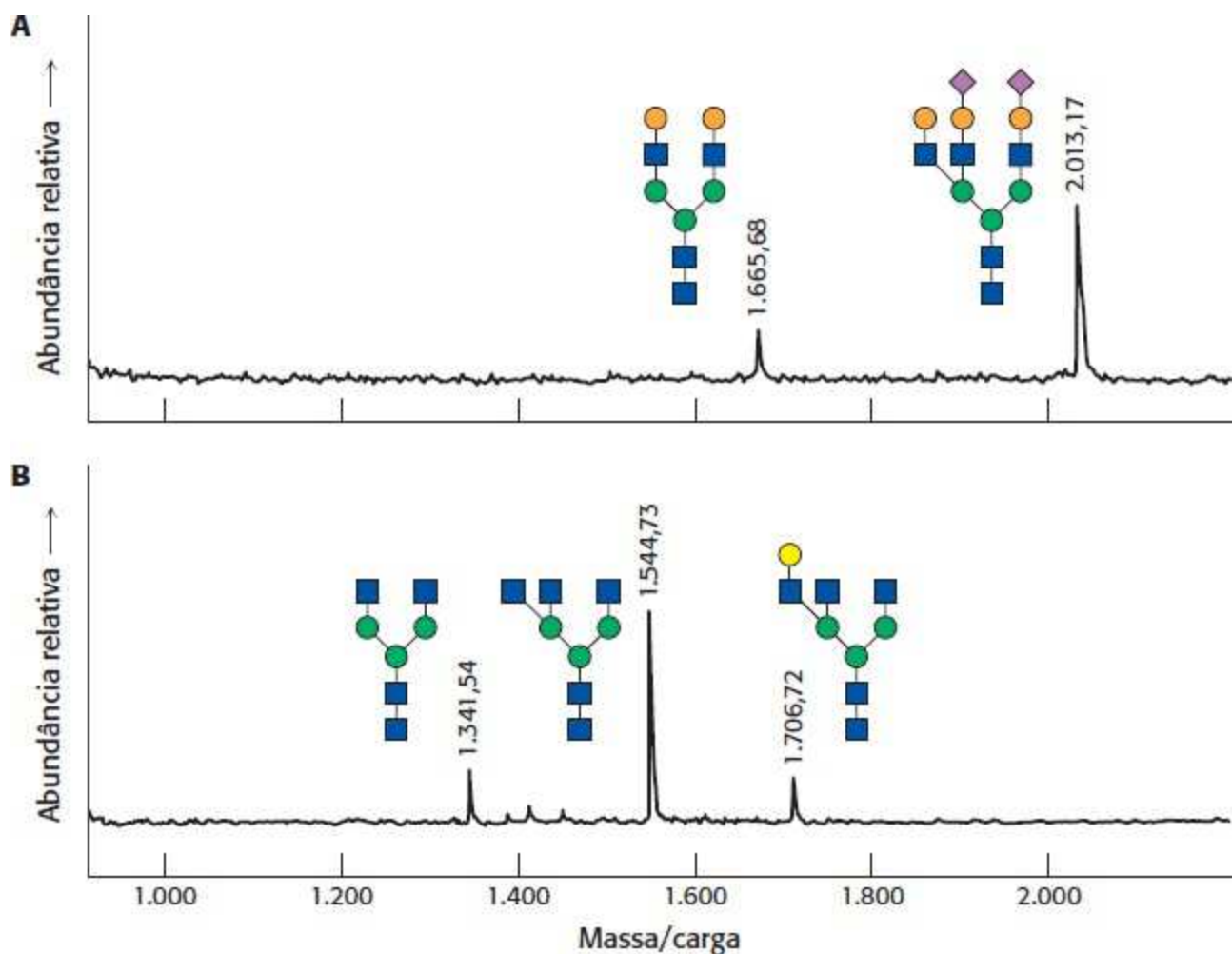


Figura 11.28 “Sequenciamento” de oligossacarídios por espectrometria de massa. Foram usadas enzimas que clivam carboidratos para liberar e clivar especificamente o oligossacarídeo componente da glicoproteína fetuina do soro bovino. As partes A e B mostram as massas obtidas por espectrometria MALDI-TOF, bem como as estruturas correspondentes dos produtos de digestão do oligossacarídeo (utilizando o mesmo esquema que o da Figura 11.16): (A)

digestão com peptídio *N*-glicosidase F (para liberar o oligossacarídeo da proteína) e neuraminidase (**B**) digestão com peptídio *N*-glicosidase F, neuraminidase e β -1,4-galactosidase. O conhecimento das especificidades das enzimas e da massa dos produtos possibilita a caracterização do oligossacarídeo. Ver a chave dos carboidratos na Figura 11.16. [De A. Varki, R. D. Cummings, J. D. Esko, H. H. Freeze, G. W. Hart, J. Marth (Eds.), *Essentials of Glycobiology* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999), p. 596.]

Proteases aplicadas às glicoproteínas podem revelar os pontos de união dos oligossacarídeos. A clivagem por uma protease específica produz um padrão característico de fragmentos peptídicos, que podem ser analisados por cromatografia. Os fragmentos ligados aos oligossacarídeos podem ser distinguidos, visto que as suas propriedades cromatográficas variam com o tratamento com glicosidases. A análise por espectrometria de massa ou o sequenciamento direto dos peptídios podem revelar a identidade do peptídio em questão e, com esforços adicionais, o local exato de ligação ao oligossacarídeo.

Observe que, agora que o sequenciamento do genoma humano está completo, a caracterização do proteoma muito mais complexo, incluindo as funções biológicas das proteínas especificamente modificadas, pode começar ativamente.

11.4 As lectinas são proteínas que ligam carboidratos específicos

A diversidade e a complexidade das unidades de carboidratos e as várias maneiras com que podem ser unidas em oligossacarídeos e polissacarídeos sugerem a sua importância funcional. A natureza não constrói padrões complexos quando padrões simples são suficientes. Por que, então, toda essa complexidade e diversidade? Hoje em dia, está claro que essas estruturas de carboidratos constituem os locais de reconhecimento para uma classe especial de proteína. Essas proteínas, denominadas *proteínas de ligação de glicanos*, ligam estruturas específicas de carboidratos em superfícies celulares adjacentes. Originalmente descobertas em plantas, as proteínas de ligação de glicana são ubíquas, e não foi encontrado nenhum organismo vivo que não tivesse essas proteínas essenciais. Concentremo-nos em uma classe particular de proteína de ligação de glicanos, denominada *lectina* (do latim *legere*, “selecionar”). A interação das lectinas com seus parceiros carboidratos é outro exemplo de carboidratos como moléculas ricas em informações que orientam numerosos processos biológicos. As estruturas diversas dos carboidratos apresentadas nas superfícies das células são bem apropriadas para atuarem como locais de interação entre as células e seus ambientes. É interessante observar que os parceiros ligantes de lectinas são frequentemente a fração carboidrato das lipoproteínas.

As lectinas promovem interações entre as células

O contato entre células é uma interação vital em numerosas funções bioquímicas, desde a formação de um tecido a partir de células isoladas até o processo de facilitação da transmissão de informações. A principal função das lectinas, que são proteínas que ligam carboidratos, consiste em facilitar o contato entre células. Em geral, uma lectina contém dois ou mais sítios de ligação para unidades de carboidratos. Esses sítios de ligação de carboidratos na superfície de uma célula interagem com um conjunto de carboidratos dispostos na superfície de outra célula. As lectinas e os carboidratos estão ligados por diversas interações não covalentes fracas, que asseguram

especificidade, mas que possibilitam a sua liberação, se necessário. As interações fracas entre uma superfície celular e outra assemelham-se à ação de um velcro; cada interação é fraca, porém o conjunto é forte.

Já encontramos uma lectina indiretamente. Lembre-se de que, na doença da célula I, as enzimas lisossômicas carecem da manose 6-fosfato apropriada, uma molécula que direciona as enzimas para os lisossomos. Em circunstâncias normais, o *receptor de manose 6-fosfato*, uma lectina, liga-se às enzimas no aparelho de Golgi e as direciona para o lisossomo.

As lectinas são organizadas em diferentes classes

As lectinas podem ser divididas em classes, com base nas sequências de seus aminoácidos e nas suas propriedades bioquímicas. Uma grande classe é constituída pelo tipo C (já que necessita da presença de cálcio) encontrado em animais. Cada uma dessas proteínas tem um domínio homólogo de 120 aminoácidos, que é responsável pela ligação ao carboidrato. A Figura 11.29 mostra a estrutura de um domínio desse tipo ligado a um carboidrato alvo.

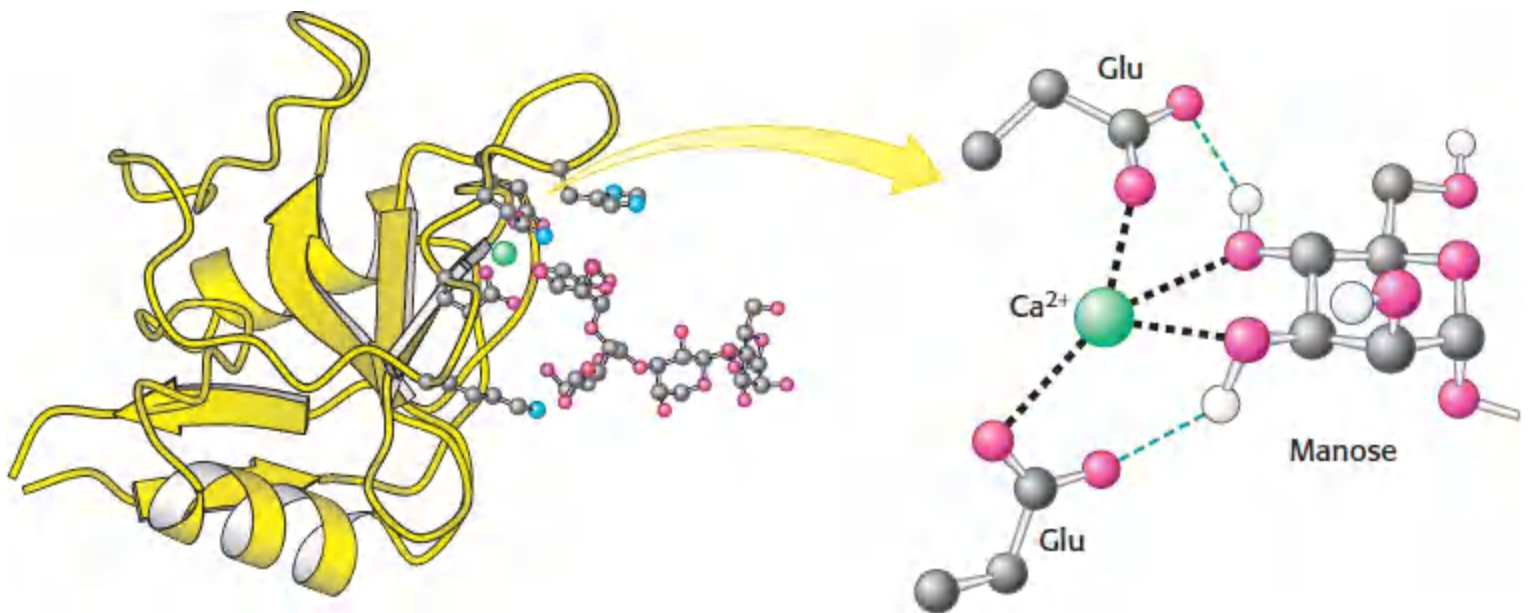


Figura 11.29 Estrutura de um domínio de ligação de carboidrato tipo C de uma lectina animal. Observe que um íon cálcio liga um resíduo de manose à lectina. São mostradas interações selecionadas, com omissão de alguns átomos de hidrogênio para maior clareza. [Desenhada a partir de 2MSC.pdb.]

Um íon cálcio na proteína atua como ponte entre a proteína e o açúcar por meio de interações diretas com grupos OH do açúcar. Além disso, dois resíduos de glutamato na proteína ligam-se ao íon cálcio e ao açúcar, enquanto outras cadeias laterais da proteína formam pontes de hidrogênio com outros grupos OH no carboidrato. A especificidade de ligação de determinada lectina a carboidratos é determinada pelos resíduos de aminoácidos que ligam o carboidrato.

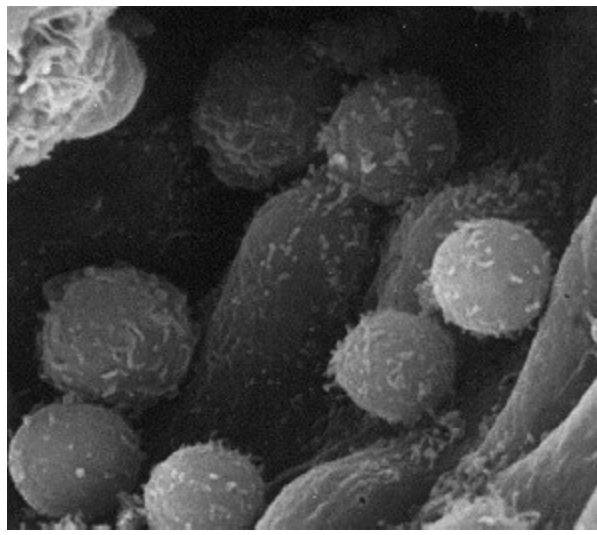



Figura 11.30 As selectinas medeiam interações entre células. A micrografia eletrônica de varredura mostra linfócitos aderindo-se ao revestimento endotelial de um linfonodo. As selectinas L na superfície do linfócito ligam-se especificamente a carboidratos no revestimento dos vasos dos linfonodos. [Cortesia do Dr. Eugene Butcher.]

Proteínas denominadas *selectinas* são membros da família do tipo C. As selectinas ligam células do sistema imune aos locais de lesão na resposta inflamatória (Figura 11.30). As formas L, E e P das selectinas ligam-se especificamente a carboidratos nos vasos dos linfonodos, endotélio ou plaquetas sanguíneas ativadas, respectivamente. Novos agentes terapêuticos para controlar a inflamação poderão surgir com o entendimento mais profundo da ligação das selectinas e de como elas distinguem diferentes carboidratos. A selectina L, que originalmente se acreditava que participasse apenas da resposta imune, é produzida pelos embriões quando estão prontos para se fixar ao endométrio do útero materno. Durante um curto período de tempo, as células endometriais apresentam um oligossacarídeo na superfície celular. Quando o embrião se fixa através de lectinas, vias de sinalização no endométrio são ativadas possibilitando a implantação do embrião.

Outra grande classe de lectinas compreende as lectinas L. Essas lectinas são particularmente abundantes nas sementes de leguminosas, e muitas das caracterizações bioquímicas iniciais das lectinas foram efetuadas com essa lectina prontamente disponível. Embora o papel exato das lectinas nas plantas permaneça incerto, elas podem atuar como potentes inseticidas. Outras lectinas do tipo L, como a *calnexina* e a *calreticulina*, são chaperonas proeminentes no retículo endoplasmático eucariótico. Convém lembrar que as chaperonas são proteínas que facilitam o enovelamento de outras proteínas.

O vírus influenza liga-se a resíduos de ácido siálico

 Muitos patógenos entram em células hospedeiras específicas por meio de sua adesão a carboidratos da superfície celular. Por exemplo, o vírus da *influenza* reconhece resíduos de ácidos siálicos ligados a resíduos de galactose que estão presentes em glicoproteínas da superfície celular. A proteína viral que se liga a esses açúcares é denominada *hemaglutinina* (Figura 11.31.).

Após a ligação da hemaglutinina, o vírus é internalizado pela célula e começa a se replicar. Para sair da célula, os novos vírions precisam se ligar à hemaglutinina, em um processo que essencialmente é o inverso da entrada do vírus. Outra proteína viral, a neuraminidase (sialidase), cliva as ligações glicosídicas nos resíduos de ácido siálico da hemaglutinina, liberando o vírus para infectar novas células, com disseminação da infecção pelo trato respiratório. Os inibidores dessa

enzima, como o oseltamivir e o zanamivir, são importantes agentes antigripais.

A especificidade de ligação da hemaglutinina a carboidratos pode desempenhar um papel importante na especificidade de espécie da infecção e na facilidade de transmissão. Por exemplo, o vírus da *influenza* aviária H5N1 (*influenza* das aves) é particularmente letal e propaga-se rapidamente de uma ave para outra. Embora os seres humanos possam ser infectados por esses vírus, a infecção é rara, e a transmissão entre seres humanos é ainda mais rara. A base bioquímica dessas características reside no fato de que a hemaglutinina do vírus aviário reconhece uma sequência diferente de carboidrato daquela reconhecida na *influenza* humana. Embora os seres humanos tenham a sequência à qual se liga o vírus aviário, ela se localiza profundamente nos pulmões. Por conseguinte, a infecção pelo vírus aviário é difícil e, quando ocorre, o vírus não é prontamente transmitido pelo espirro ou pela tosse.

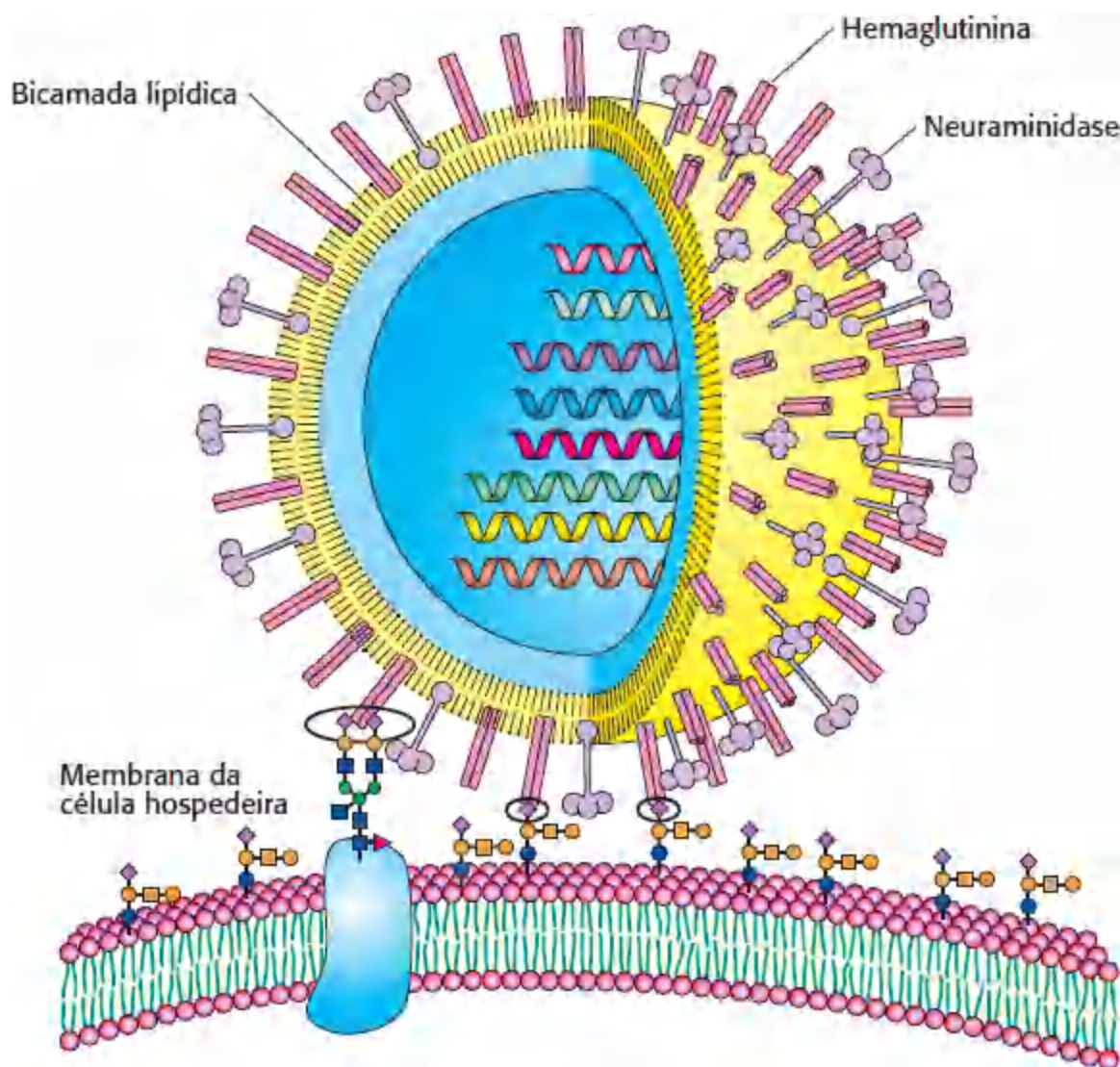


Figura 11.31 Receptores virais. O vírus da *influenza* atinge as células por meio de sua ligação a resíduos de ácido siálico (losangos de cor púrpura) localizados nas extremidades de oligossacarídeos presentes nas glicoproteínas e glicolipídios de superfície celular. Esses carboidratos são ligados pela hemaglutinina (círculos de interação), uma das principais proteínas expressas na superfície do vírus. A outra proteína importante de superfície viral, a neuraminidase, é uma enzima que cliva cadeias de oligossacarídeos, liberando a partícula viral em um estágio mais avançado do ciclo de vida do vírus.

O *Plasmodium falciparum*, o parasito protozoário que causa malária, também depende da ligação de glicana para infectar e colonizar o seu hospedeiro. As proteínas de ligação de glicana da forma parasitária inicialmente injetada pelo mosquito ligam-se ao sulfato de heparina do fígado, um

glicosaminoglicano que inicia a entrada do parasito na célula. Ao sair do fígado posteriormente no seu ciclo de vida, o parasito invade os eritrócitos utilizando outra proteína de ligação de glicana para ligar-se à fração de carboidrato de glicoforina, uma glicoproteína proeminente da membrana dos eritrócitos. O desenvolvimento de meios para interromper as interações de carboidrato entre patógenos e células do hospedeiro poderá ser clinicamente útil.

Resumo

11.1 Os monossacarídeos são os carboidratos mais simples

Os carboidratos são aldoses ou cetoses ricas em grupos hidroxila. Uma aldose é um carboidrato com um grupo aldeído (como no gliceraldeído e na glicose), enquanto uma cetose contém um grupo ceto (como na di-hidroxiacetona e na frutose). Um açúcar pertence à série D se a configuração absoluta de seu átomo de carbono assimétrico mais distante do grupo aldeído ou ceto for a mesma que a do D-gliceraldeído. Os açúcares de ocorrência natural pertencem, em sua maioria, à série D. O aldeído do C-1 na forma de cadeia aberta da glicose reage com o grupo hidroxila do C-5, formando um anel hexagonal de piranose. O grupo ceto do C-2 na forma de cadeia aberta da frutose reage com um grupo hidroxila do C-5, formando um anel pentagonal de furanose. As pentoses, como a ribose e a desoxirribose, também formam anéis de furanose. Forma-se um centro assimétrico adicional no átomo de carbono anomérico (C-1 nas aldoses e C-2 nas cetoses) nessas ciclizações. O grupo hidroxila unido ao átomo de carbono anomérico está no lado oposto do anel em relação ao grupo CH_2OH unido ao centro quiral no anômero α , enquanto está do mesmo lado do anel que o grupo CH_2OH no anômero β . Nem todos os átomos do anel encontram-se no mesmo plano; na verdade, os anéis de piranose adotam habitualmente a conformação de cadeira, enquanto os anéis de furanose adotam, em geral, a conformação de envelope. Os açúcares são unidos a alcoóis e aminas por ligações glicosídicas a partir do átomo de carbono anomérico. Por exemplo, as ligações *N*-glicosídicas ligam açúcares às purinas e pirimidinas nos nucleotídeos, RNA e DNA.

11.2 Os monossacarídeos estão ligados entre si para formar carboidratos complexos

Os açúcares ligam-se uns aos outros por ligações *O*-glicosídicas, formando dissacarídeos e polissacarídeos. A sacarose, a lactose e a maltose são os dissacarídeos mais comuns. A sacarose (açúcar comum de mesa) é constituída de α -glicose e β -frutose unidas por uma ligação glicosídica entre seus átomos de carbono anoméricos. A lactose (presente no leite) é constituída de galactose unida à glicose por uma ligação β -1,4. A maltose (do amido) é constituída de duas glicoses unidas por uma ligação α -1,4. O amido é uma forma polimérica de glicose nas plantas, e, nos animais, o glicogênio desempenha um papel semelhante. As unidades de glicose no amido e no glicogênio estão unidas, em sua maioria, por ligações α -1,4. A celulose, o principal polímero estrutural das paredes celulares das plantas, é constituída por unidades de glicose unidas por ligações β -1,4. Essas ligações β dão origem a longas cadeias lineares que formam fibrilas com alta resistência à tensão. Por outro lado, as ligações α no amido e no glicogênio resultam em hélices abertas, de acordo com suas funções como reservas mobilizáveis de energia.

11.3 Os carboidratos podem ligar-se às proteínas para formar glicoproteínas

Os carboidratos são comumente conjugados às proteínas. Se o componente proteico for predominante, o conjugado de proteína e carboidrato é denominado glicoproteína. As proteínas secretadas são, em sua maioria, glicoproteínas. A eritropoetina, uma molécula de sinalização, é uma glicoproteína. As glicoproteínas também são proeminentes na superfície externa da membrana plasmática. As proteínas que apresentam glicosaminoglicanos ligados covalentemente são denominadas proteoglicanos. Os glicosaminoglicanos são polímeros de dissacarídeos repetidos. Uma das unidades em cada repetição é um derivado da glicosamina ou galactosamina. Esses carboidratos altamente aniônicos apresentam alta densidade de grupos carboxilado ou sulfato. Os proteoglicanos são encontrados na matriz extracelular dos animais e constituem componentes essenciais da cartilagem. As mucoproteínas, à semelhança dos proteoglicanos, consistem predominantemente em carboidratos por peso. O componente proteico é altamente *O*-glicosilado, com ligação do oligossacarídeo à proteína pela *N*-acetilgalactosamina. As mucoproteínas atuam como lubrificantes.

Enzimas específicas ligam as unidades de oligossacarídeos nas proteínas ao átomo de oxigênio da cadeia lateral de um resíduo de serina ou de treonina ou ao átomo de nitrogênio amídico da cadeia lateral de um resíduo de asparagina. A glicosilação da proteína ocorre no lúmen do retículo endoplasmático. Os oligossacarídeos *N*-ligados são sintetizados sobre o dolicol fosfato e, subsequentemente, são transferidos para a proteína aceptora. Açúcares adicionais são unidos no complexo de Golgi para formar padrões diversos.

11.4 As lectinas são proteínas que ligam carboidratos específicos

Término leitura
avançada

Os carboidratos nas superfícies celulares são reconhecidos por proteínas denominadas lectinas. Nos animais, a interação das lectinas com seus açúcares-alvo orienta o contato entre células. A hemaglutinina, uma proteína viral, na superfície do vírus da *influenza*, reconhece resíduos de ácido siálico na superfície das células invadidas pelo vírus. Um pequeno número de resíduos de carboidrato pode unir-se de muitas maneiras diferentes, formando padrões altamente diversificados, que podem ser distinguidos pelos domínios de lectina dos receptores proteicos.

Palavras-chave

açúcar não redutor (p. 327)

açúcar redutor (p. 327)

aldose (p. 322)

amido (p. 330)

anômero (p. 325)

celulose (p. 330)

cetose (p. 322)

complexo de Golgi (p. 335)

diastereoisômero (p. 323)

dissacarídeo (p. 329)

dolicol fosfato (p. 336)

enantiômero (p. 323)

epímero (p. 324)

estereoisômero (p. 323)

furanose (p. 325)
glicobiologia (p. 322)
glicofoma (p. 332)
glicogênio (p. 330)
glicômica (p. 322)
glicoproteína (p. 331)
glicosaminoglicano (p. 332)
glicosiltransferase (p. 337)
hemiacetal (p. 324)
hemicetal (p. 324)
heptose (p. 322)
hexose (p. 322)
isômero constitucional (p. 323)
lectina (p. 340)
ligação glicosídica (p. 328)
monossacarídeo (p. 322)
mucina (mucoproteína) (p. 332)
oligossacarídeo (p. 329)
pentose (p. 322)
piranose (p. 324)
polissacarídeo (p. 330)
produtos finais de glicosilação avançada (AGE) (p. 328)
proteína de ligação de glicanos (p. 339)
proteoglicano (p. 332)
retículo endoplasmático (p. 335)
selectina (p. 341)
tetrose (p. 332)
triose (p. 332)

Questões

1. *Origem da palavra.* Explique a origem do termo *carboidrato*.
2. *Diversidade.* Quantos oligossacarídeos diferentes podem ser formados pela ligação de uma glicose, uma manose e uma galactose? Suponha que cada açúcar esteja em sua forma de piranose. Compare esse número com o número de tripeptídeos que podem ser formados a partir de três aminoácidos diferentes.
3. *Pares.* Indique se cada um dos seguintes pares de açúcares é constituído de anômeros, epímeros ou de um par aldose-cetose:
 - (a) D-gliceraldeído e di-hidroxiacetona
 - (b) D-glicose e D-manose
 - (c) D-glicose e D-frutose
 - (d) α -D-glicose e β -D-glicose
 - (e) D-ribose e D-ribulose
 - (f) D-galactose e D-glicose