

## **QBQ0204 Bioquímica: Estrutura de Biomoléculas e Metabolismo**

### **Guia de estudos**

#### ***Aula 14: Gliconeogênese e via das pentoses-fosfato***

Além dos aspectos gerais da gliconeogênese e via das pentoses-fosfato, nesta aula foi abordado brevemente alguns mecanismos gerais e específicos de regulação do metabolismo. É importante o início do contato com os mecanismos de regulação, pois ao fim do curso eles serão analisados de forma integrada. O capítulo sobre a regulação específica nos diversos pontos do metabolismo é fornecido inteiro para facilitar, mas as regulações sobre temas de outras aulas estão marcadas e não precisam ser lidos neste momento. Como parte da leitura complementar, indicamos a leitura do capítulo das estratégias gerais de regulação metabólica.

# 14 Gliconeogênese

Início leitura básica

## 14.1 Origem da glicose circulante em animais superiores

A maioria das células de animais superiores é capaz de suprir suas necessidades energéticas a partir da oxidação de vários tipos de compostos: açúcares, ácidos graxos, aminoácidos etc. Alguns tecidos e células desses organismos, entretanto, utilizam exclusivamente glicose como fonte de energia (Tabela 14.1). Este é o caso do cérebro, que consome aproximadamente 120 g de glicose por dia, e das hemácias, que necessitam, em média, de 30 g diários. A oxidação de glicose pelo cérebro corresponde a cerca de 75% do total de glicose oxidada por dia por um ser humano adulto, independentemente da atividade mental desempenhada.

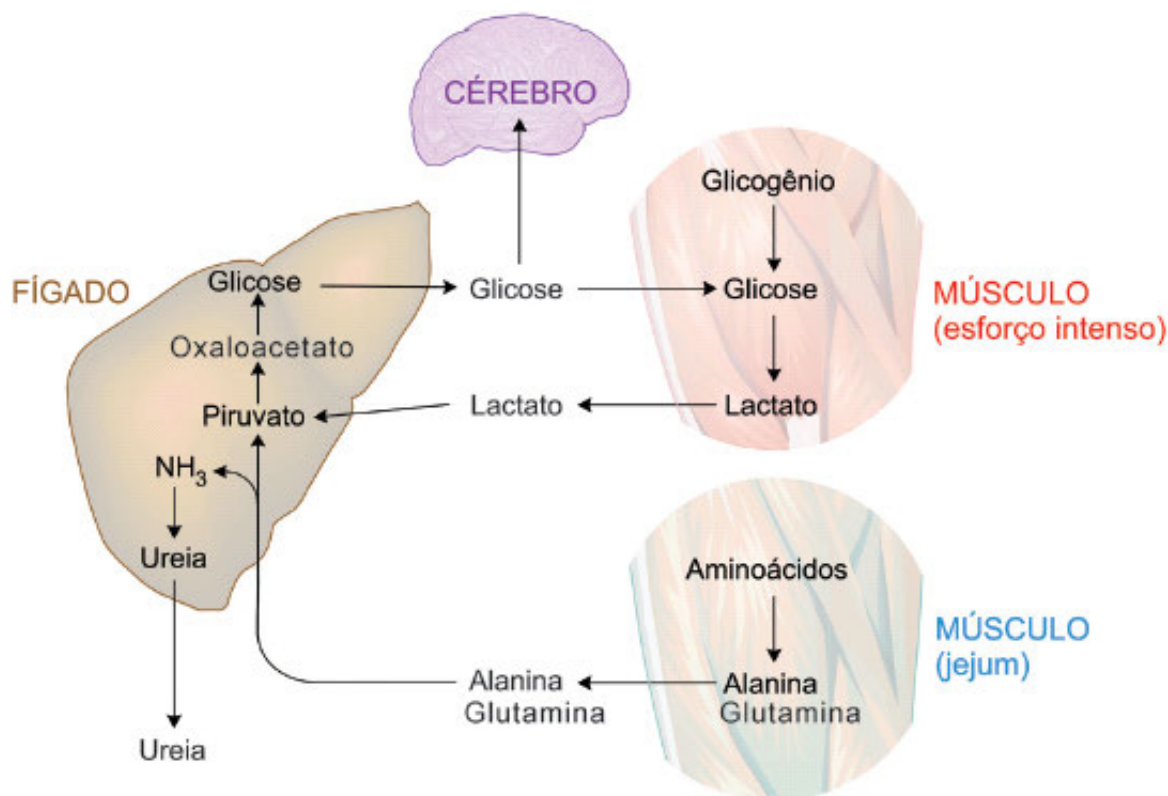
O organismo dispõe de vias metabólicas destinadas a manter o nível basal de glicose circulante capaz de atender as necessidades energéticas daqueles tipos de células entre as refeições ou durante o jejum: glicogenólise (Seção 13.1) e gliconeogênese. Após as refeições, a absorção dos alimentos faz aumentar a glicemia (concentração de glicose plasmática). Neste período, a liberação de insulina pelo pâncreas permite a absorção de glicose por todos os tecidos. Gradativamente, a glicemia diminui e, ao ser atingido um nível basal, ocorre uma alteração na secreção pancreática: a insulina é substituída por glucagon. Este hormônio estimula a degradação do glicogênio hepático e a liberação de glicose do fígado mantém a glicemia basal. No entanto, a reserva hepática de glicogênio é limitada e insuficiente para manter níveis glicêmicos normais além de 8 horas de jejum. Depois deste período, a contribuição do glicogênio hepático decresce, ao mesmo tempo em que é acionada outra via metabólica de produção de glicose: a *gliconeogênese*. Como seu nome indica, a *gliconeogênese* consiste na síntese de glicose a partir de compostos que não são carboidratos.

Nos seres humanos, o fígado e os rins<sup>1</sup> são os principais órgãos responsáveis pela gliconeogênese e os precursores mais importantes de glicose são: *aminoácidos*, *lactato* e *glicerol*. Todos os *aminoácidos*, com exceção de lisina e leucina, podem originar glicose: são os *aminoácidos glicogênicos*. A degradação de lisina e leucina produz somente acetil-CoA, como acontece com os ácidos graxos, e os animais são incapazes de sintetizar glicose a partir de acetil-CoA. Os aminoácidos são provenientes da degradação de proteínas endógenas, fundamentalmente as musculares, durante o jejum. No músculo, e em outros tecidos, os aminoácidos são convertidos a *alanina* e *glutamina*, suas principais formas de transporte (Seção 17.2.1). O *lactato* origina-se dos músculos submetidos a contração intensa e de outras células que degradam glicose anaerobiamente — hemácias, medula renal, retina etc. No fígado e nos rins, alanina e lactato convertem-se em piruvato e glutamina em oxaloacetato, que originam glicose pela gliconeogênese; o grupo amino dos aminoácidos é excretado como ureia (Figura 14.1). O *glicerol*, derivado da hidrólise de triacilgliceróis do tecido adiposo durante o jejum, tem pequena importância quantitativa na produção de glicose.

Tabela 14.1 Fonte de energia para diferentes tecidos.

Tecido	Composto		
	Glicose	Ácidos graxos	Corpos cetônicos
Cérebro*	+		
Hemácias e leucócitos	+		
Medula renal	+		
Retina	+		
Mucosa intestinal	+		
Fígado	+	+	
Adiposo	+	+	
Músculos esqueléticos e cardíaco	+	+	+

\*O cérebro, no jejum prolongado, torna-se capaz de oxidar corpos cetônicos.



**Figura 14.1** Relação entre diferentes órgãos na gliconeogênese — esta via ocorre no fígado e nos rins, a partir de substratos produzidos pelo músculo: alanina e glutamina no jejum e lactato no esforço intenso; o lactato origina-se, ainda, de hemácias e outras células. A maior parte da glicose sintetizada destina-se ao cérebro.

## 14.2 Reações da gliconeogênese

### A gliconeogênese utiliza as reações reversíveis da glicólise e substitui por outras as reações irreversíveis

A transformação de alanina e lactato em glicose inicia-se por sua conversão a piruvato, por ação, respectivamente, da *alanina aminotransferase* (Seção 17.2.1) e da lactato desidrogenase (Seção 9.2.1). A glutamina é inicialmente convertida em  $\alpha$ -cetoglutarato por meio das reações catalisadas por *glutaminase* e *glutamato desidrogenase*; a *aspartato aminotransferase* transforma  $\alpha$ -cetoglutarato em oxaloacetato (Seção 17.2.1).

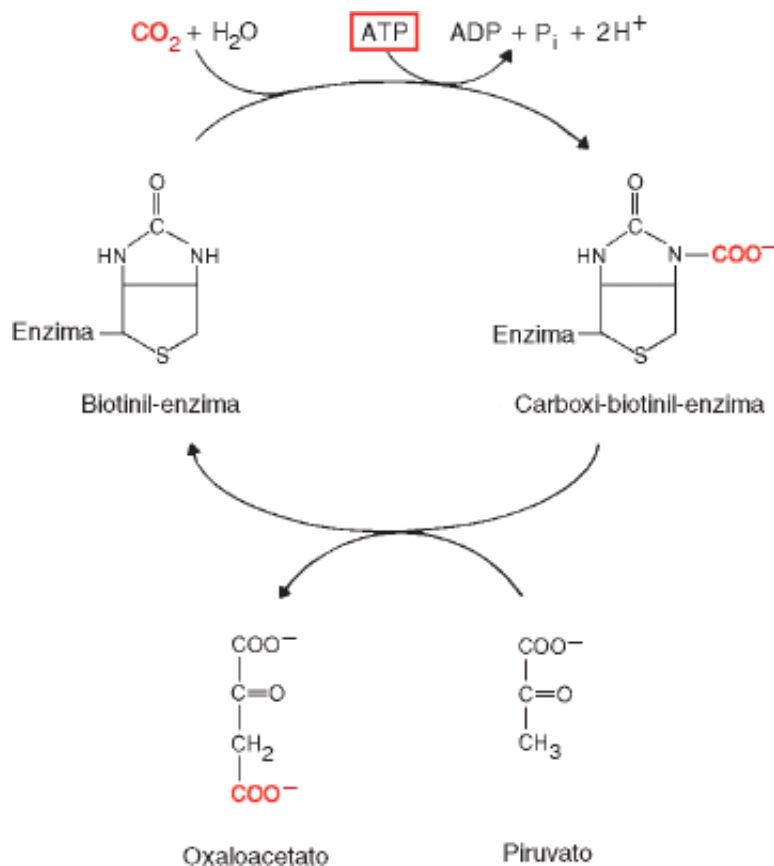
A conversão de piruvato em glicose pela gliconeogênese processa-se no sentido oposto ao da glicólise (Figura 9.5, Seção 9.2), utilizando quase todas as suas enzimas, com exceção daquelas que catalisam reações irreversíveis: piruvato quinase, fosfofrutoquinase 1 e glicoquinase. Estas reações são substituídas por **outras** reações, catalisadas, naturalmente, por **outras** enzimas. As três etapas em que a gliconeogênese difere da glicólise são analisadas a seguir.

**Etapa 1.** Conversão de piruvato a fosfoenolpiruvato.

A reação catalisada pela *piruvato quinase* ( $\text{Fosfoenolpiruvato} + \text{ADP} \rightarrow \text{Piruvato} + \text{ATP}$ )  $\rightarrow$  substituída por duas reações, catalisadas pela *piruvato carboxilase* (1) e pela *fosfoenolpiruvato carboxiquinase* (2):

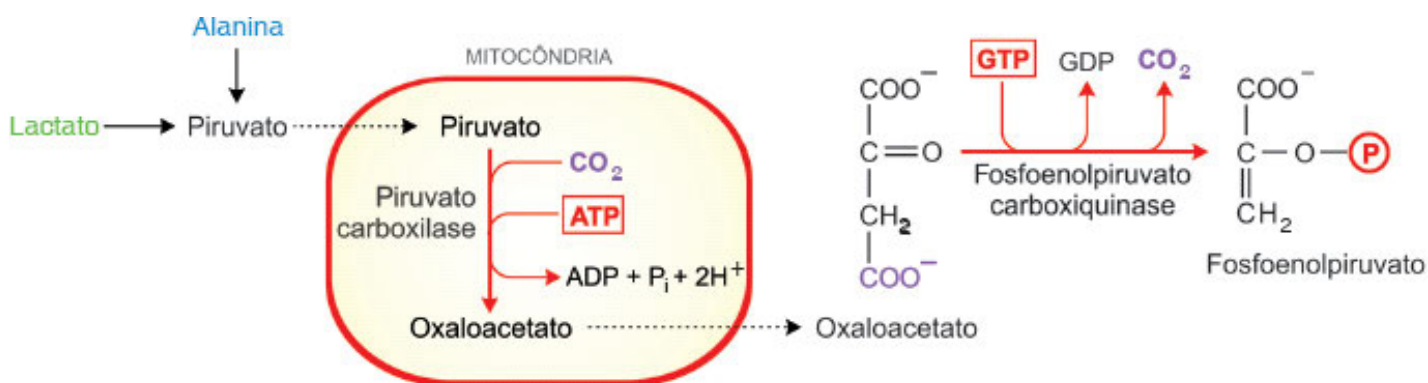


Para ser utilizado como substrato da piruvato carboxilase, uma enzima mitocondrial, o piruvato produzido no citosol entra na mitocôndria por ação da piruvato translocase. A piruvato carboxilase contém *biotina* (vitamina B<sub>7</sub>), como grupo prostético. A biotina combina-se com CO<sub>2</sub> à custa de ATP e promove a carboxilação do piruvato, produzindo oxaloacetato (Figura 14.2).



**Figura 14.2** Carboxilação de piruvato formando oxaloacetato: o ATP é consumido na carboxilação da biotina, que transfere o grupo  $\text{COO}^-$  para o piruvato.

O oxaloacetato passa para o citosol pela lançadeira do malato-aspartato e, por ação da fosfoenolpiruvato carboxiquinase, é convertido a fosfoenolpiruvato, por descarboxilação e fosforilação à custa de GTP (Figura 14.3). Em alguns organismos, como os seres humanos, a fosfoenolpiruvato carboxiquinase localiza-se também na mitocôndria — o fosfoenolpiruvato formado na organela é transportado para o citosol pela tricarboxilato translocase (Seção 11.9).



**Figura 14.3** A conversão de piruvato a fosfoenolpiruvato compreende o transporte de piruvato para a mitocôndria, sua carboxilação a oxaloacetato, a transferência de oxaloacetato para o citosol e a transformação deste composto em fosfoenolpiruvato. As setas tracejadas indicam transporte por translocases.

O fosfoenolpiruvato produzido nesta etapa é transformado em **frutose 1,6-bisfosfato** pelas enzimas que também compõem a glicólise, que, como catalisam reações reversíveis, podem operar a via no sentido inverso.

**Etapa 2.** Conversão de frutose 1,6-bisfosfato a frutose 6-fosfato.

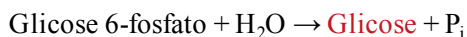
Em substituição à reação irreversível catalisada pela fosfofrutoquinase 1, ocorre uma reação de hidrólise do grupo fosfato do carbono 1, catalisada pela *frutose 1,6-bisfosfatase*.



A frutose 6-fosfato pode ser isomerizada a **glicose 6-fosfato** pela fosfoglicoisomerase.

**Etapa 3.** Conversão de glicose 6-fosfato a glicose.

Para contornar a irreversibilidade da reação catalisada pela glicocquinase, esta reação é trocada pela hidrólise do grupo fosfato ligado ao carbono 6, catalisada pela *glicose 6-fosfatase*.

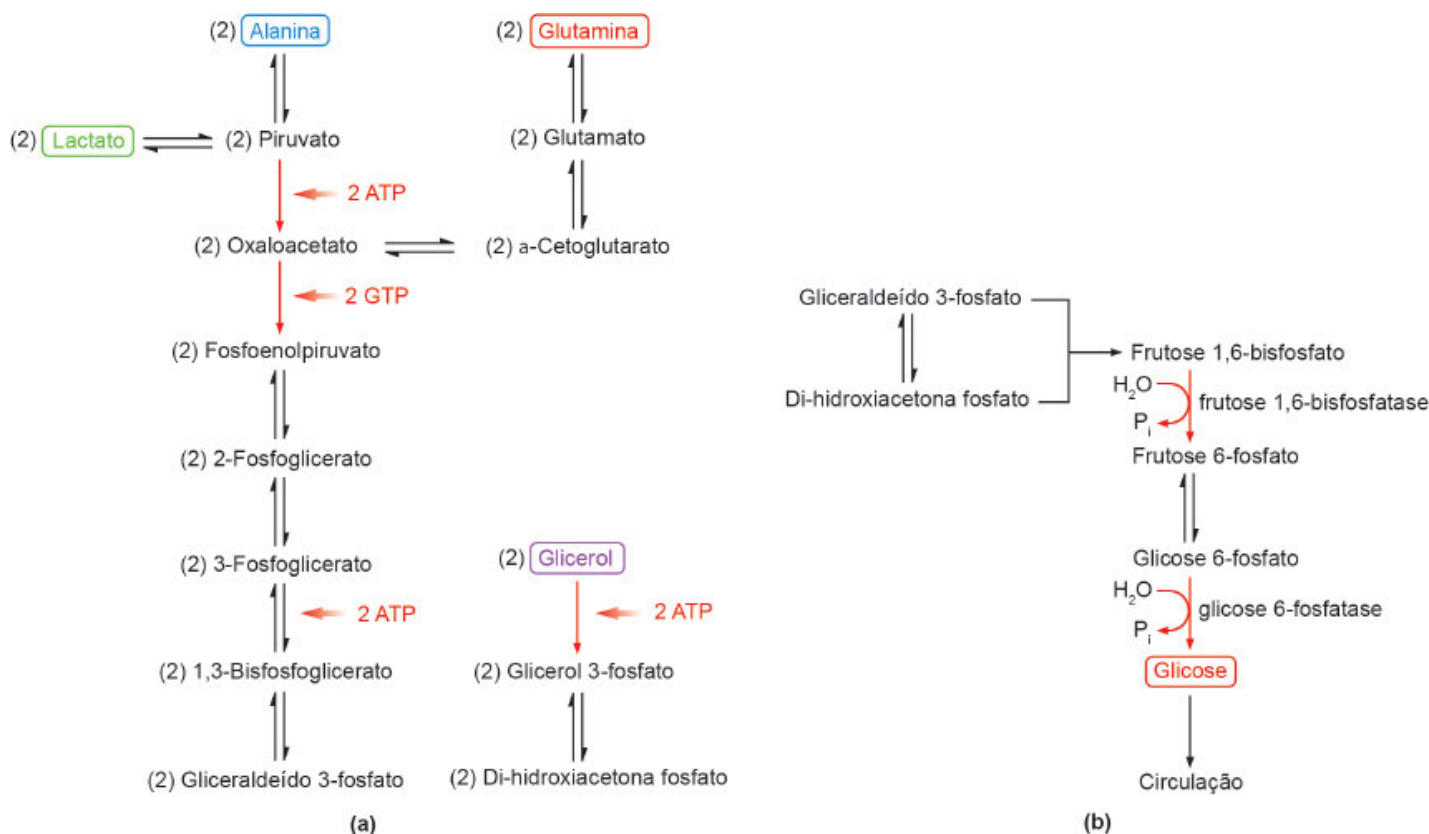


A glicose, diferentemente da glicose fosforilada, pode ser transportada através da membrana plasmática (Seção 19.6.3) e ser liberada na circulação.

A glicose 6-fosfatase tem papel primordial na manutenção da glicemia por catalisar a etapa final comum à degradação do glicogênio hepático (Seção 13.1) e à gliconeogênese. A enzima ocorre principalmente em fígado e rins, que podem exportar glicose e corrigir a glicemia.

O glicerol, para ser usado como composto gliconeogênico, é fosforilado a glicerol 3-fosfato, que é oxidado a di-hidroxiacetona fosfato (Seção 16.1). Este é um composto da via glicolítica e pode prosseguir em direção à glicose pelas reações da glicólise e as substitutivas (frutose 1,6-bisfosfatase e glicose 6-fosfatase).

A Figura 14.4 apresenta um esquema geral da gliconeogênese.

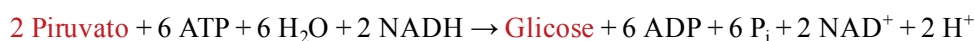


**Figura 14.4** Gliconeogênese. a) Conversão dos precursores de glicose — alanina, glutamina, lactato e glicerol — em intermediários da via. b) As trioses fosforiladas, originadas dos compostos gliconeogênicos, se interconvertem e se condensam, formando frutose 1,6-bisfosfato; o açúcar bisfosforilado se converte em glicose, que pode ser exportada.

### 14.3 Balanço energético da gliconeogênese

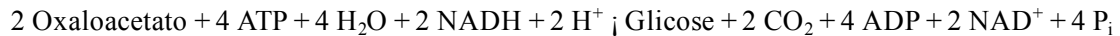
A gliconeogênese é uma via de síntese, pois produz um composto de seis carbonos, a glicose, a partir de precursores de três carbonos, a alanina, o lactato e o glicerol, ou de cinco carbonos, a glutamina. Como todas as sínteses, é um processo que consome energia, sob a forma de ATP. Nos casos de alanina e lactato, para cada molécula de glicose formada a partir de duas moléculas de piruvato são necessários 6 ATP, utilizados nas reações catalisadas por piruvato carboxilase, fosfoenolpiruvato carboxiquinase (que, na verdade, usa GTP, mas para o balanço energético pode ser contabilizado como ATP) e fosfoglicerato quinase (Figura 14.4).

A equação geral da gliconeogênese a partir de alanina é:



A equação a partir de glutamina é:

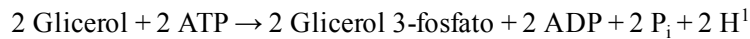
2 Glutamina → 2 Oxaloacetato (Seção 17.2.1).



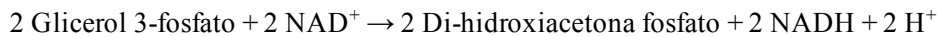
Se o composto inicial for o lactato, a equação transforma-se em:



No caso do glicerol, a síntese de uma molécula de glicose consome apenas 2 ATP na reação catalisada pela glicerol quinase:

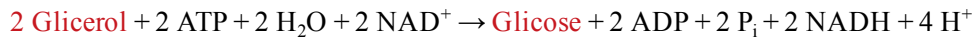


O glicerol 3-fosfato é substrato da glicerol 3-fosfato desidrogenase, convertendo-se em di-hidroxiacetona fosfato:



A di-hidroxiacetona fosfato transforma-se em glicose pelas reações reversíveis da glicólise e pelas reações da frutose 1,6-bisfosfatase e glicose 6-fosfatase.

A equação geral da gliconeogênese a partir de glicerol é:



Para fornecer glicose aos tecidos que dela dependem, o fígado e os rins têm um gasto adicional de ATP, além daquele necessário à sua manutenção. Nas condições em que a gliconeogênese está ativada, a obtenção de ATP provém da oxidação de ácidos graxos.

## 14.4 Degradação de proteínas e gliconeogênese

### A degradação de proteínas é um processo normal

A utilização de aminoácidos para a gliconeogênese não é um processo excepcional, que ocorra em condições extremas, mas uma via metabólica habitual que opera quotidianamente, contribuindo para a manutenção da glicemia durante o jejum noturno. Não é, portanto, verdadeira a ideia difundida que a degradação de proteínas com finalidade de obter energia só se processa quando estão esgotadas as reservas de carboidratos e de lipídios do organismo — a degradação dos três tipos de macronutrientes é acionada simultaneamente, induzida por glucagon. Nem poderia ser diferente, uma vez que a reserva de carboidratos é pequena e *os mamíferos não dispõem de vias capazes de transformar os ácidos graxos, principais constituintes da reserva lipídica, em glicose.*

A síntese de glicose à custa de aminoácidos significa uma diminuição da capacidade de reposição de proteínas. Ou seja, os períodos de jejum correspondem a perda de proteínas. No organismo humano, não há reserva de proteínas: todas as proteínas são funcionais e a diminuição de sua concentração traz prejuízos. Do ponto de vista quantitativo, os aminoácidos utilizados pela gliconeogênese são provenientes dos músculos, onde está a maior parte das proteínas corpóreas. Entretanto, a meia-vida de enzimas é muito menor do que a de proteínas estruturais e sua degradação provê aminoácidos para a gliconeogênese mais precocemente. Qualitativamente, a diminuição da concentração de enzimas é mais importante porque afeta todo o metabolismo.

Os ácidos graxos habitualmente presentes nos alimentos e nas reservas lipídicas são moléculas lineares e de número par de átomos de carbono. Na sua degradação, esta grande maioria de ácidos graxos são convertidos a acetil-CoA e *não há vias de conversão de acetil-CoA a glicose nos mamíferos.* Os ácidos graxos de número ímpar de carbonos ou contendo ramificações na sua cadeia originam, quando oxidados, além de acetil-CoA, propionil-CoA (Seção 16.2.2); este composto pode ser transformado em succinil-CoA, um intermediário do ciclo de Krebs, que pode gerar glicose. A contribuição desses ácidos graxos para a gliconeogênese, no entanto, é *bastante pequena*, pela sua pouca representatividade nas dietas e, principalmente, por não serem armazenados como tal pelos mamíferos. Vegetais e bactérias são capazes de sintetizar glicose a partir de ácidos graxos, por possuírem as enzimas do ciclo do glioxilato (Seção 10.3), *ausente nos mamíferos.*

Assim, o catabolismo de proteínas e a utilização de seus aminoácidos para a gliconeogênese é um processo fisiológico normal, acionado precocemente, antes mesmo que a reserva hepática de glicogênio tome-se insuficiente para a manutenção da glicemia.

A glicólise e a gliconeogênese são vias praticamente opostas, compartilhando a maioria de suas enzimas. Para que haja um ganho líquido é, portanto, imprescindível que uma das vias funcione enquanto a outra está inativa.



*As atividades destas duas vias são inversamente reguladas, como é analisado na Seção 20.2.*

## Bibliografia

Boden GJ: Gluconeogenesis and glycogenolysis in health and diabetes. *Investig Med* **52** (6): 375-378, 2004.

Gerich JE: Role of the kidney in normal glucose homeostasis and in the hyperglycaemia of diabetes mellitus: therapeutic implications. *Diabet Med* **27**(2): 136-142, 2010.

Marcolongo P *et al.*: Multiple roles of glucose-6-phosphatases in pathophysiology: state of the art and future trends. *Biochim Biophys Acta* **1830** (3): 2608-18, 2013.

Sprague JE, Arbeláez AM: Glucose counterregulatory responses to hypoglycemia. *Pediatr Endocrinol Rev* **9** (1): 463-473, 2011.

---

<sup>1</sup>Deve-se ressaltar a atuação distinta de dois componentes do rim: a *medula renal* consome glicose, que é oxidada a lactato pela glicólise, e o *córtex renal* produz glicose: os túbulos proximais, localizados no córtex, são a única porção do rim que contém as enzimas da gliconeogênese.



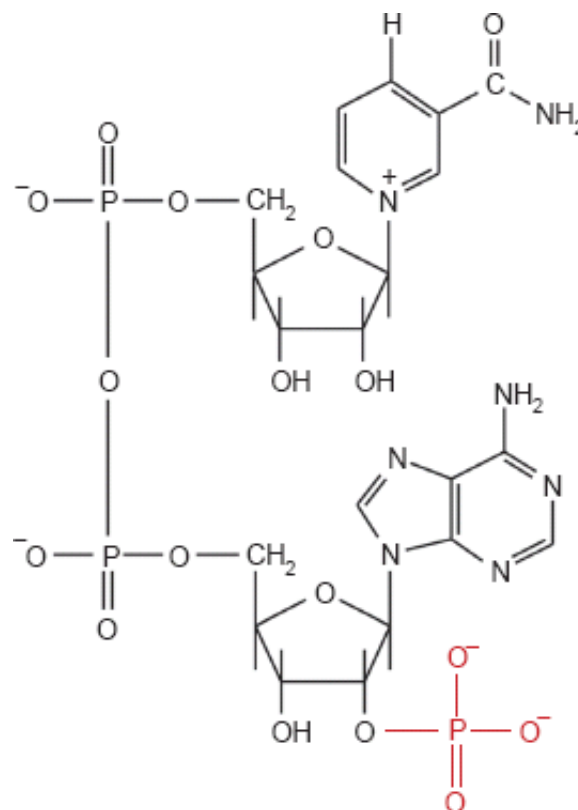
# 12 Metabolismo de Carboidratos: Via das Pentoses Fosfato

## 12.1 Funções da via das pentoses fosfato

A via das pentoses fosfato é uma via alternativa de oxidação de glicose, que leva à produção de dois compostos importantes: *ribose 5-fosfato* e a forma reduzida da *nicotinamida adenina dinucleotídio fosfato* (*NADPH*) (Figura 12.1), uma coenzima com estrutura semelhante à do *NADH*. A *ribose 5-fosfato* é a pentose constituinte dos nucleotídeos que compõem os ácidos nucleicos e várias coenzimas ( $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADP}^+$ , *FAD*, *FMN*, coenzima A, *ATP*, *GTP* etc.). O *NADPH* atua como coenzima doadora de hidrogênio em sínteses redutoras de ácidos graxos e de esteroides e reações de proteção contra agentes oxidantes e infecções bacterianas. São ainda produzidos nesta via outros açúcares fosforilados, com número variável de átomos de carbono.

Em vias degradativas, como glicólise, ciclo de Krebs, ciclo de Lynen etc., o substrato é oxidado, gerando coenzimas reduzidas — *NADH* e *FADH<sub>2</sub>* —, a partir de cuja oxidação se produz *ATP*. Na síntese de muitos compostos, ocorre o inverso: há consumo de *ATP* e redução do substrato por coenzimas reduzidas. A coenzima utilizada em tais reduções é o *NADPH*, que passa à forma *NADP<sup>+</sup>*; a volta à forma reduzida é cumprida pela via das pentoses fosfato e por algumas outras reações (Seções 10.1 e 16.5). As duas coenzimas — *NAD<sup>+</sup>* e *NADPH* — têm, então, papéis metabólicos opostos: a primeira é utilizada quando um substrato está sendo oxidado e a segunda, quando um substrato está sendo reduzido. Também são diferentes os processos de regeneração das duas coenzimas: o *NADH* produzido no metabolismo degradativo é oxidado na cadeia de transporte de elétrons; o *NADPH* não é substrato da cadeia de transporte de elétrons e sua oxidação é feita nas vias de sínteses e outras reações redutoras.

Na via das pentoses fosfato, a energia derivada da oxidação da glicose é exclusivamente armazenada sob a forma de poder redutor (*NADPH*) e não de *NADH* e *ATP*, como na glicólise.

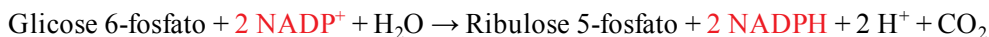


**Figura 12.1** Forma oxidada da nicotinamida adenina dinucleotídio fosfato (*NADP<sup>+</sup>*). Este dinucleotídio difere do *NAD<sup>+</sup>* (Figura 9.2) apenas pela presença de um grupo fosfato (em vermelho) esterificado ao carbono 2 da ribose do nucleotídeo de adenina.

## 12.2 Etapas da via das pentoses fosfato

**A via das pentoses fosfato consta de uma parte oxidativa, que produz NADPH, e de uma parte não oxidativa, que interconverte açúcares fosforilados**

Na porção inicial, *oxidativa*, da via das pentoses fosfato (Figura 12.2), a glicose 6-fosfato sofre descarboxilação, originando uma pentose fosfato, a ribulose 5-fosfato, e NADPH. Esta transformação ocorre por meio de duas reações de oxidação catalisadas por *desidrogenases* específicas para NADP<sup>+</sup>, intercaladas por uma reação de hidrólise. A equação geral desta etapa é:



A etapa oxidativa ocorre no sentido da conversão de NADP<sup>+</sup> a NADPH graças à irreversibilidade da reação catalisada pela *lactonase*.

A etapa subsequente, *não oxidativa*, constitui um sistema de rearranjos moleculares, que forma açúcares fosforilados com 3, 4, 5, 6 ou 7 átomos de carbono. A ribulose 5-fosfato é transformada em ribose 5-fosfato ou xilulose 5-fosfato, por ação de uma *isomerase* ou de uma *epimerase*, respectivamente. Estas pentoses sofrem, a seguir, uma série de conversões, catalisadas por dois tipos de enzimas: *transcetolases*, que transferem grupos de dois carbonos e têm tiamina pirofosfato (TPP) como grupo prostético, e *transaldolases*, que transferem grupos de três carbonos. Nos dois casos, a transferência é feita de uma cetose para uma aldose. Todas as reações da etapa não oxidativa são reversíveis, permitindo a livre interconversão de açúcares.

A via das pentoses fosfato e a glicólise, apesar de terem funções tão diferentes, são intimamente relacionadas, já que ambas ocorrem no citosol e apresentam compostos intermediários comuns: glicose 6-fosfato, frutose 6-fosfato e gliceraldeído 3-fosfato. O compartilhamento de compostos e a reversibilidade das reações da etapa não oxidativa da via das pentoses fosfato tornam possível canalizar os açúcares fosforilados desta via para a glicólise ou vice-versa. Adicionalmente, as duas etapas, oxidativa e não oxidativa, podem ser acionadas em separado — o caminho a ser seguido pela glicose 6-fosfato na via das pentoses fosfato é determinado, principalmente, pelas demandas celulares de NADPH ou ribose 5-fosfato.

 **A regulação da via das pentoses fosfato está descrita na Seção 20.3.**

A via das pentoses é amplamente distribuída pelos tecidos; as reações que compõem a parte oxidativa são sobretudo ativas em tecidos engajados nas sínteses de ácidos graxos, colesterol e hormônios esteroides, que utilizam NADPH como agente redutor. Estas sínteses (Capítulo 16) acontecem principalmente no fígado, tecido adiposo, glândulas mamárias, córtex da suprarrenal, ovários e testículos; no fígado, 20 a 30% da oxidação de glicose são feitos pela via das pentoses fosfato.

## 12.3 Funções adicionais do NADPH

Em diversas reações oxidativas do metabolismo, são produzidas espécies reativas de oxigênio (ROS, de *Reactive Oxygen Species*), devido à redução parcial do oxigênio molecular; são também resultantes da ingestão de substâncias exógenas (drogas, medicamentos). Estas espécies radicalares reagem praticamente com qualquer composto, as macromoléculas inclusive, causando alterações estruturais irreversíveis. Os organismos dispõem de sistemas enzimáticos (superóxido dismutase e catalase) e não enzimáticos (vitaminas antioxidantes) capazes de dissipar os radicais livres (Seção 11.2.1). O NADPH constitui uma reserva importante de poder redutor, imprescindível não só para as sínteses redutivas, mas também para os mecanismos celulares que previnem o estresse oxidativo. Nesses processos antioxidantes, o NADPH atua em associação com o tripeptídeo *glutaciona* ( $\gamma$ -glutamilcisteinilglicina) (Figura 12.3).

A estrutura nativa de muitas proteínas depende de grupos sulfidrila de resíduos de cisteína; as espécies reativas de oxigênio podem provocar a oxidação dos grupos SH a dissulfeto (– S – S –). A glutaciona participa da redução das pontes dissulfeto, que são reconvertidas a grupos SH. Neste processo redutor, catalisado por enzimas da família das *proteína dissulfeto redutases* (PDR), os grupos SH de duas moléculas de glutaciona (GSH) são oxidados, passando a constituir o grupo S – S da glutaciona dissulfeto (GSSG). A restauração da forma SH da glutaciona (Figura 12.4) é obtida por reação com NADPH, a coenzima da *glutaciona redutase* (GR).

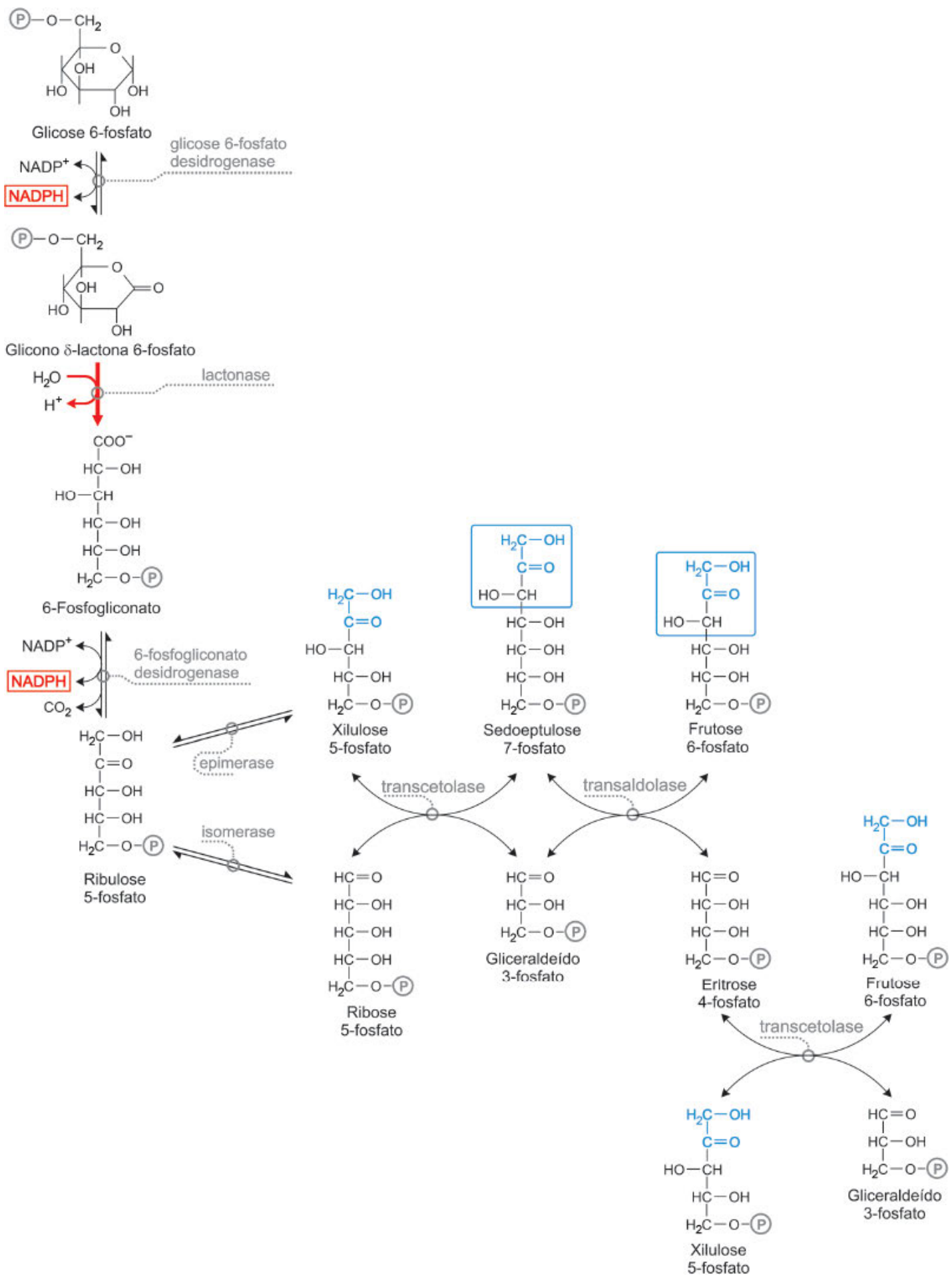
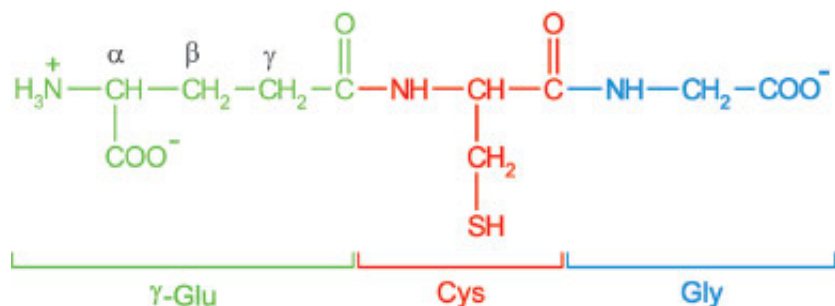
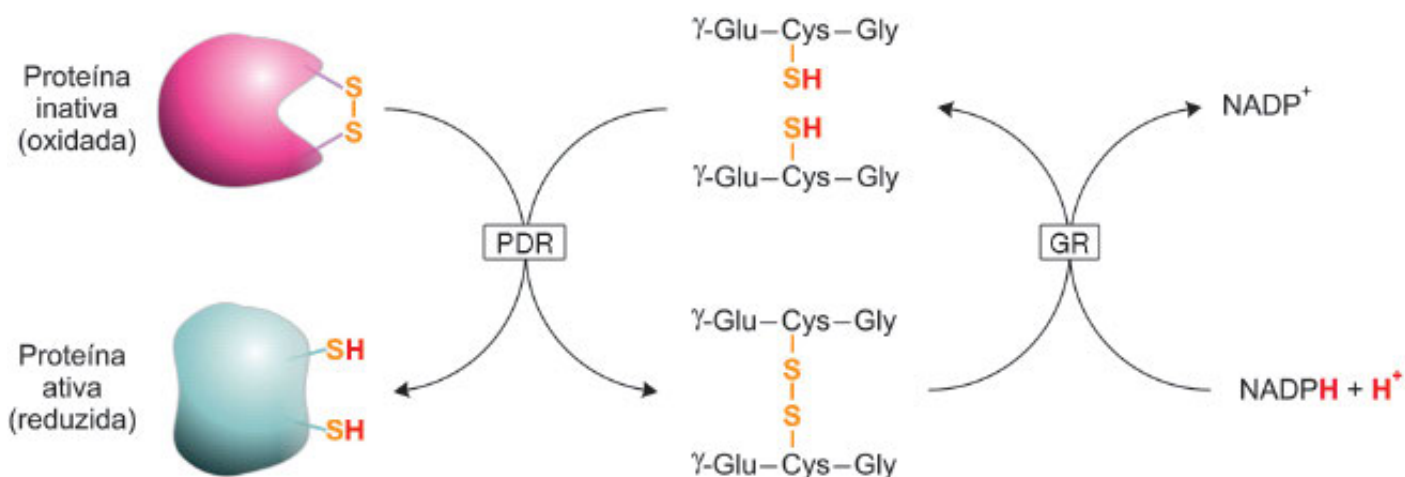


Figura 12.2 Via das pentoses fosfato.



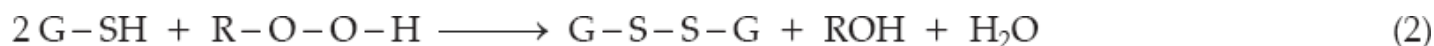
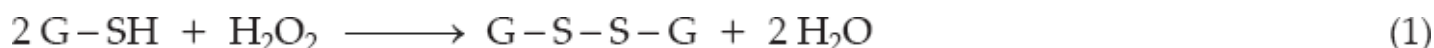
**Figura 12.3** Estrutura da glutationa, um tripeptídeo formado por glutamato (Glu), cisteína (Cys) e glicina (Gly). A ligação peptídica entre Glu e Cys é exótica, porque envolve a  $\gamma$ -carboxila do glutamato.



**Figura 12.4** Participação da glutationa ( $\gamma$ -Glu-Cys-Gly) na regeneração de grupos SH. No exemplo, a proteína com grupos sulfidríla de resíduos de cisteína oxidados (-S-S-) é inativa. A forma ativa (grupos SH) é recuperada por reação da forma oxidada com duas moléculas de glutationa (G-SH), que se convertem a glutationa dissulfeto (G-S-S-G), por ação de proteína dissulfeto redutases (PDR). A regeneração da forma reduzida da glutationa é obtida por reação com NADPH, a coenzima da glutationa redutase (GR).

As hemácias são células particularmente sensíveis ao dano oxidativo, por disporem de um leque de vias metabólicas muito restrito, sendo incapazes de repor macromoléculas danificadas. A exposição a concentrações aumentadas de espécies reativas de oxigênio provoca, além da oxidação de grupos sulfidríla (SH) de proteínas, a peroxidação de lipídios e a oxidação do íon ferroso da hemoglobina.

A peroxidação de fosfolipídios componentes da membrana plasmática ocasiona a ruptura da estrutura da membrana, provocando lise da hemácia. Os peróxidos —  $\text{H}_2\text{O}_2$  ou peróxidos orgânicos ( $\text{RO}_2\text{H}$ ) — são reduzidos (reações 1 e 2, respectivamente) pela glutationa por ação da *glutaciona peroxidase*, uma enzima peculiar por conter selênio.



A glutaciona dissulfeto é reduzida por NADPH, na reação catalisada pela glutaciona redutase.

Em mamíferos, a glutaciona é um dos principais agentes redutores de dissulfetos e peróxidos; o NADPH reduz a glutaciona oxidada, sendo o redutor primário da glutaciona redutase e de outras enzimas que catabolizam ROS.

O NADPH contribui ainda para a manutenção do íon de ferro do grupo heme da hemoglobina no estado de oxidação  $2^+$ , tomando-a capaz de ligar-se com o oxigênio; a oxidação do íon ferroso a  $\text{Fe}^{3+}$  origina a meta-hemoglobina (Seção 3.5), que não transporta oxigênio. A conversão de meta-hemoglobina em oxi-hemoglobina é catalisada por duas *redutases* presentes nas hemácias: uma NADH dependente (*NADH-MetHb redutase* ou *citocromos  $b_5$  redutase*) e outra NADPH dependente (*NADPH-MetHb redutase*).

O NADPH, além de atuar nas reações de proteção contra agentes oxidantes, participa de um processo que gera ROS (*respiratory burst*): é a coenzima das NADPH oxidases (Seção 11.2.1) de leucócitos que catalisam a produção de radical superóxido e água oxigenada, que eliminam as bactérias fagocitadas.

## 12.4 Deficiência genética de glicose 6-fosfato desidrogenase

**A deficiência de glicose 6-fosfato desidrogenase pode ser vantajosa**

A deficiência hereditária de uma enzima geralmente provoca uma moléstia. Todavia, em alguns casos, genes defectivos trazem alguma vantagem seletiva, como acontece com a anemia falciforme e as talassemias (Seção 3.5). Outro exemplo é a *deficiência da glicose 6-fosfato desidrogenase*, enzima que catalisa a primeira reação da via das pentoses fosfato. Essa reação produz NADPH, essencial para prevenir o dano oxidativo em hemácias. A falta parcial da enzima pode ser benéfica, embora em circunstâncias muito definidas e restritas — a distribuição geográfica dos 400 milhões de portadores desta carência enzimática correlaciona-se com regiões onde a malária é moléstia endêmica. A frequência de portadores em algumas dessas regiões chega a 25%, mostrando que o gene mutante confere alguma proteção contra o *Plasmodium falciparum*, a principal espécie causadora da malária. Como este protozoário cumpre parte de seu ciclo vital nas hemácias, é provável que hemácias com baixa concentração de NADPH constituam um ambiente inóspito para o seu crescimento. A contrapartida do efeito protetor (redução do risco de contrair malária grave) do defeito genético é uma suscetibilidade aumentada ao estresse oxidativo.

Estão descritas numerosas mutações no gene de glicose 6-fosfato desidrogenase, que resultam em redução de 3 a 30% da atividade normal da enzima nas hemácias. A atividade residual é suficiente para que os portadores sejam assintomáticos. Entretanto, condições em que são geradas quantidades grandes de espécies reativas de oxigênio exigem também quantidades grandes de NADPH, que esses indivíduos são incapazes de produzir — instala-se, então um quadro de anemia hemolítica grave. Uma destas condições é a administração de antimalárico *primaquina*. Apesar de seu uso corrente desde a década de 1950, os mecanismos de sua atuação como antimalárico e do seu efeito hemolítico não são ainda totalmente compreendidos.

## Bibliografia

- Alexander-Kaufman K, Harper C: Transketolase: observations in alcohol-related brain damage research. *Int J Biochem Cell Biol* **41** (4): 717-20, 2009.
- Fan J *et al.*: Quantitative flux analysis reveals folate-dependent NADPH production. *Nature* **510** (7504): 298-302, 2014.
- Howes RE *et al.*: G6PD deficiency prevalence and estimates of affected populations in malaria endemic countries: a geostatistical model-based map. *PLoS Med* **9** (11): e1001339, 2012.
- Lillig CH, Berndt C: Cellular functions of glutathione. *Biochim Biophys Acta* **1830** (5): 3137-3138, 2013.
- Perl A *et al.*: Oxidative stress, inflammation and carcinogenesis are controlled through the pentose phosphate pathway by transaldolase. *Trends Mol Med* **17** (7): 395-403, 2011.
- Pybus BS *et al.*: CYP450 phenotyping and accurate mass identification of metabolites of the 8-aminoquinoline, anti-malarial drug primaquine. *Malar J* **11**: 259, 2012.

# 20 Regulação das Vias Metabólicas Principais

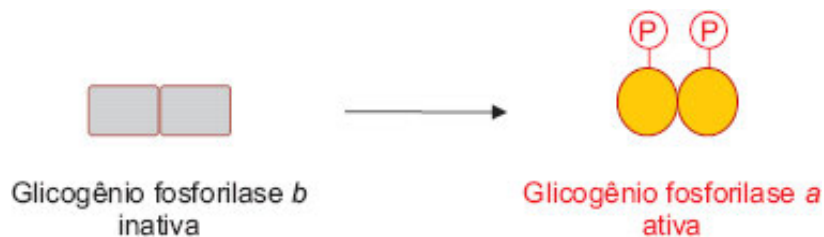
## 20.1 Regulação do metabolismo do glicogênio

A degradação e a síntese de glicogênio são efetuadas por vias distintas e, evidentemente, ativadas em situações fisiológicas opostas. As regulações alostérica e hormonal destas vias são coordenadas, de tal modo que a estimulação de uma delas ocorre simultaneamente com a inibição da outra. Os mecanismos de controle operantes em músculos esqueléticos de mamíferos serão descritos inicialmente e, a seguir, aqueles existentes no fígado.

### 20.1.1 Regulação da degradação do glicogênio muscular

#### Regulação por modificação covalente

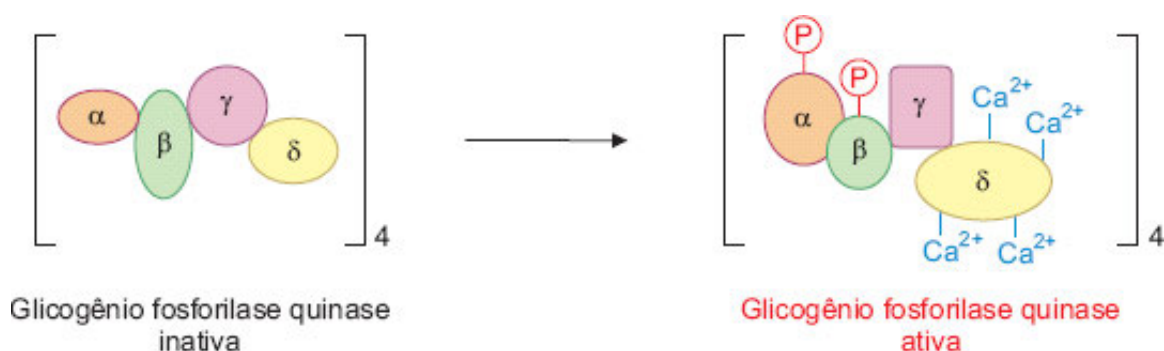
A *glicogênio fosforilase*, a enzima responsável pela glicogenólise, é um dímero e existe em duas formas: a forma *b* (inativa) e a forma *a* (ativa).



A ativação da enzima é obtida por fosforilação de um resíduo de serina de cada monômero da forma *b* (inativa), que se converte na forma *a* (ativa). A reação é catalisada pela glicogênio fosforilase quinase, que também existe em duas formas, uma inativa e outra ativa.

A *glicogênio fosforilase quinase* (ou *fosforilase quinase*) de músculos esqueléticos, é composta por quatro cadeias polipeptídicas diferentes, com a composição  $(\alpha \beta \gamma \delta)_4$ . A subunidade catalítica é  $\gamma$ ; as outras subunidades têm papel regulador da atividade da enzima. A fosforilase quinase pode ser ativada por dois processos distintos:

1. Fosforilação das cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  pela proteína quinase A (PKA), ativada por AMP cíclico (cAMP), produzido sob estímulo de adrenalina interagindo com receptores  $\beta$  (Seção 19.4.1).
2. Ligação da subunidade  $\delta$ , idêntica à calmodulina, a íons  $\text{Ca}^{2+}$ , liberados dos depósitos intracelulares para o citosol das fibras musculares durante a contração, em resposta a um estímulo nervoso.



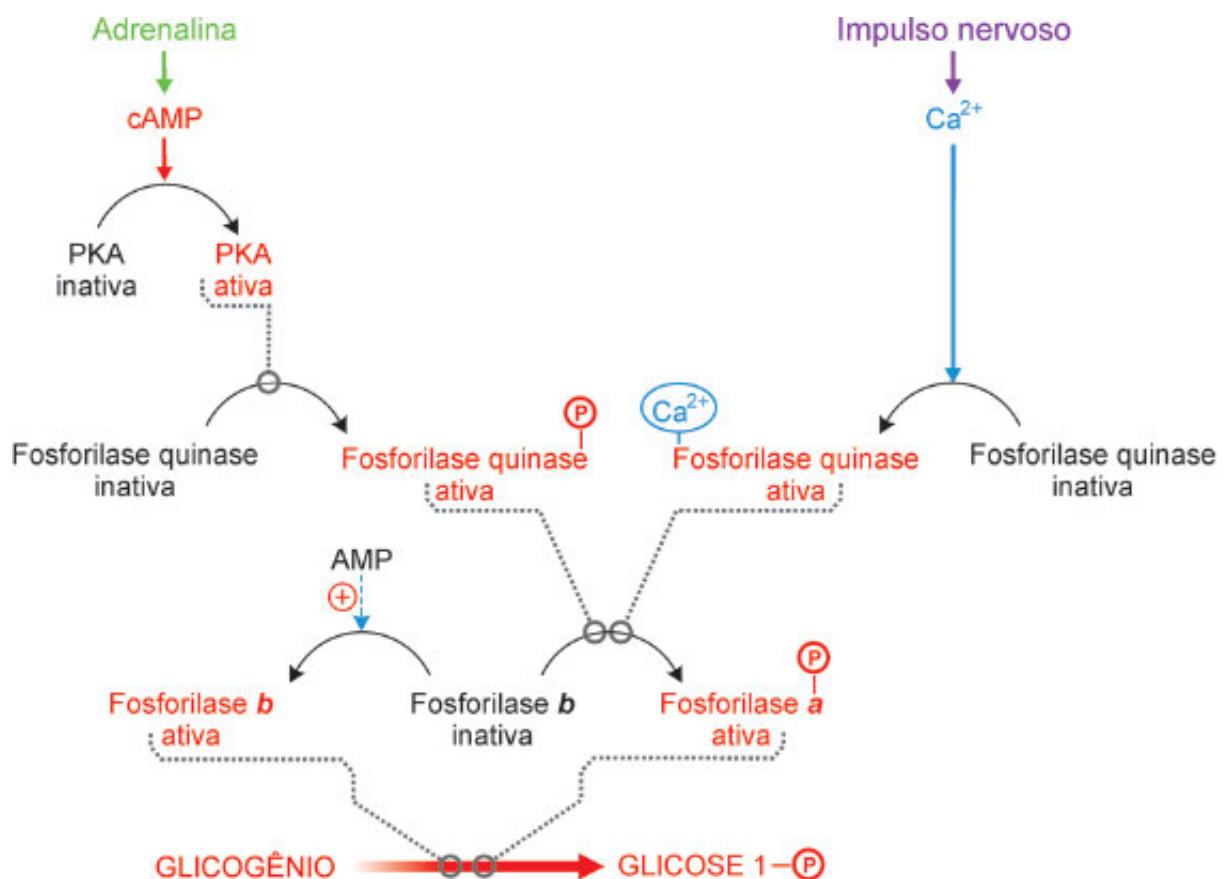


A atividade máxima da enzima é obtida com a configuração representada para a forma ativa no esquema anterior.

A degradação do glicogênio muscular pode, então, ser provocada em primeira instância, por estímulo hormonal ou nervoso. No primeiro caso, o mediador intracelular é cAMP e, no segundo caso, íons  $\text{Ca}^{2+}$ . O processo completo de ativação da glicogênio fosforilase resulta de uma sequência de ativações enzimáticas, conhecida como *cascata enzimática* (Figura 20.1). Revendo o processo em ordem cronológica de seus eventos, tem-se:

1. Ligação de adrenalina a receptores  $\beta$ .
2. Modificação da proteína G e troca de GDP por GTP (Figura 19.4 a).
3. Ativação da adenilato ciclase pela subunidade  $\alpha$  da proteína G, ligada a GTP.
4. Produção de cAMP pela adenilato ciclase.
5. Ligação de cAMP às subunidades reguladoras da PKA, liberando as subunidades catalíticas, ativas.
6. Fosforilação, e ativação, da glicogênio fosforilase quinase pela PKA.
7. Fosforilação da forma *b* da glicogênio fosforilase pela glicogênio fosforilase quinase, convertendo-a na forma *a*, ativa.
8. Degradação do glicogênio pela glicogênio fosforilase.

A cascata enzimática tem grande efeito amplificador, porque, iniciando-se com baixíssimas concentrações de hormônio, inclui ativações intermediárias de enzimas que catalisam, por sua vez, a ativação de outras enzimas: o estímulo hormonal é aumentado de muitas ordens de grandeza. Adicionalmente, o estímulo nervoso que causa o aumento da concentração sarcoplasmática de  $\text{Ca}^{2+}$  é quase sempre acompanhado da liberação de adrenalina — as estimulações sobre a degradação do glicogênio são convergentes, ainda mais porque, quando as subunidades  $\alpha$  e  $\beta$  estão fosforiladas, a afinidade da enzima por  $\text{Ca}^{2+}$  é maior, promovendo então sua conversão à forma de maior atividade possível.



**Figura 20.1** Cascata enzimática de ativação da degradação do glicogênio muscular, desencadeada por estímulo hormonal ou nervoso. A adrenalina induz aumento da concentração de cAMP, que estimula a proteína quinase A (PKA); o estímulo nervoso faz subir o teor citosólico de íons  $\text{Ca}^{2+}$ . A fosforilase quinase, uma vez ativada por fosforilação ou por ligação com íons  $\text{Ca}^{2+}$ , fosforila a fosforilase *b*, convertendo-a na forma ativa, a fosforilase *a*, que catalisa a glicogenólise. A mesma conversão resulta de ativação alostérica por AMP.  $\text{P}$  = grupo fosfato ( $\text{PO}_3^{2-}$ ).

### Regulação alostérica

A glicogênio fosforilase também é sensível à regulação por efetadores alostéricos: a forma *b*, encontrada no músculo em repouso, é fortemente estimulada por adenosina 5' -monofosfato (AMP) (Figura 20.1). A concentração celular de AMP

é habitualmente baixa, mas eleva-se durante a contração muscular, cujo grande dispêndio energético é suprido pela conversão de ATP em ADP. À medida que cresce a concentração de ADP, o equilíbrio da reação catalisada pela *adenilato quinase* (ou *mioquinase*)



favorece a formação de ATP, fornecendo energia adicional para o trabalho muscular, e faz aumentar a concentração de AMP. A ligação de AMP à forma *b* da glicogênio fosforilase torna-a ativa, intensificando a degradação do glicogênio. Com efeito, alguns músculos são capazes de mobilizar glicogênio, sem conversão detectável de fosforilase *b* em *a*.

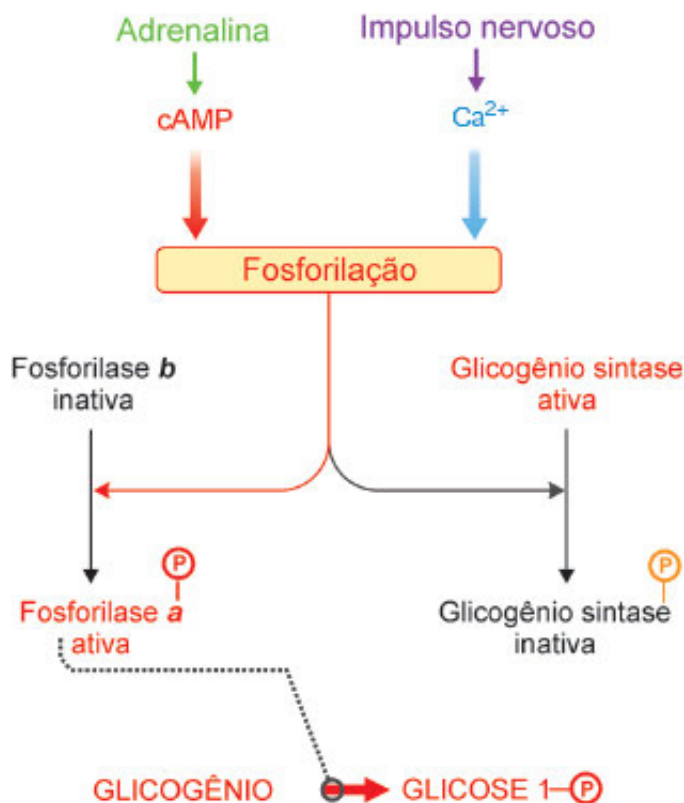
Embora a regulação da glicogênio fosforilase por modificação covalente seja a mais importante e de resultados mais radicais, o conjunto das duas regulações converge todas as formas da enzima para as formas ativas.

A degradação do glicogênio libera glicose 1-fosfato<sup>1</sup>, que, isomerizada a glicose 6-fosfato, é metabolizada nas células musculares pela via glicolítica que também está estimulada. A contração muscular, por períodos curtos, é sustentada pelo ATP produzido na glicólise. É importante lembrar que a glicose proveniente da glicogenólise muscular destina-se *sempre* a uso interno, ao contrário do que acontece no fígado.

## 20.1.2 Regulação da síntese do glicogênio muscular

### cAMP e Ca<sup>2+</sup> estimulam a degradação e inibem a síntese do glicogênio muscular

Quando a degradação de glicogênio está estimulada, a síntese está inibida. Esta regulação oposta e simultânea acontece porque (1) a enzima que catalisa a glicogenólise (glicogênio fosforilase) é *ativa* na forma fosforilada, ao passo que a enzima que catalisa a glicogênese (glicogênio sintase) é *inativa* na forma fosforilada e (2) as duas enzimas são substratos da mesma cascata enzimática que determina a fosforilação de proteínas. A adrenalina, portanto, determina o estímulo da degradação e a inibição da síntese de glicogênio muscular; estes mesmos efeitos são desencadeados por íons Ca<sup>2+</sup>, liberados em resposta a estímulos nervosos (Figura 20.2).



**Figura 20.2** Esquema resumindo os eventos de fosforilação provocados por adrenalina e estímulo nervoso que acarretam o estímulo da degradação e a inibição da síntese do glicogênio muscular.

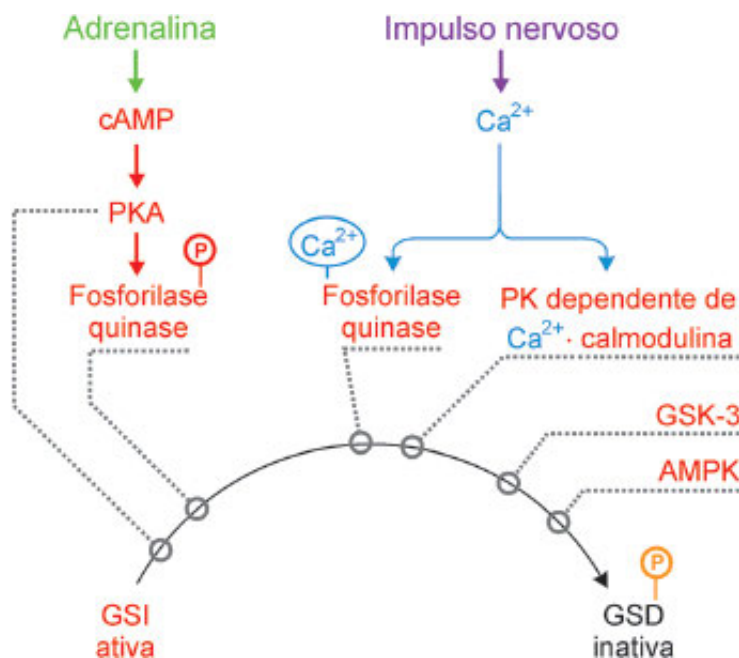
A regulação da síntese de glicogênio é mais complexa e menos conhecida do que a regulação da degradação. A forma fosforilada e inativa da glicogênio sintase é chamada de *glicogênio sintase b* (*GS b*) ou *glicogênio sintase D* (*GSD*), por ser *d*ependente de glicose 6-fosfato como efetuator alostérico positivo; a forma desfosforilada e ativa é a *glicogênio sintase a* (*GS a*) ou *glicogênio sintase I* (*GSI*), por ser *i*ndependente de glicose 6-fosfato. Como acontece com a glicogênio fosforilase, a regulação da glicogênio sintase por modificação covalente é a mais importante, mas a regulação alostérica pode ser significativa em algumas situações. Por exemplo, quando a fosfofrutoquinase 1 está inibida (Seção 20.2), há



acúmulo de glicose 6-fosfato que ativa a GSD, promovendo a síntese de glicogênio.

A glicogênio sintase de músculos pode ser fosforilada em nove resíduos de serina, pela ação de onze proteína quinases. Neste aspecto, difere da glicogênio fosforilase que é regulada pela fosforilação de um único resíduo de serina e catalisada por uma única enzima, a fosforilase quinase.

A inativação da glicogênio sintase, por conversão da forma GSI em GSD, é acionada pelos mesmos sinais, hormonal e nervoso, que causam a estimulação da glicogenólise (Figura 20.3). Neste caso, além das proteína quinases da cascata da degradação do glicogênio — PKA e fosforilase quinase —, são consideradas importantes a glicogênio sintase quinase-3 (GSK-3), a proteína quinase dependente de  $\text{Ca}^{2+}$  · calmodulina e a proteína quinase dependente de AMP (AMPK).



**Figura 20.3** Cascata enzimática de inibição da síntese de glicogênio muscular. A conversão da forma ativa, GSI, na inativa, GSD, é promovida pela PKA e pela fosforilase quinase, como na glicogenólise, e também pela proteína quinase dependente de  $\text{Ca}^{2+}$  · calmodulina, glicogênio sintase quinase-3 (GSK-3) e proteína quinase dependente de AMP (AMPK). As formas ativas das enzimas estão representadas em vermelho.

### A síntese de glicogênio muscular ocorre quando as enzimas são desfosforiladas

Cessado o estímulo por adrenalina, seus efeitos metabólicos desaparecem graças à ação coordenada de um conjunto de enzimas. O quadro vigente, e que deve ser revertido para que a célula volte à situação de repouso e esteja preparada para a síntese de glicogênio, caracteriza-se por:

1. Adenilato ciclase ativada.
2. Concentração de cAMP alta.
3. Proteína quinase dependente de cAMP (PKA) ativa.
4. Enzimas da glicogenólise fosforiladas pela PKA e estimuladas; glicogênio sintase fosforilada, porém inibida, devido à ação das diversas proteína quinases citadas.

Os eventos que ocorrem para reverter cada uma destas condições são os seguintes:

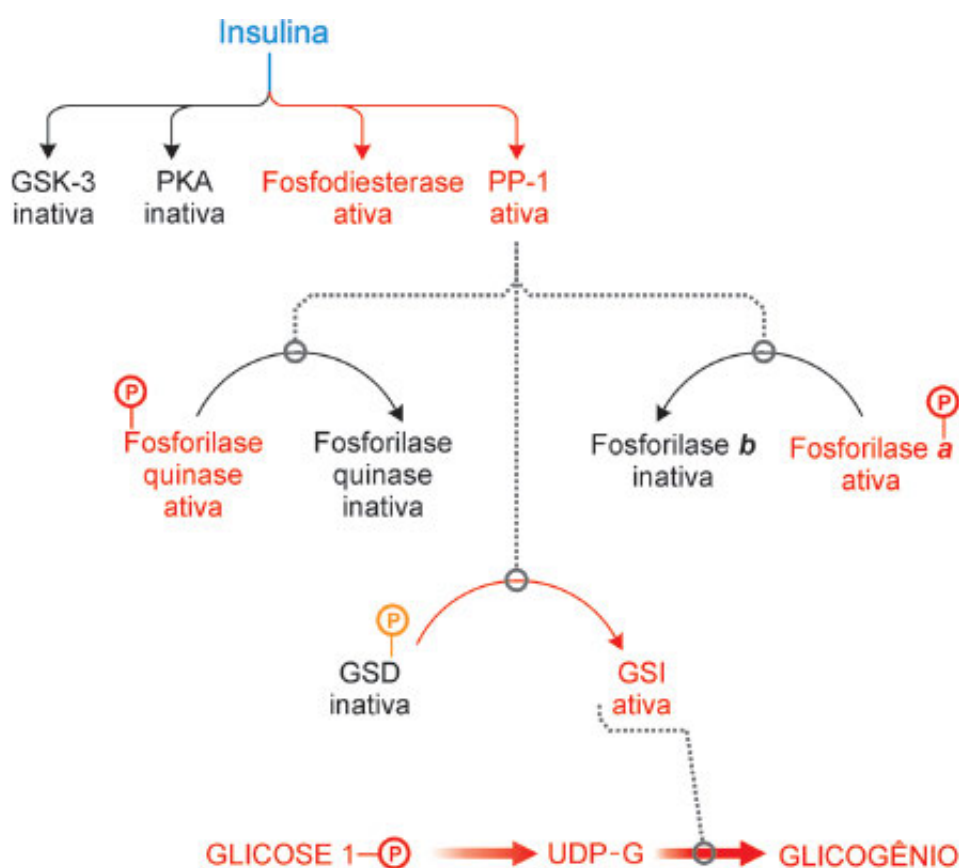
1. Graças à atividade GTPásica da subunidade  $\alpha$  da proteína G, o GTP a ela associado é hidrolisado a GDP. Esta mudança de nucleotídeos diminui a afinidade da subunidade  $\alpha$  pela adenilato ciclase e as duas se separam: a subunidade  $\alpha$  associa-se às outras subunidades da proteína G e a adenilato ciclase fica inativa, cessando a produção de cAMP (Figura 19.4 a).
2. A fosfodiesterase hidrolisa o cAMP a 5'-AMP, reduzindo a concentração celular do nucleotídeo cíclico.
3. Desligada do cAMP, a subunidade reguladora da PKA volta a associar-se à subunidade catalítica e a enzima torna-se inativa.
4. As enzimas fosforiladas têm seus grupos fosfato removidos por hidrólise catalisada pela fosfoproteína fosfatase-1 (PP-1). Durante o tempo em que prevaleceu a ação da adrenalina, a PP-1 estava bloqueada por fosforilação de sua subunidade GM e do seu Inibidor I-1 catalisada pela PKA (Figura 19.6).

Desta forma, quando termina o estímulo de adrenalina, as condições prevalecentes não permitem que aconteçam novas fosforilações de proteínas. A mudança decisiva no sentido do metabolismo do glicogênio dá-se quando as enzimas então fosforiladas têm os seus grupos fosfato removidos, por intervenção da insulina.

### A insulina promove a síntese de glicogênio

A síntese de glicogênio depende, de forma essencial, da insulina. O exato mecanismo de sua atuação apresenta pontos obscuros, mas um de seus efeitos reconhecidos é causar a desfosforilação de proteínas (Seção 19.6.3). Este efeito seria devido à estimulação da proteína quinase B (PKB), o componente final da via da fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K), uma das vias de transdução de sinal de insulina. PKB fosforila enzimas reguladoras, causando mudanças em suas atividades. A glicogênio sintase quinase-3 (GSK-3) e a proteína quinase dependente de AMP (AMPK) são bloqueadas, deixando de fosforilar suas proteínas-substrato (Figura 20.3); a ativação da fosfodiesterase determina a queda do nível de cAMP, resultando no bloqueio da PKA (Figura 20.1); da estimulação de PP-1 decorre a remoção de grupos fosfato de suas enzimas-alvo (Figura 20.4). Todas estas alterações fazem predominar as formas enzimáticas desfosforiladas, inativas no caso da degradação do glicogênio e ativa na síntese. A insulina também promove a síntese da glicogênio sintase.

Para que a glicogenogênese possa ser levada a cabo, é obviamente necessário que, além da adequação das atividades enzimáticas, haja disponibilidade do substrato precursor, a glicose. As fibras musculares são insulino-dependentes, só podendo receber glicose quando, em virtude de glicemia elevada, o pâncreas libera insulina. Isto é o que ocorre após as refeições, permitindo que a maior parte da glicose plasmática seja captada e convertida a glicogênio, já que, nesta situação, o transporte de glicose é estimulado e as regulações das enzimas inibem a degradação do glicogênio e ativam a sua síntese.



**Figura 20.4** Desfosforilação de enzimas do metabolismo do glicogênio muscular, determinada por insulina. Grupos fosfato deixam de ser adicionados ou passam a ser hidrolisados, devido a mudanças na atividade das enzimas: glicogênio fosforilase quinase 3 (GSK-3), proteína quinase A (PKA), fosfodiesterase de cAMP e fosfoproteína fosfatase 1 (PP-1), descritas no texto. As enzimas envolvidas na degradação do glicogênio param de atuar e a glicogênio sintase é convertida à forma ativa (GSI), podendo catalisar a síntese de glicogênio.

### 20.1.3 Regulação do metabolismo do glicogênio hepático

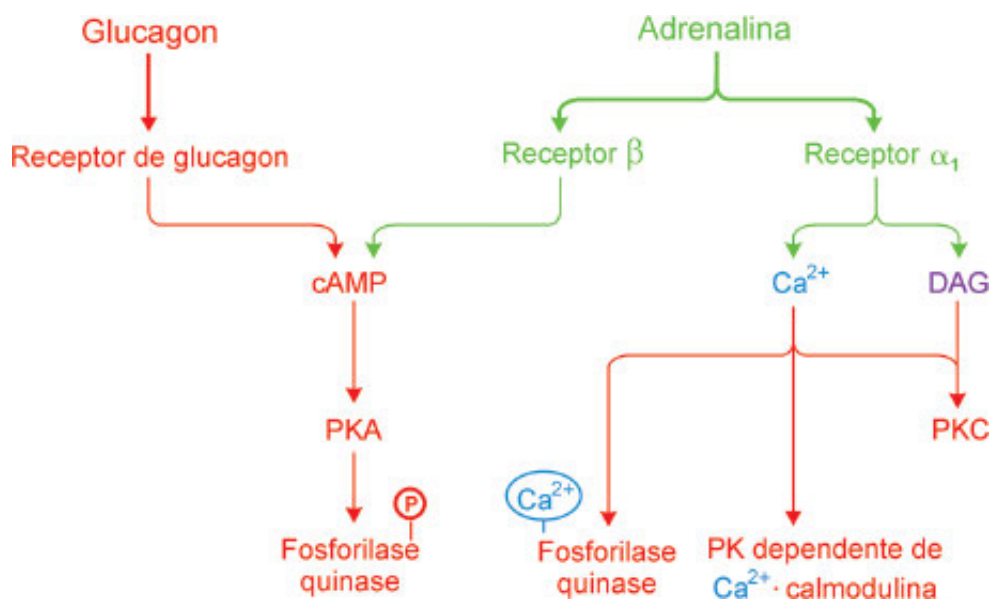
#### A regulação do metabolismo do glicogênio hepático é semelhante à do muscular

No fígado, o metabolismo do glicogênio é regulado por cascatas de reações semelhantes às descritas para o músculo, que resultam em ativação da glicogenólise e inibição da glicogenogênese.

No caso da degradação do glicogênio, entretanto, fígado e músculo diferem quanto ao principal estímulo hormonal:

nos hepatócitos ele é provocado por glucagon. A lógica funcional desta diferença está no destino da glicose resultante da degradação. No músculo, a glicose é destinada à glicólise, à obtenção de ATP pelo próprio músculo. No fígado, a glicose é exportada para corrigir a hipoglicemia que assinalou a liberação do glucagon.

A adrenalina também atua sobre o metabolismo do glicogênio hepático, embora este controle seja secundário em relação àquele exercido por glucagon. Os efeitos da adrenalina são mediados por sua ligação a *receptores* $\beta$  — com ativação da via de sinalização da PKA, à semelhança do que ocorre no músculo — e a *receptores* $\alpha_1$ , com estimulação da via da fosfolipase C (Seção 19.4.2). Dois segundos mensageiros desta via (Figura 20.5), íons  $\text{Ca}^{2+}$  e 1,2-diacilglicerol (DAG), ativam a glicogênio fosforilase quinase, a proteína quinase dependente de  $\text{Ca}^{2+}$  · calmodulina e a proteína quinase C (PKC). Essas quinases fosforilam e estimulam a glicogênio fosforilase e, coadjuvadas pela glicogênio sintase quinase-3 (GSK-3) e pela proteína quinase dependente de AMP (AMPK), fosforilam e inibem a glicogênio sintase.



**Figura 20.5** Regulação do metabolismo do glicogênio hepático por glucagon e adrenalina. A interação dos hormônios com seus receptores na membrana plasmática dos hepatócitos (receptores  $\beta$  da adrenalina) ativa a via da proteína quinase A (PKA), que tem cAMP como segundo mensageiro; PKA fosforila e estimula a fosforilase quinase. A adrenalina também se liga a receptores  $\alpha_1$ , acionando a via da fosfolipase C. Os segundos mensageiros desta via, íons  $\text{Ca}^{2+}$  e 1,2-diacilglicerol (DAG), estimulam a fosforilase quinase, a proteína quinase dependente de  $\text{Ca}^{2+}$  · calmodulina e a proteína quinase C (PKC). A ativação dos três receptores hormonais tem como consequência promover a degradação e inibir a síntese do glicogênio.

A síntese do glicogênio hepático, assim como a de músculo, é promovida por insulina. A glicogênio sintase hepática pode ser fosforilada em sete resíduos de serina. A remoção dos grupos fosfato é catalisada por uma isoenzima da fosfoproteína fosfatase-1 (PP-1), que se liga ao glicogênio pela subunidade GL, cuja síntese é induzida por insulina; diferentemente da isoenzima de músculo, não é regulada por fosforilação, mas por alosteria. A glicogênio sintase também é ativada por glicose 6-fosfato, que a torna mais sensível à ação da PP-1.

Apesar de a insulina não interferir no transporte de glicose através da membrana do hepatócito, a captação de glicose é aumentada indiretamente porque a insulina induz a síntese de glicoquinase, a enzima responsável pela fosforilação da glicose no fígado. É a fosforilação do açúcar que garante a sua permanência na célula e possibilita sua utilização.

A própria glicose contribui para que o glicogênio seja sintetizado em vez de degradado, atuando como efetador alostérico. Quando sua concentração nos hepatócitos aumenta, refletindo o aumento de sua concentração plasmática, a glicose liga-se à glicogênio fosforilase *a*, tornando os grupos fosfato mais acessíveis à fosfoproteína fosfatase-1 (PP-1). Desfosforilada, a forma *b* é inativa. Adicionalmente, PP-1 é inibida alostericamente por ligação, à sua subunidade GL, da glicogênio fosforilase *a*; a conversão da fosforilase à forma *b* induzida por glicose resulta na liberação de PP-1-GL, que pode, então, desfosforilar e ativar a glicogênio sintase. O papel regulador exercido pela glicose é análogo ao da glicose 6-fosfato sobre a glicogênio sintase.

A glicose 1-fosfato obtida da degradação do glicogênio é quase sempre isomerizada a glicose 6-fosfato. Este açúcar, no fígado, é hidrolisado a glicose, que é liberada na circulação — nas situações em que a glicogenólise hepática ocorre, a glicose 6-fosfato não pode ser metabolizada pela glicólise, por que esta via está inibida.

## 20.2 Regulação da glicólise e da gliconeogênese

A glicólise é encontrada em todas as células de mamíferos. No fígado e no córtex renal, processa-se também a

gliconeogênese, uma via antagônica à glicólise. Nestes órgãos, a regulação das duas vias é feita de forma inversa, isto é, quando uma delas está ativa, a outra está desacelerada. Uma vez que a glicólise e a gliconeogênese compartilham várias enzimas, a regulação diferencial só pode ser exercida nas etapas em que as vias diferem, incidindo sobre enzimas que pertencem a uma só das vias.

## 20.2.1 Regulação alostérica e por modificação covalente

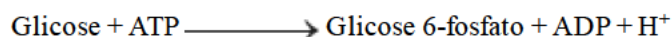
Há três sítios de controle da glicólise e da gliconeogênese: as conversões entre (1) glicose e glicose 6-fosfato; (2) frutose 6-fosfato e frutose 1,6-bisfosfato; (3) fosfoenolpiruvato e piruvato. Deve-se notar que as enzimas-alvo da regulação de ambas as vias catalisam reações irreversíveis. A próxima tabela resume os controles das duas vias.

Conversão entre:	Sítios de controle da glicólise e gliconeogênese (Etapas diferentes nas duas vias)	
	Glicólise	Gliconeogênese
1) Glicose e glicose 6-fosfato	Glicoquinase	Glicose 6-fosfatase
2) Frutose 6-fosfato e frutose 1,6-bisfosfato	Fosfofrutoquinase 1	Frutose 1,6-bisfosfatase
3) Fosfoenolpiruvato e piruvato	Piruvato quinase	Fosfoenolpiruvato carboxiquinase + piruvato carboxilase

Segue-se a análise dos três sítios de controle da glicólise e da gliconeogênese, no *figado*, o principal órgão responsável pela gliconeogênese e no *músculo*.

### Primeiro sítio de controle: glicoquinase e glicose 6-fosfatase

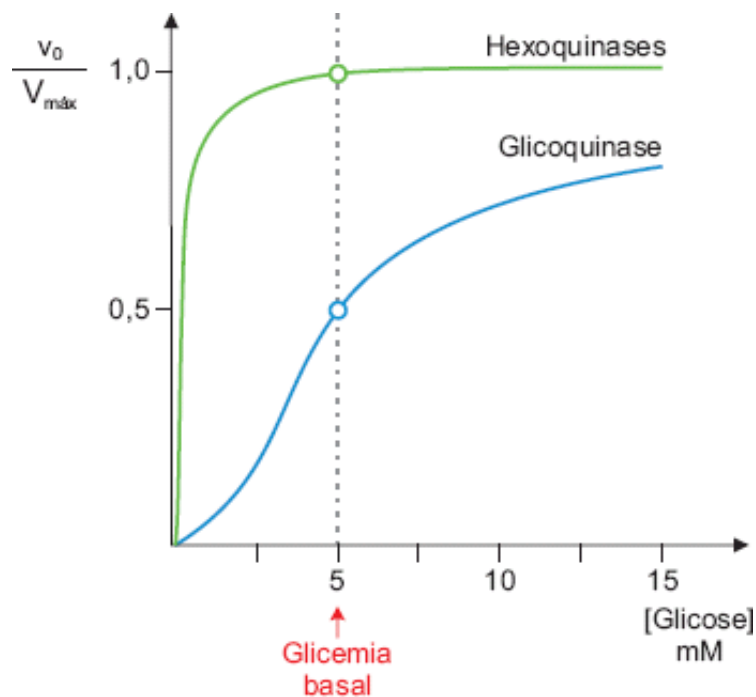
A primeira reação da glicólise



é catalisada pelas *hexoquinases I a III*, na maioria dos tecidos de mamíferos. As três isoenzimas exibem cinética *michaeliana* típica (Figura 20.6) e alta afinidade por glicose, com valores de  $K_M$  entre 0,01 e 0,1 mM. Como o intervalo fisiológico de flutuação da concentração de glicose plasmática é de 5 a 8 mM, estas hexoquinases funcionam sempre em velocidade máxima ( $V_{m\acute{a}x}$ ). Ou seja, a velocidade da reação que catalisam independe do valor da glicemia, assegurando um suprimento constante de glicose para células estritamente dependentes deste açúcar, como as do cérebro e hemácias, e também para outros tecidos como o muscular, adiposo etc. Outro mecanismo de regulação permite ajustar a captação de glicose pelo tecido à sua utilização — o produto da reação, *glicose 6-fosfato*, é um potente inibidor das hexoquinases I-III. Quando a utilização da glicose 6-fosfato diminui, sua concentração aumenta e as hexoquinases ficam momentaneamente inibidas, limitando a fosforilação da glicose. Assim, no período absorptivo, quando o nível de insulina é alto, as fibras musculares recebem glicose (GLUT 4, o transportador de glicose nestas células é estimulado por insulina) e utilizam-na para obtenção de ATP e para síntese de glicogênio. Saturados os estoques de glicogênio, a utilização da glicose 6-fosfato diminui, restringindo a captação de glicose plasmática.

No *figado*, a situação é diferente, pela presença da *hexoquinase IV* ou *glicoquinase*<sup>2</sup>. Embora promovendo a mesma reação, esta isoenzima tem propriedades cinéticas diferentes das outras hexoquinases e, até mesmo, excêntricas. Apesar de ser uma enzima monomérica, a glicoquinase exibe cooperatividade na ligação com o substrato, refletida em uma curva sigmoide de saturação com glicose (Figura 20.6), à semelhança das enzimas alostéricas, que são oligoméricas. A concentração de glicose que estabelece a metade da  $V_{m\acute{a}x}$  da reação catalisada pela glicoquinase — designada  $K_{0,5}$  ou  $S_{0,5}$ , em vez de  $K_M$ , por não obedecer à cinética de Michaelis-Menten — é cerca de 5 mM, próxima da glicemia de jejum e dezenas de vezes maior do que o  $K_M$  das outras hexoquinases. A glicoquinase difere das outras hexoquinases por ter afinidade muito menor pela glicose e por não ser inibida pela glicose 6-fosfato.



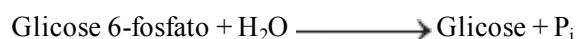


**Figura 20.6** Curvas de saturação com glicose para as hexoquinases I a III e para a glicoquinase. Em valores próximos da concentração basal (de jejum) de glicose plasmática (5 mM), as hexoquinases funcionam em velocidade constante, ao passo que a glicoquinase catalisa a reação em velocidades proporcionais à glicemia.  $v_0/V_{máx}$  5 velocidades relativas de reação.

A importância do valor de  $K_{0,5}$  da glicoquinase é adaptar rigorosamente sua atividade à glicemia, pois aumentos do nível sanguíneo de glicose levam a aumentos significativos da velocidade da reação. É o que acontece após a ingestão de uma refeição: a maior velocidade da reação da glicoquinase permite converter o excedente de glicose em glicogênio, armazenado no fígado, e em triacilgliceróis, estocados no tecido adiposo. Nesta situação, também se eleva a velocidade do transporte por GLUT 2 (Seção 19.6.3), possibilitando a entrada de glicose nos hepatócitos. Por outro lado, quando há redução da glicemia, a baixa afinidade da glicoquinase pelo açúcar limita sua tomada pelo fígado, deixando-o disponível para os tecidos que dele não podem prescindir.

Quando a concentração plasmática de glicose é baixa, a atuação da glicoquinase é restringida, não somente devido à sua baixa afinidade pelo substrato, mas também porque a enzima é bloqueada por uma *proteína reguladora*. Esta proteína altera a atividade da glicoquinase e a sua localização intracelular. A proteína reguladora localiza-se no núcleo do hepatócito, para onde sequestra a glicoquinase, com a qual forma um complexo inativo. Na presença de altos níveis de glicose, a afinidade da proteína reguladora pela glicoquinase diminui, o complexo é desfeito e a glicoquinase passa para o citosol, onde pode catalisar a fosforilação da glicose. Por outro lado, a frutose 6-fosfato promove a formação do complexo nuclear inativo. O acúmulo de frutose 6-fosfato sinaliza interrupção da glicólise em etapas posteriores, coadunando-se com a inibição da glicoquinase. O glucagon, liberado na hipoglicemia, bloqueia a mobilização da enzima para o citosol — a glicoquinase transita entre o citosol e o núcleo dependendo da disponibilidade de substrato e das condições hormonais vigentes. Em resumo, as propriedades da glicoquinase, aliadas às de GLUT 2, capacitam o fígado a fazer ajustes na glicemia e utilizar a glicose apenas quando ela é abundante.

Na gliconeogênese, a etapa contrária à fosforilação da glicose é catalisada pela *glicose 6-fosfatase*:



O valor do  $K_M$  da glicose 6-fosfatase é muito maior do que a concentração basal de glicose 6-fosfato nos hepatócitos, de modo que sua atividade é proporcional ao conteúdo intracelular de seu substrato. A produção de glicose 6-fosfato aumenta em virtude do estímulo da glicogenólise e da gliconeogênese no jejum, quando a atuação da glicose 6-fosfatase é decisiva para a exportação de glicose do fígado para outros órgãos; nesta condição, a via glicolítica encontra-se inibida. Nenhuma regulação alostérica é conhecida para a glicose 6-fosfatase; o controle existe no nível da transcrição.

### Segundo sítio de controle: fosfofrutoquinase 1 e frutose 1,6-bisfosfatase

A conversão de frutose 6-fosfato a frutose 1,6-bisfosfato é promovida pela *fosfofrutoquinase 1* na glicólise e a transformação oposta, na gliconeogênese, pela *frutose 1,6-bisfosfatase* (Figura 20.7 a). Estas reações compõem a etapa mais importante e a mais complexa da regulação das duas vias. A seguir, estão indicados os principais efetadores alostéricos das duas enzimas:

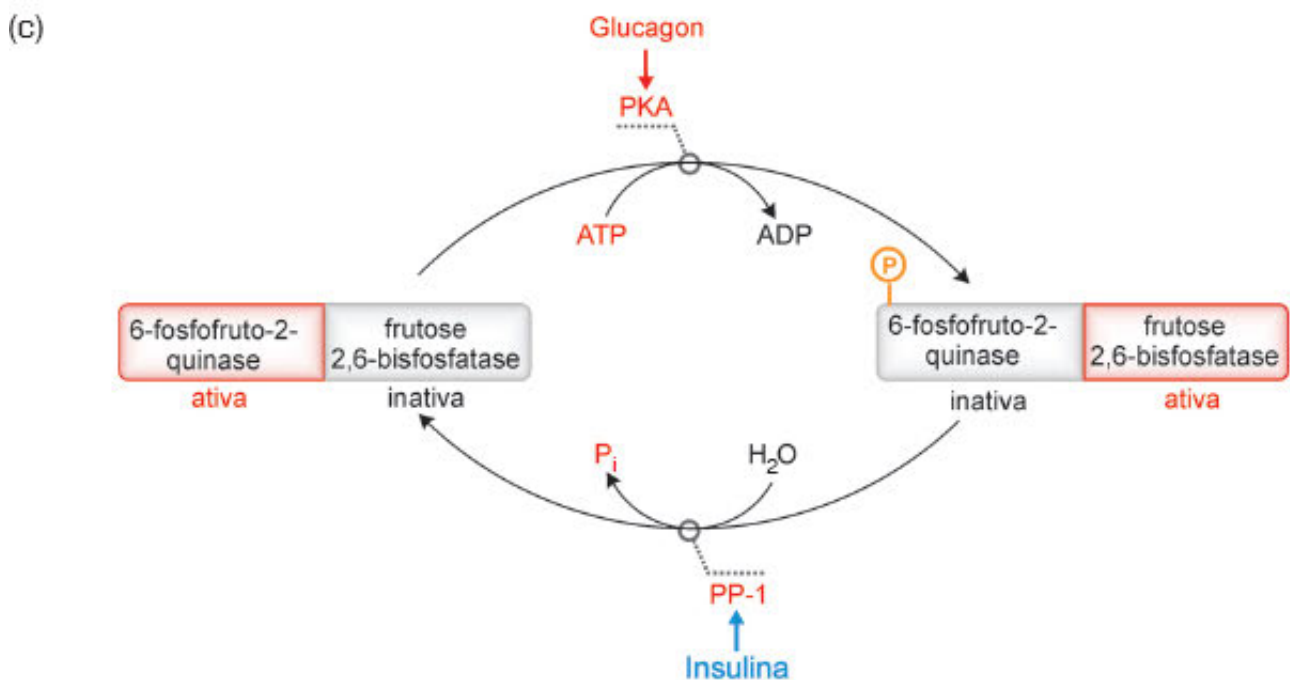
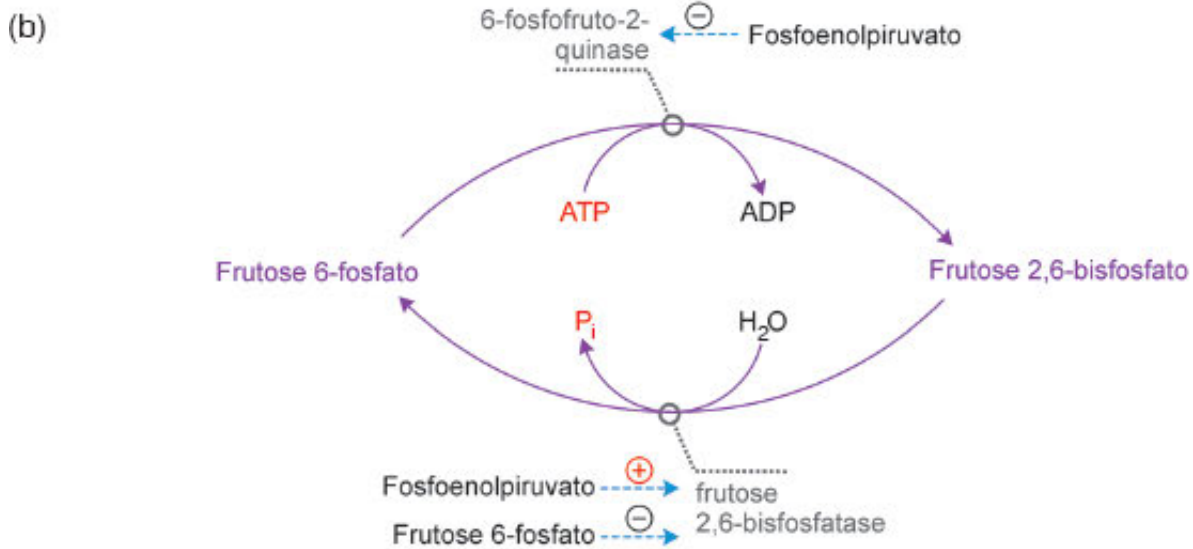
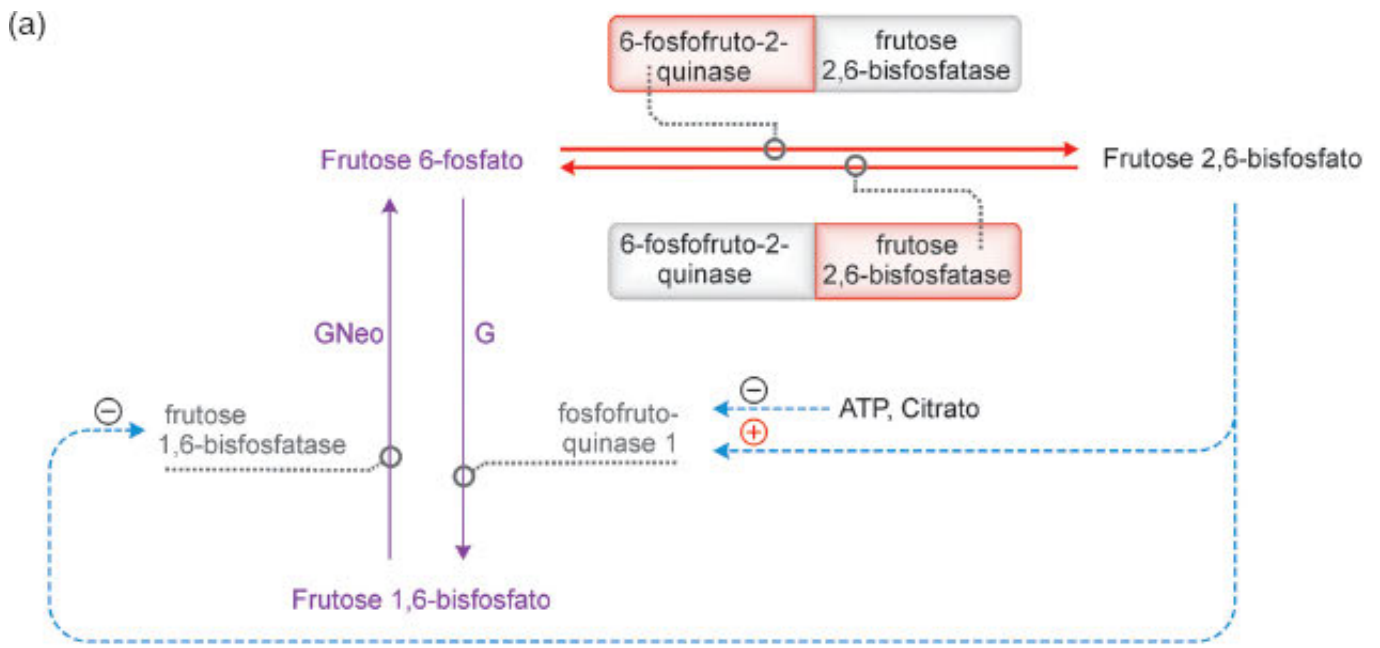


Figura 20.7 Segundo sítio de controle da glicólise/gliconeogênese: interconversão de frutose 6-fosfato e frutose 1,6-bisfosfato. As

setas tracejadas azuis indicam regulações alostéricas, positivas (+) e negativas (-). a) Regulação alostérica da fosfofrutoquinase 1, a enzima da glicólise (G), e da frutose 1,6-bisfosfatase, da gliconeogênese (GNeo). A 6-fosfofruto-2-quinase/frutose 2,6-bisfosfatase está representada por um retângulo contendo os domínios com atividade de quinase e de fosfatase. b) Regulação alostérica da formação e da hidrólise de frutose 2,6-bisfosfato catalisadas pelas atividades de 6-fosfofruto-2-quinase e de frutose 2,6-bisfosfatase da enzima bifuncional.  $P_i$  = fosfato inorgânico ( $HPO_4^{2-}$ ). c) Regulação por modificação covalente da 6 - fosfofruto-2-quinase/frutose 2,6-bisfosfatase.  $\textcircled{P}$  = grupo fosfato ( $PO_3^{2-}$ ).

Enzimas	Efetadores alostéricos	
	Negativos	Positivos
Fosfofrutoquinase 1	ATP; Citrato	AMP; Frutose 2,6-bisfosfato
Frutose 1,6-bisfosfatase	Frutose 2,6-bisfosfato	—

A inibição da fosfofrutoquinase 1, também chamada *6-fosfofruto-1-quinase*, por *ATP* representa uma situação clássica de regulação por *feedback* ou retroinibição, em que um produto final da via regula sua velocidade. A inibição por *citrato* permite adequar a intensidade da glicólise à do ciclo de Krebs: se o suprimento de substratos para o ciclo ultrapassa sua capacidade de utilizá-los, acumula-se citrato que, difundindo-se para o citosol, inibe a fosfofrutoquinase 1.

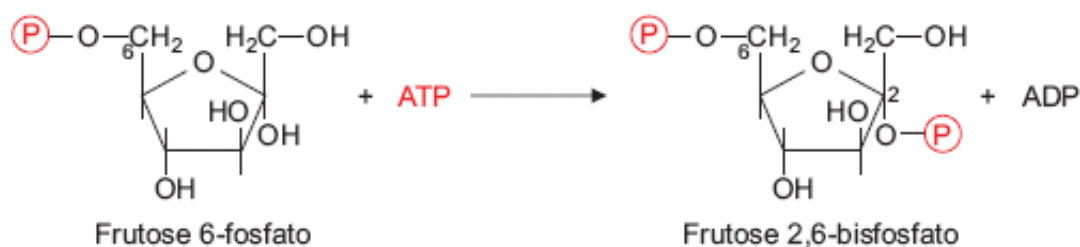
A ativação da fosfofrutoquinase 1 por *AMP* é particularmente importante no caso de músculos esqueléticos em contração vigorosa, quando aumenta a concentração de AMP. Nesta situação, também cresce a disponibilidade de substrato para a glicólise, por duas razões: a proteína quinase dependente de AMP (AMPK) promove a migração de GLUT 4 para a superfície celular, o que faz aumentar o transporte de glicose plasmática; o metabolismo do glicogênio está regulado no sentido degradativo, fornecendo glicose intracelularmente. A consequência é uma aceleração da glicólise, com produção de grande quantidade de NADH. O aporte de oxigênio para o músculo é de início insuficiente para permitir a oxidação de NADH pela cadeia de transporte de elétrons. Resulta um aumento da concentração de NADH mitocondrial, que acaba por refletir-se no citosol, pois há pouco  $NAD^+$  na mitocôndria para ser usado pelo sistema de lançadeira para oxidar o NADH citosólico. Este é, então, oxidado na reação catalisada pela *lactato desidrogenase*, que reduz piruvato a lactato. O  $NAD^+$  assim produzido permite o prosseguimento da glicólise anaeróbia, gerando ATP para sustentar a contração muscular. O lactato é captado pelo fígado, que é capaz de convertê-lo a glicose. Esta, uma vez na circulação, pode ser aproveitada pelas células musculares, onde o seu transporte está estimulado.

No fígado, a *frutose 2,6-bisfosfato* é o efetador alostérico mais potente na ativação da fosfofrutoquinase 1 e na inibição da frutose 1,6-bisfosfatase. O controle da atividade da glicólise e da gliconeogênese vai depender da concentração desta forma bisfosforilada da frutose. Sendo assim, sua própria produção está sob controle estrito.

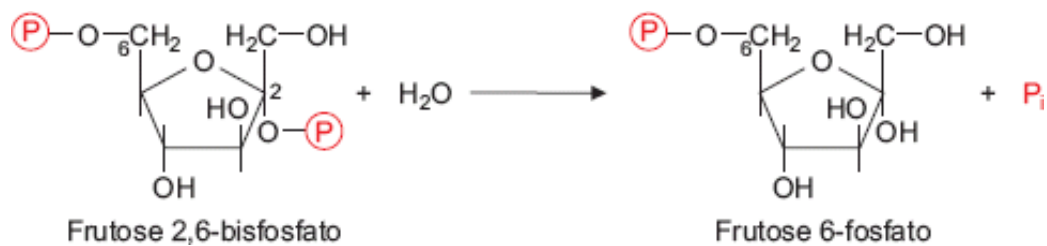
### A produção de frutose 2,6-bisfosfato é submetida a controle alostérico e hormonal

O conteúdo celular de frutose 2,6-bisfosfato está na dependência de duas ações catalíticas — quinase e fosfatase —, presentes em domínios diferentes de uma mesma enzima bifuncional, chamada *6-fosfofruto-2-quinase/frutose 2,6-bisfosfatase*. A atividade de quinase é, às vezes, denominada *fosfofrutoquinase 2*, para distingui-la da fosfofrutoquinase 1. As duas fosfofrutoquinases são relacionadas: a fosfofrutoquinase 1, que catalisa a produção de um intermediário da glicólise, a frutose 1,6-bisfosfato, é ativada alostericamente pelo produto da reação da fosfofrutoquinase 2, a frutose 2,6-bisfosfato.

A frutose 2,6-bisfosfato é produzida pela seguinte reação, catalisada pela *6-fosfofruto-2-quinase* da enzima bifuncional:



A frutose 2,6-bisfosfato, além de não ser um intermediário da glicólise, não segue qualquer via metabólica conhecida. A única alternativa para diminuir sua concentração é a hidrólise do grupo 2-fosfato, com regeneração de frutose 6-fosfato, catalisada pela *frutose 2,6-bisfosfatase* da enzima bifuncional:



Assim, quando a atividade de 6-fosfofruto-2-quinase está favorecida, aumenta a concentração de frutose 2,6-bisfosfato; o oposto ocorre quando prevalece a ação de frutose 2,6-bisfosfatase. Como já citado, a frutose 2,6-bisfosfato ativa fortemente a fosfofrutoquinase 1 e inibe a frutose 1,6-bisfosfatase, favorecendo a glicólise e restringindo a gliconeogênese (Figura 20.7 a).

A 6-fosfofruto-2-quinase/frutose 2,6-bisfosfatase, responsável pelo nível de frutose 2,6-bisfosfato, está submetida a controle alostérico e por modificação covalente.

A regulação alostérica da enzima bifuncional está mostrada na tabela a seguir e na Figura 20.7 b.

Atividades da enzima bifuncional	Efetadores alostéricos	
	Negativos	Positivos
6-Fosfofruto-2-quinase	Fosfoenolpiruvato	—
Frutose 2,6-bisfosfatase	Frutose 6-fosfato	Fosfoenolpiruvato

Deste modo, o teor de frutose 2,6-bisfosfato depende diretamente do nível de frutose 6-fosfato e inversamente do nível de fosfoenolpiruvato. O aumento da concentração de *fosfoenolpiruvato* indica (1) que este composto não está sendo utilizado pela piruvato quinase ou (2) que está sendo produzido pela gliconeogênese. Em qualquer dos dois casos, os seus efeitos sobre as atividades da enzima bifuncional levam à queda da concentração de frutose 2,6-bisfosfato, diminuindo a velocidade da glicólise e abrindo caminho para que se complete a gliconeogênese. Por outro lado, altos níveis de *frutose 6-fosfato* decorrem de altos níveis de glicose — o acúmulo de frutose 6-fosfato assinala a necessidade de sua utilização pela glicólise e impede a síntese de glicose quando este açúcar está disponível. Isto é obtido pelo bloqueio exercido pela frutose 6-fosfato sobre a frutose 2,6-bisfosfatase: a concentração de frutose 2,6-bisfosfato aumenta, estimulando a fosfofrutoquinase 1 e a oxidação da glicose e inibindo a frutose 1,6-bisfosfatase e a produção de glicose.

Em mamíferos, foram descritas quatro isoenzimas da 6-fosfofruto-2-quinase/frutose 2,6-bisfosfatase, que apresentam localização e mecanismos de regulação característicos. No caso da isoenzima hepática, o predomínio de uma de suas duas atividades depende de regulação por modificação covalente. Sob estímulo de glucagon, principalmente, e de adrenalina, a via de transdução de sinal da PKA é acionada e a enzima bifuncional é fosforilada em um resíduo de serina do segmento aminoterminal: sua atividade de quinase é inibida e a de fosfatase é estimulada (Figura 20.7 c), o que faz reduzir a concentração de frutose 2,6-bisfosfato. Por consequência, a fosfofrutoquinase 1 fica inativa, impedindo a glicólise, e a frutose 1,6-bisfosfatase tem sua atividade restabelecida, levando ao estímulo da gliconeogênese.

A enzima bifuncional de músculos esqueléticos difere da isoenzima de fígado por não conter sítios de fosforilação na porção aminoterminal, não sofrendo regulação por modificação covalente.

Em períodos de jejum, o glucagon estimula a degradação do glicogênio hepático, com produção de glicose 1-fosfato, que é isomerizada a glicose 6-fosfato. À medida que se prolonga o jejum e vai sendo esgotado o suprimento de glicogênio hepático, aumenta a importância da gliconeogênese para a produção de glicose. O fluxo gliconeogênico soma-se à degradação do glicogênio, aumentando a produção de glicose 6-fosfato. Como nesta situação a glicólise está inibida, o destino da glicose 6-fosfato é ser convertida a glicose e exportada do fígado, contribuindo para a correção da baixa glicemia que originou a liberação do glucagon.

A insulina, liberada em hiperglicemia, tem efeito oposto ao glucagon e à adrenalina. Por intermédio de diversos mecanismos, que incluem a atuação da fosfoproteína fosfatase-1 (PP-1), a insulina promove a desfosforilação da 6-fosfofruto-2-quinase/frutose 2,6-bisfosfatase, que passa a exibir apenas a atividade de quinase. Os níveis de frutose 2,6-bisfosfato aumentam, ativando a fosfofrutoquinase 1 e inibindo a frutose 1,6-bisfosfatase: a glicólise é ativada e a gliconeogênese é bloqueada, frente a situações de grande oferta de glicose, como após as refeições.

### No músculo cardíaco, a degradação de glicogênio é concomitante com a ativação da glicólise

A descrição dos efeitos da frutose 2,6-bisfosfato no fígado mostra que, em presença de glucagon e adrenalina, sua concentração diminui, impedindo a glicólise. Em decorrência, o glicogênio hepático nunca é utilizado pelo próprio hepatócito, destinando-se sempre à manutenção da glicemia. No músculo cardíaco, a situação é oposta: o glicogênio é



sempre utilizado pelas próprias fibras musculares, porque quando sua degradação está estimulada, a via glicolítica também está.

A diferença das regulações reside na 6-fosfofruto-2-quinase/frutose 2,6-bisfosfatase. A isoenzima bifuncional de músculo cardíaco apresenta em sua porção carboxila terminal vários resíduos de serina, passíveis de fosforilação por proteína quinases componentes de diversas vias de sinalização. Tais modificações covalentes ativam a 6-fosfofruto-2-quinase, em vez de inibir, como ocorre com a isoenzima hepática, a concentração de frutose 2,6-bisfosfato aumenta, estimulando a fosfofrutoquinase 1 e, portanto, a glicólise.

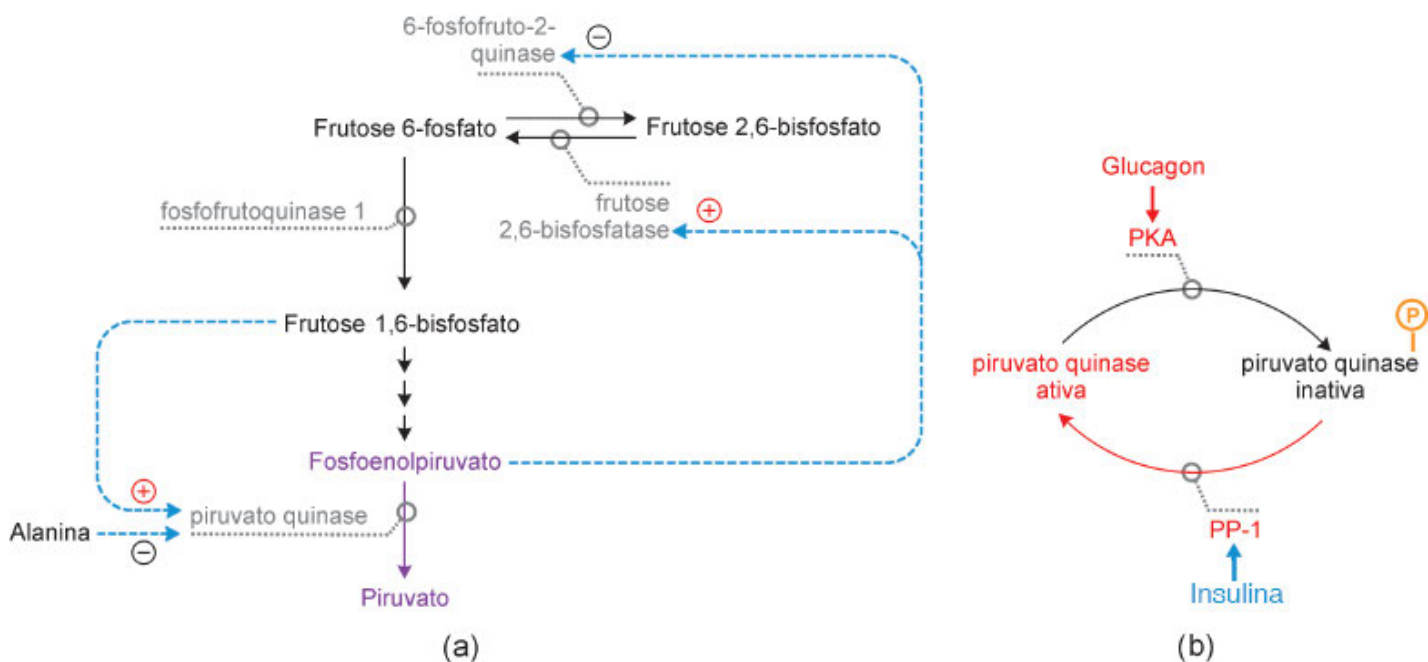
Adrenalina, hipóxia, insulina e contração intensa ativam a glicólise no miocárdio por determinarem a fosforilação e a estimulação da atividade de quinase da enzima bifuncional. A liberação de adrenalina sinaliza a necessidade de produção de ATP para sustentar o trabalho muscular e seu efeito é mediado pela proteína quinase A (PKA). A glicólise no coração também é estimulada quando o fluxo sanguíneo é deficiente, como na isquemia do miocárdio. Nestas condições, o déficit de oxigênio impede o prosseguimento da fosforilação oxidativa e a única fonte de ATP é a glicólise: a síntese de ATP é reduzida, acarretando aumento na concentração de AMP. A consequência é a estimulação da proteína quinase dependente de AMP (AMPK) que fosforila a enzima bifuncional, coadjuvando o efeito da PKA. A resposta à insulina inclui a ativação da via da fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K) e da proteína quinase B (PKB), que adiciona grupos fosfato à enzima bifuncional, acarretando a estimulação da glicólise; assim, quando os níveis sanguíneos de glicose se elevam, o coração pode passar a usar glicose em vez de ácidos graxos.

Há indicações que, nos músculos esqueléticos, o exercício faz aumentar o nível de frutose 2,6-bisfosfato. Este aumento deve-se à mudança do perfil isoenzimático da enzima bifuncional: há diminuição da isoenzima de músculo e aumento da isoenzima cardíaca.

### Terceiro sítio de controle: piruvato quinase e piruvato carboxilase + fosfoenolpiruvato carboxiquinase

A regulação do terceiro sítio incide especialmente sobre a *piruvato quinase*.

O efetador alostérico positivo da piruvato quinase é a *frutose 1,6-bisfosfato* (Figura 20.8 a). Assim, quando a regulação da fosfofrutoquinase 1 estabelece uma alta atividade para esta enzima, seu produto, a frutose 1,6-bisfosfato estimula a piruvato quinase, “preparando-a” para receber o fluxo de substratos da via glicolítica. A piruvato quinase hepática é inibida por *alanina*. Esta regulação é fundamental durante períodos prolongados de jejum, quando o fígado recebe quantidades apreciáveis de alanina, uma das formas de transporte dos aminoácidos provenientes do catabolismo de proteínas musculares. A alanina é um composto gliconeogênico e, para a síntese de glicose, deve sofrer transaminação, originando piruvato. O piruvato é transformado em oxaloacetato e este, em fosfoenolpiruvato, que segue a via gliconeogênica. A inibição da piruvato quinase por alanina impede que o fosfoenolpiruvato formado possa ser reconvertido a piruvato. Como descrito no segundo sítio de controle da glicólise/gliconeogênese, este composto atua como efetador alostérico da 6-fosfofruto-2-quinase/frutose 2,6-bisfosfatase, inibindo sua atividade de quinase e estimulando a de fosfatase. Decresce a concentração de frutose 2,6-bisfosfato, cessando o estímulo sobre a fosfofrutoquinase 1 e o bloqueio da frutose 1,6-bisfosfatase. As consequências são a interrupção da via glicolítica e a ativação simultânea da gliconeogênese.



**Figura 20.8** Terceiro sítio de controle da glicólise/gliconeogênese: piruvato quinase. a) Regulação alostérica. A enzima é estimulada

por frutose 1,6-bisfosfato, cuja produção cresce com a disponibilidade de glicose; é inibida por alanina e, neste caso, o fosfoenolpiruvato inibe a formação de frutose 2,6-bisfosfato, o principal ativador da fosfofrutoquinase 1: a glicólise é desacelerada e a gliconeogênese, favorecida. b) Regulação por modificação covalente. Sob estímulo de glucagon, a piruvato quinase é fosforilada pela proteína quinase A (PKA), tornando-se inativa e favorecendo a gliconeogênese; na presença de insulina, a remoção de grupo fosfato pela fosfoproteína fosfatase 1 (PP-1) ativa a enzima, propiciando o consumo de glicose pela glicólise.

A piruvato quinase dos hepatócitos também sofre modificação covalente (Figura 20.8 b): a fosforilação converte a forma ativa em inativa. No jejum, o glucagon estimula a via da PKA e esta inativação se processa, aumentando a concentração de *fosfoenolpiruvato*. Em hiperglicemia, sob ação da insulina, a piruvato quinase é desfosforilada pela proteína fosfatase 1 (PP-1), tornando-se ativa — o sentido das regulações é invertido.

O controle alostérico da piruvato carboxilase está descrito na Seção 20.5. Em relação à fosfoenolpiruvato carboxiquinase, não foram identificados efetadores alostéricos.

## 20.2.2 Modulação da concentração de enzimas da glicólise e da gliconeogênese

Outro mecanismo decisivo de regulação da glicólise e da gliconeogênese incide sobre o conteúdo enzimático celular, manifesta-se em prazos mais longos que as regulações alostérica e por modificação covalente, e é exercido pela disponibilidade de substratos na dieta e, principalmente, por ação hormonal.

No fígado, a expressão dos genes da piruvato carboxilase, fosfoenolpiruvato carboxiquinase, frutose 1,6-bisfosfatase e glicose 6-fosfatase é induzida por glucagon, glicocorticoides ou catecolaminas. O glucagon ainda inibe a transcrição dos genes da glicoquinase, da fosfofrutoquinase 1 e da piruvato quinase. É o que ocorre no jejum e no diabetes, quando prevalece a sua ação. Outra ação do glucagon, já mencionada, é impedir a translocação, e a conseqüente estimulação, da glicoquinase do núcleo para o citosol. O resultado é a aceleração da gliconeogênese e a desaceleração da glicólise.

No período absorptivo, a insulina estimula a síntese de glicoquinase, fosfofrutoquinase 1 e piruvato quinase, que têm suas concentrações elevadas em torno de cinco vezes, e reprime a produção das enzimas gliconeogênicas induzidas por glucagon. Tais variações da expressão gênica resultam da ativação de vias de transdução de sinal da insulina, como a da fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K) (Seção 19.6.3).

A regulação da gliconeogênese hepática é fundamental para o ajuste da glicemia. A insulina é o mais importante hormônio inibidor da via — no diabetes tipo 2, caracterizado por resistência à insulina e/ou por secreção deficiente do hormônio, a produção de glicose pelo fígado é drasticamente aumentada. Os mecanismos sinalizadores que medeiam a regulação das enzimas gliconeogênicas e glicolíticas têm interesse particular, por constituírem alvos de intervenção farmacológica para restaurar a sensibilidade à insulina.

## 20.3 Regulação da via das pentoses fosfato

Os produtos principais da via das pentoses fosfato são NADPH e ribose 5-fosfato. A pentose fosfato é precursora da síntese de nucleotídeos; NADPH é a coenzima redutora das sínteses de ácidos graxos, colesterol e hormônios esteroides, e de reações de dissipação de radicais livres. As desidrogenases da parte oxidativa da via das pentoses fosfato que convertem  $\text{NADP}^+$  a NADPH são inibidas competitivamente por NADPH. O bloqueio é abolido por oxidação de NADPH a  $\text{NADP}^+$  pelos processos citados. Nos seres humanos, as sínteses redutoras ocorrem intensamente no fígado, tecido adiposo, glândulas mamárias, córtex da suprarrenal, ovários e testículos, e os mecanismos antioxidantes, nas hemácias.

O destino da glicose 6-fosfato — via das pentoses fosfato ou glicólise — está subordinado às razões ATP/ADP e NADPH/NADP<sup>+</sup> intracelulares. Quando a razão ATP/ADP é baixa (carga energética celular baixa), a glicose é degradada pela via glicolítica, produzindo ATP, pois, nestas condições, a glicólise está estimulada pelos processos reguladores já descritos; não ocorre síntese de ácidos graxos e a razão NADPH/NADP<sup>+</sup> é alta, inibindo a via das pentoses fosfato. Se a razão ATP/ADP elevar-se, a fosfofrutoquinase 1 da glicólise é inibida e a síntese de ácidos graxos, favorecida, consumindo NADPH e eliminando a inibição das desidrogenases da via das pentoses fosfato: o metabolismo da glicose 6-fosfato passa a ser desviado para esta via. A formação de ácidos graxos também consome ATP, de modo que, à medida que a razão ATP/ADP diminui, a glicólise volta a ocorrer até que a concentração de ATP aumente, a via seja desacelerada e assim por diante. Deste modo, as velocidades das duas vias oscilam alternadamente, em resposta às razões ATP/ADP e NADPH/NADP<sup>+</sup> vigentes. O significado fisiológico deste “desvio” intermitente é propiciar a obtenção de NADPH, mantendo o fluxo dos carbonos precursores de ácidos graxos, originários da glicose.

A ocorrência da via das pentoses fosfato está associada a condições fisiológicas em que predominam processos de síntese. Quando as taxas glicêmicas são altas, os níveis elevados de insulina resultantes acarretam, no tecido adiposo, aumento da permeabilidade à glicose e, no fígado, da produção de glicoquinase. Tais condições propiciam a síntese de ácidos graxos, que também é estimulada por insulina.

## As partes oxidativa e não oxidativa da via das pentoses fosfato podem ser acionadas separadamente

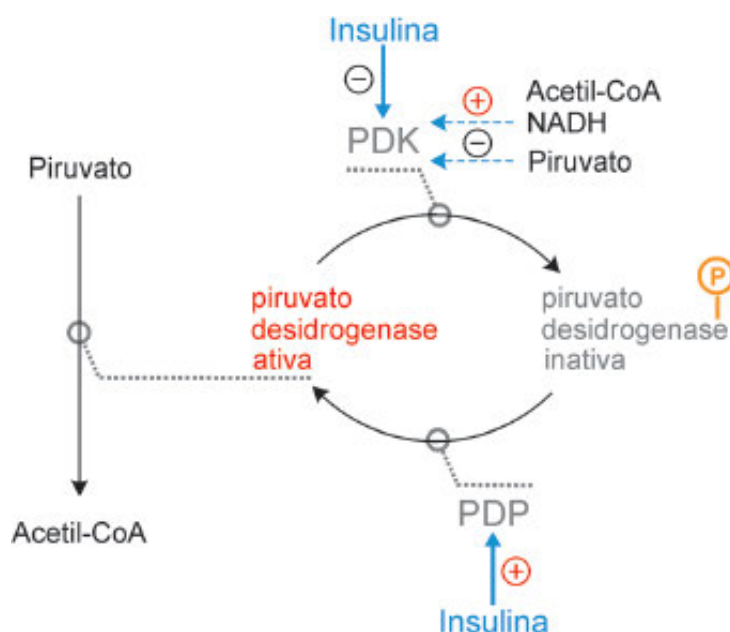
A existência de intermediários comuns — glicose 6-fosfato, frutose 6-fosfato e gliceraldeído 3-fosfato — na glicólise e na via das pentoses fosfato, somada ao fato de ambas as vias ocorrerem no citosol e à reversibilidade das reações catalisadas por transaldolases e transcetolases, permite uma grande flexibilidade no metabolismo da glicose. De fato, é possível haver adaptações não só às necessidades celulares de ATP, mas também à produção diferencial de NADPH e ribose 5-fosfato, sem que nenhum dos dois compostos seja acumulado. Considerem-se os seguintes exemplos, nos quais:

1. são necessários NADPH e ribose 5-fosfato simultaneamente — há predomínio da parte oxidativa da via.
2. a demanda de ribose 5-fosfato é maior do que a de NADPH — a parte não oxidativa é acionada. As reações das transaldolases e transcetolases convertem frutose 6-fosfato e gliceraldeído 3-fosfato, produzidos pela glicólise, em ribose 5-fosfato. Esta é a situação vigente na maioria dos tecidos, músculos, por exemplo, que devem produzir ribose 5-fosfato para a síntese de nucleotídeos, mas não se encarregam das sínteses redutoras já citadas.
3. a necessidade de NADPH, para produção de ácidos graxos, por exemplo, é maior do que a de ribose 5-fosfato — a ribulose 5-fosfato produzida na parte oxidativa é convertida a frutose 6-fosfato e gliceraldeído 3-fosfato pela etapa não oxidativa. A frutose 6-fosfato pode retornar à via das pentoses fosfato após sua conversão a glicose 6-fosfato pela fosfoglicoisomerase ou ganhar a via glicolítica. A maior parte do gliceraldeído 3-fosfato é reconduzido à glicólise e, posteriormente, convertido em acetil-CoA e em ácidos graxos; o restante origina glicerol 3-fosfato, necessário para a esterificação dos ácidos graxos sintetizados, formando triacilgliceróis.

## 20.4 Regulação do complexo piruvato desidrogenase

O piruvato tem vários destinos possíveis no fígado: ser totalmente oxidado a  $\text{CO}_2$  (via acetil-CoA e ciclo de Krebs), ser reduzido a lactato ou ser utilizado como precursor na síntese de lipídios (via acetil-CoA), de carboidratos (gliconeogênese) e de aminoácidos (transaminação). A ação do *complexo piruvato desidrogenase (PD)*, transformando piruvato em acetil-CoA, limita os destinos do piruvato: a acetil-CoA só pode ser oxidada ou convertida a lipídios e, em situações particulares, a corpos cetônicos. O complexo enzimático conecta a glicólise ao ciclo de Krebs e à síntese de lipídios, desempenhando papel estratégico no controle da utilização de glicose como fonte de energia ou como substrato precursor na biossíntese de ácidos graxos e colesterol.

O complexo PD de mamíferos contém, além das três enzimas que catalisam a oxidação de piruvato a acetil-CoA (Seção 9.2), duas enzimas reguladoras específicas, a *piruvato desidrogenase quinase (PDK)* e a *piruvato desidrogenase fosfatase (PDP)*. Quando fosforilado pela quinase, o complexo torna-se inativo; a remoção do grupo fosfato pela fosfatase reativa o complexo (Figura 20.9). Foram descritas várias isoenzimas da quinase e da fosfatase. A isoenzima considerada mais importante para a regulação de PD é PDK 4, que é especialmente abundante em músculos esqueléticos e cardíaco, e no fígado.



**Figura 20.9** Regulação do complexo piruvato desidrogenase. A inibição do complexo por fosforilação é catalisada pela piruvato desidrogenase quinase (PDK); a atividade é restabelecida por hidrólise do grupo fosfato, acionada pela piruvato desidrogenase fosfatase (PDP). Acetil-CoA e NADH são os efetadores alostéricos positivos da PDK e piruvato, o efetador negativo. A insulina promove a síntese de PDP e reduz a de PDK, levando à ativação da piruvato desidrogenase.

Os mecanismos de regulação das PDKs incluem ativação alostérica por acetil-CoA e NADH, produtos da reação catalisada por PD e também da  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos, e inibição por piruvato, o substrato do complexo. Este sistema de regulação controla a atividade de PD nos períodos fisiológicos de jejum, decorrentes da alimentação intermitente, e no exercício prolongado, quando há intensa oxidação de ácidos graxos e as razões acetil-CoA/CoA e NADH/NAD<sup>+</sup> mitocondriais aumentam, estimulando a PDK 4; adicionalmente, no jejum, o efetador alostérico negativo da PDK 4, o piruvato, é escasso — PD fica inoperante.

A inibição de PD por fosforilação catalisada por PDK 4 no jejum prolongado seleciona o substrato a ser preferencialmente consumido, glicose ou ácidos graxos: favorece a utilização de ácidos graxos e é crucial para a economia de glicose. Os ácidos graxos são oxidados por músculos esqueléticos e cardíaco, fígado etc., poupando glicose para as células dela estritamente dependentes, como as do cérebro e as hemácias. A inativação de PD facilita a oxidação de ácidos graxos por “economizar” piruvato para a formação de oxaloacetato, cuja oferta ao ciclo de Krebs permite oxidar acetil-CoA.

Tendo em vista que mamíferos não dispõem de vias para converter acetil-CoA em glicose, o bloqueio de PD permite preservar, além da própria glicose, compostos gliconeogênicos quando o açúcar é insuficiente. No fígado, o piruvato disponível pode formar oxaloacetato, que ganha acesso à gliconeogênese, então estimulada, sintetizando glicose. A acetil-CoA originada da degradação de ácidos graxos não só causa a supressão da oxidação de piruvato, como também estimula a carboxilação de piruvato a oxaloacetato — a acetil-CoA é o efetador comum às duas reações (Seção 14.2).

No jejum, as proteínas musculares são hidrolisadas e os aminoácidos são exportados como alanina, produzida por transaminação com piruvato (Seção 17.2.1); a alanina é captada pelo fígado, onde é convertida a glicose (Seção 14.2) e ureia (Seção 17.2.1). A inibição de PD, além de propiciar níveis adequados de piruvato, garante a remoção do nitrogênio dos aminoácidos dos músculos, cuja degradação é estimulada por glicocorticoides durante o jejum prolongado. No exercício intenso, a consequência adicional da estimulação de PDK 4 em músculos é direcionar o piruvato originado da glicólise para a formação de lactato, em vez de ser oxidado; o lactato pode ser utilizado subsequentemente para síntese de glicose no fígado.

Por outro lado, quando há grande disponibilidade de glicose, a ativação do complexo piruvato desidrogenase (PD) permite a síntese de ATP e de ácidos graxos a partir do açúcar. Muita glicose significa muita insulina e muito piruvato, o efetador alostérico negativo das PDKs. Um dos efeitos da insulina, por intermédio da via da fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K) e da proteína quinase B (PKB), é causar a fosforilação de fatores de transcrição e determinar mudanças opostas na expressão das enzimas reguladoras, reprimindo a transcrição das quinases e induzindo a das fosfatases. O resultado é a desfosforilação do complexo e a sua ativação. Novamente, PD tem papel fundamental na “decisão” entre a oxidação de glicose ou de ácidos graxos. A estimulação do complexo quando a glicose é abundante acaba por limitar a oxidação de ácidos graxos, devido à produção de malonil-CoA, um intermediário da síntese de ácidos graxos, que impede a entrada de ácidos graxos na mitocôndria (Seção 20.7).

No estado diabético, a regulação de PD assemelha-se à do jejum, porque a repressão de PDK 4 e a indução das PDKs estão comprometidas, devido à falta de insulina ou resistência à sua atuação. A interrupção da oxidação de glicose contribuiria para a hiperglicemia característica dessa doença.

Término da leitura básica

## 20.5 Regulação do ciclo de Krebs

Leitura para aula de fosforilação oxidativa

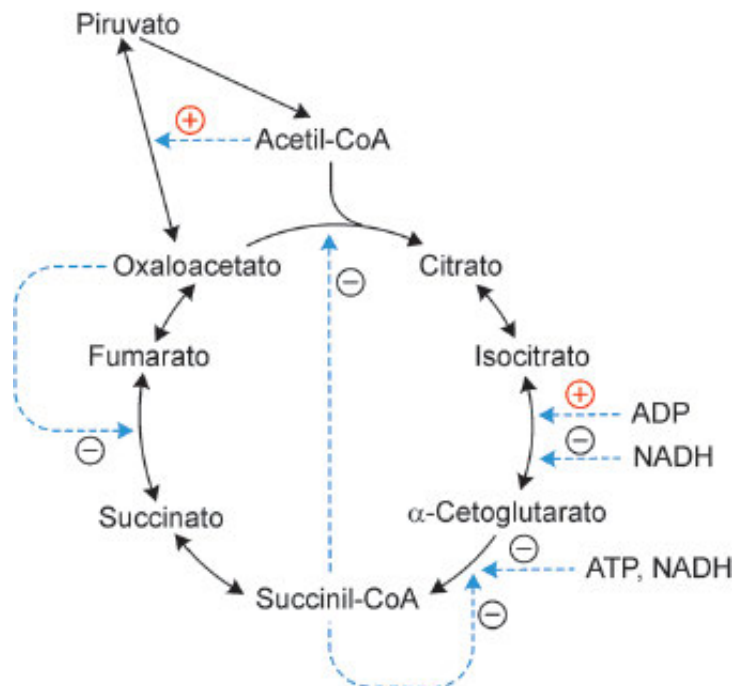
O ciclo de Krebs reduz coenzimas, mas não as oxida. É uma via que não tem autonomia funcional, necessitando do fornecimento de NAD<sup>+</sup> e FAD pela cadeia de transporte de elétrons para manter-se ativa. Deste modo, a velocidade de oxidação de acetil-CoA pelo ciclo de Krebs está na dependência direta da velocidade da cadeia de transporte de elétrons, que, por sua vez, funciona acoplada à síntese de ATP. As razões NAD<sup>+</sup>/NADH e ADP/ATP são especialmente importantes, não só porque o ciclo inclui três reações de oxidação-redução que requerem NAD<sup>+</sup>, como pelo fato de NADH, ADP e ATP serem efetadores alostéricos de enzimas do ciclo.

A regulação do ciclo de Krebs incide sobre a produção de citrato e sobre sua oxidação a CO<sub>2</sub> e oxaloacetato.

### A atividade da citrato sintase depende da concentração de oxaloacetato

O primeiro ponto de controle do ciclo é a reação catalisada pela *citrato sintase* (Figura 20.10). A atividade desta enzima depende, é claro, das concentrações de seus substratos, especialmente do nível de *oxaloacetato*, cujas baixas concentrações mitocondriais são o fator limitante da oxidação de acetil-CoA pelo ciclo. Esta limitação é contornada por maior formação de oxaloacetato induzida pela própria acetil-CoA: a *acetil-CoA* é efetador alostérico positivo da *piruvato carboxilase*, que converte piruvato em oxaloacetato. Ao elevar-se o nível de acetil-CoA, como resultado da degradação de carboidratos, ácidos graxos e aminoácidos, a piruvato carboxilase ativada deriva o piruvato proveniente de carboidratos ou de aminoácidos para síntese de oxaloacetato. O acréscimo na oferta de oxaloacetato permite máxima atividade da





**Figura 20.10** Principais regulações alostéricas do ciclo de Krebs. As setas tracejadas azuis indicam regulações alostéricas, positivas (+) e negativas (-).

### O destino metabólico do citrato depende da atividade da isocitrato desidrogenase

Uma vez formado, o citrato poderá ser oxidado, por meio de prévia conversão a seu isômero, o isocitrato, por ação da aconitase. Se a oxidação de isocitrato estiver impedida, o equilíbrio da reação da aconitase favorece o acúmulo de citrato, na proporção de 10:1.

A “decisão” entre oxidação ou acúmulo de citrato está na dependência do segundo e mais importante sítio de regulação do ciclo de Krebs: a reação catalisada pela *isocitrato desidrogenase*. Sobre esta enzima atuam dois efetadores alostéricos: o *ADP* tem efeito positivo, e o *NADH*, negativo. Níveis altos de *ADP*, assinalando a necessidade celular de *ATP*, estimulam a enzima, levando à oxidação de citrato. Este aumento da velocidade do ciclo leva à produção de coenzimas reduzidas e consequente ativação da fosforilação oxidativa. À medida que a concentração de *ADP* diminui, decresce também a velocidade da fosforilação oxidativa, havendo elevação do teor de *NADH*, o inibidor alostérico da isocitrato desidrogenase. O citrato acumulado flui para o citosol, onde inibe a fosfofrutoquinase 1, ajustando a velocidade da glicólise à do ciclo de Krebs; além disto, é o citrato o precursor da formação de acetil-CoA citosólica, utilizada na síntese de ácidos graxos. Desta forma, a inibição da isocitrato desidrogenase assinala suprimento adequado de *ATP* e desvia o fluxo metabólico da oxidação para o armazenamento.

O *complexo α-cetogluturato desidrogenase* constitui o terceiro sítio de controle, sendo inibido por *succinil-CoA*, *NADH* e *ATP*. O ciclo apresenta ainda controles secundários: a *citrato sintase* é inibida competitivamente por *succinil-CoA*, e a *succinato desidrogenase*, por *oxaloacetato*.

Não há regulações por modificação covalente descritas para o ciclo de Krebs. Nem mesmo a *α-cetogluturato desidrogenase*, diferentemente da piruvato desidrogenase, tem sua atividade regulada por fosforilação/desfosforilação.

## 20.6 Regulação da cadeia de transporte de elétrons e da síntese de ATP — Controle respiratório

O transporte de elétrons e a síntese de *ATP* mitocondriais são processos fortemente acoplados. Realmente, se a síntese de *ATP* é absolutamente dependente do fluxo de elétrons pela cadeia de transporte de elétrons (“cadeia respiratória”), a recíproca também é verdadeira: a transferência de elétrons só ocorre enquanto houver síntese de *ATP*. O acoplamento é resultado do *controle respiratório*, exercido pela disponibilidade de *ADP* (Seção 11.4). O *ADP* é o fator limitante porque a maior produção de *ATP* acarreta, forçosamente, diminuição da concentração de *ADP*. A síntese de *ATP* processa-se em velocidade paralela à sua utilização, sendo impedida sempre que o nível de *ATP* é compatível com a demanda. Vale lembrar que o conteúdo celular total de *ATP* é muito pequeno e sua utilização, ininterrupta e de intensidade muito variável. Um indivíduo adulto requer diariamente cerca de 2.000 vezes mais *ATP* do que seu organismo dispõe. Este dado enfatiza a obrigatoriedade da síntese contínua de *ATP* e o seu alto índice de renovação. Também explica o tempo diminuto em que uma célula aeróbia pode viver na ausência de oxigênio.

O controle respiratório tem um claro sentido de economia celular, como pode ser evidenciado pelas consequências de um eventual aumento da razão ATP/ADP. Por falta de ADP, a fosforilação oxidativa torna-se inoperante e a cadeia de transporte de elétrons também, devido ao acoplamento dos dois processos. Segue-se o acréscimo na concentração de NADH e FADH<sub>2</sub>, que não podem mais ser oxidados pela cadeia de transporte de elétrons. As vias metabólicas degradativas que necessitam de NAD<sup>+</sup> e FAD, como o ciclo de Krebs, a oxidação de ácidos graxos etc., não podem prosseguir, ainda mais porque ATP e NADH passam a exercer seus efeitos de efetadores alostéricos negativos em enzimas destas vias. Generalizando, a velocidade de produção de coenzimas reduzidas é função da velocidade de sua oxidação pela cadeia de transporte de elétrons, que depende da velocidade de síntese de ATP. O controle respiratório estabelece o ajuste perfeito da oxidação de substratos à necessidade celular de ATP, ou seja, a regulação do metabolismo energético.

Diversas evidências experimentais sugerem que a concentração de ADP não é o único fator determinante do controle respiratório em mitocôndrias de eucariotos. Postula-se a ocorrência de um *segundo mecanismo de controle respiratório*, assim denominado em contraposição ao primeiro mecanismo descrito, exercido pela disponibilidade de ADP. O segundo mecanismo do controle respiratório baseia-se na inibição alostérica da citocromo *c* oxidase (Complexo IV) por ATP. A inibição depende de intervenção hormonal: é abolida por ligação, à enzima, de *hormônios tireoídianos*, os principais reguladores da taxa metabólica basal em mamíferos, e acionada por fosforilação da enzima pela proteína quinase dependente de cAMP (PKA).

O primeiro mecanismo de controle respiratório opera em situações de valores elevados de potencial de membrana, quando as bombas de H<sup>+</sup> (Complexos I, III e IV) são inibidas e a ATP sintase, ativada (sua atividade aumenta com o potencial elétrico). A enzima, estimulada também por ADP, transloca prótons para dentro da mitocôndria, determinando a redução do gradiente eletroquímico e a ativação das bombas de H<sup>+</sup>; o transporte de elétrons é, então, acelerado. O segundo mecanismo de controle respiratório atua quando o potencial de membrana é baixo e a razão ATP/ADP mitocondrial é alta. Sua função seria manter a força próton-motriz em valores relativamente baixos, o que é essencial para o desempenho adequado de atividades mitocondriais tais como: 1) a membrana interna da mitocôndria é impermeável a H<sup>+</sup> apenas em condições de baixos potenciais de membrana, sendo que em valores altos, ocorre vazamento de prótons, resultando em desacoplamento da fosforilação oxidativa; 2) a formação de radicais livres aumenta com o gradiente eletroquímico. A supressão do segundo mecanismo por hormônios tireoídianos eleva o potencial de membrana, causando o desacoplamento parcial da fosforilação oxidativa e o aumento da taxa metabólica basal. A fosforilação, possibilitando a inibição alostérica da citocromo *c* oxidase por ATP, tem efeito oposto: otimiza a fosforilação oxidativa, por manter baixo o gradiente eletroquímico.

Além dos mecanismos de controle da *velocidade* da síntese de ATP e do transporte de elétrons, deve-se analisar a *eficiência* da fosforilação oxidativa e o grau de *termogênese* a ela subordinado. Esta regulação é particularmente importante em animais endotérmicos, que consomem uma parte considerável da energia produzida para a manutenção da temperatura corpórea. A eficiência da fosforilação oxidativa é definida pela razão P/O, entre fósforo (P<sub>i</sub>) incorporado em ATP e oxigênio consumido (Seção 11.3.1). O desacoplamento da fosforilação oxidativa diminui a sua eficiência (reduz a razão P/O), levando à dissipação da força próton-motriz e ao aumento da termogênese. A atuação das proteínas desacopladoras (UCPs) (Seção 11.5) regula a fosforilação oxidativa, por impedir a elevação do potencial de membrana e a consequente inibição da citocromo *c* oxidase (e da cadeia de transporte de elétrons) quando aumenta a quantidade de ATP sintetizado.

Outra causa de desacoplamento da fosforilação oxidativa, já mencionada, é o vazamento inespecífico de prótons através da membrana interna da mitocôndria, verificado quando o gradiente eletroquímico é alto. Finalmente, o funcionamento inadequado dos componentes intrínsecos da fosforilação oxidativa também resulta em desacoplamento. Na presença de força próton-motriz elevada, as bombas de H<sup>+</sup> são menos eficazes, translocando menos prótons por elétron transferido, quer dizer, diminui a estequiometria H<sup>+</sup>/e<sup>-</sup>, resultando em uma menor relação P/O. Este fenômeno está mais bem comprovado no Complexo IV; acarreta os mesmo resultados que os demais processos desacopladores: promove a termogênese e reduz a produção de radicais livres.

O desacoplamento de mitocôndrias era considerado, originalmente, um artefato do método de isolamento das organelas. Na verdade, o gradiente eletroquímico não é totalmente utilizado para a síntese de ATP e o desacoplamento deve ser considerado inerente à fosforilação oxidativa.

A regulação da fosforilação oxidativa, como se pode observar, está longe de ser compreendida de modo completo.

**Término leitura fosforilação oxidativa**

## **20.7 Regulação do metabolismo de triacilgliceróis e ácidos graxos** Leitura aula síntese e degradação lipídios

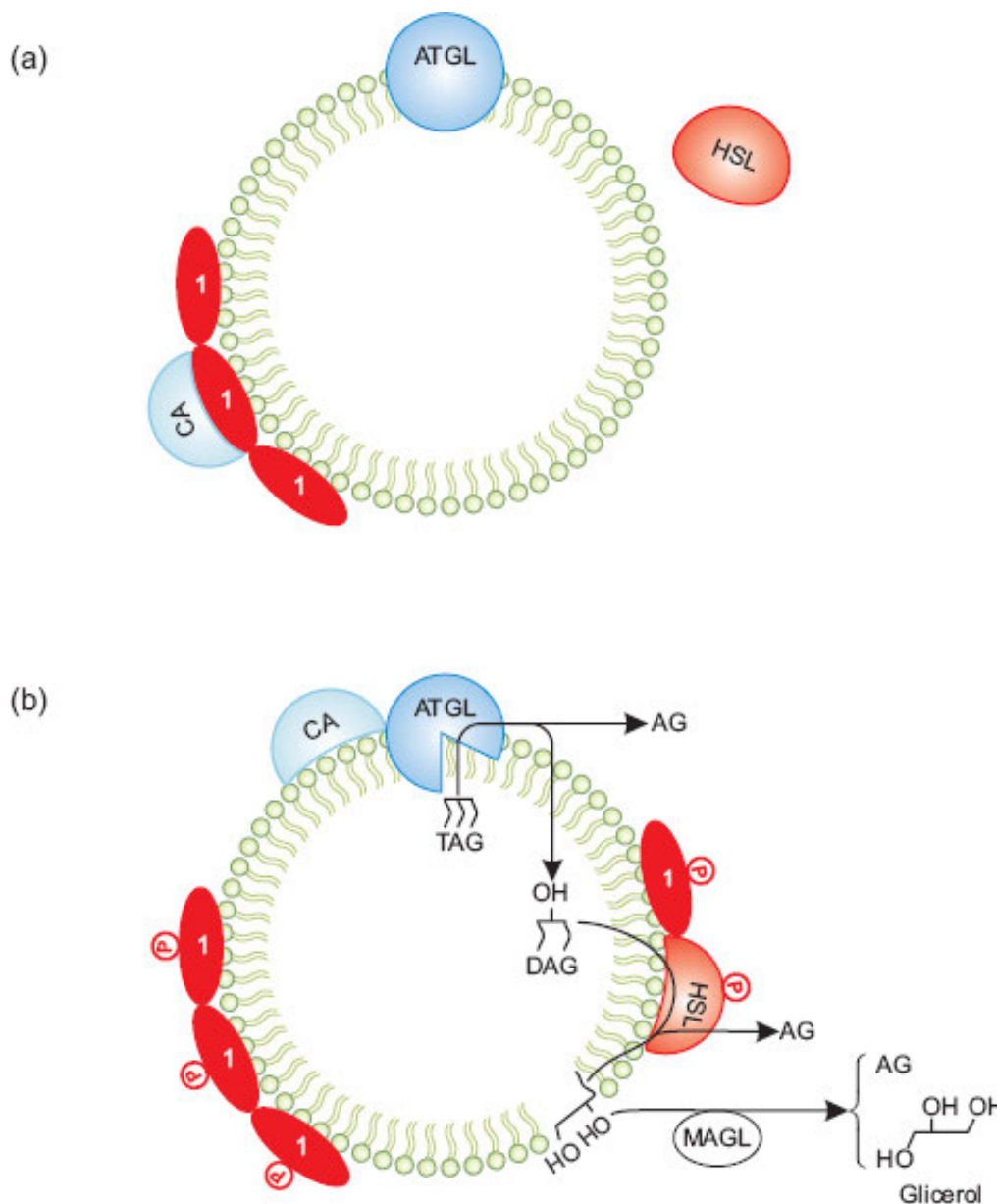
A utilização ou a recomposição do depósito de triacilgliceróis do tecido adiposo — a maior reserva energética dos mamíferos — ocorrem em condições de carência ou abundância de nutrientes, respectivamente, que desencadeiam processos reguladores diferentes. Variações das necessidades energéticas, que acontecem entre o esforço físico vigoroso e o estado de repouso, também determinam alteração no sentido do metabolismo dos triacilgliceróis. Os principais hormônios

que coordenam essas regulações são glucagon, adrenalina e insulina.

### A degradação de triacilgliceróis é desencadeada por glucagon e adrenalina e inibida por insulina

Os triacilgliceróis dos adipócitos de mamíferos localizam-se no interior de uma única grande gota citoplasmática, envolvida por proteínas, a mais abundante sendo a perilipina 1.

A hidrólise do triacilglicerol em três ácidos graxos e glicerol (Seção 16.1) ocorre em etapas sequenciais, catalisadas pela lipase de triacilgliceróis do adiposo (ATGL), a lipase hormônio-sensível (HSL) e a monoacilglicerol lipase (MAGL) (Figura 20.11). A mobilização da reserva de triacilgliceróis requer que as lipases possam acessar os seus substratos, encobertos pelas perilipinas. Estas proteínas coordenam a mobilização ou a reconstituição da reserva de lipídios, expondo ou encobrendo o núcleo de triacilgliceróis à ação das lipases.



**Figura 20.11** Lipólise na gota de lipídios dos adipócitos. a) Situação basal: a proteína coativadora (CA) da lipase de triacilgliceróis do adiposo (ATGL) encontra-se ligada à perilipina 1 (1) e a lipase hormônio-sensível (HSL) encontra-se dispersa no citosol. b) Estimulação por adrenalina: a PKA fosforila a perilipina 1, a proteína coativadora fica livre e associa-se com a ATGL, que catalisa a hidrólise dos triacilgliceróis (TAG) em ácido graxo (AG) e diacilglicerol (DAG). HSL, fosforilada pela PKA, é deslocada para a superfície da gota de lipídios, onde interage com a perilipina 1 fosforilada e hidrolisa diacilglicerol em ácido graxo e monoacilglicerol (MAG). Este é hidrolisado em ácido graxo e glicerol pela monoacilglicerol lipase (MAGL) que é solúvel no citosol.

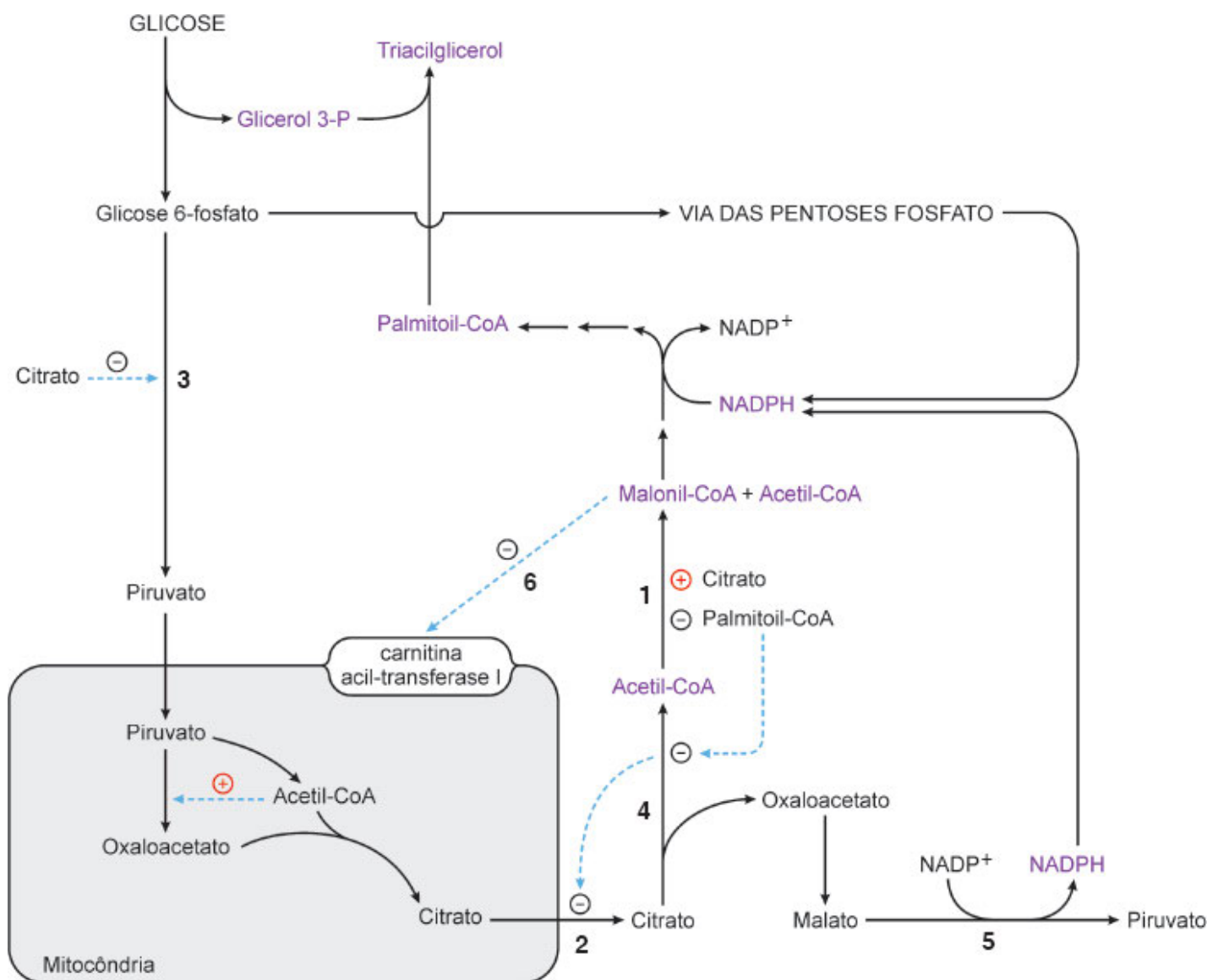
A lipólise sofre controle hormonal por glucagon e adrenalina, antagônico ao da insulina; os hormônios determinam a modificação estrutural da gota de lipídios e da atividade das lipases, por mecanismos não totalmente compreendidos.

Em condições de hipoglicemia, há liberação de glucagon e, na atividade física, de adrenalina. A interação destes hormônios com seus receptores nos adipócitos aciona a via de transdução de sinal da proteína quinase dependente de cAMP (PKA). A lipase de triacilgliceróis do adiposo (ATGL) torna-se ativa somente quando complexada com um

coativador proteico (CA). A perilipina 1, na forma desfosforilada, bloqueia a ligação do coativador à enzima, que fica inoperante; a fosforilação da perilipina 1 pela PKA causa a liberação do coativador que se associa com a ATGL, que passa a hidrolisar os triacilgliceróis. A lipase hormônio-sensível (HSL), dispersa no citosol, é também fosforilada e desloca-se para a superfície da gota de lipídios, onde se liga à perilipina 1 fosforilada e hidrolisa os diacilgliceróis produzidos por ação da ATGL. A monoacilglicerol lipase (MAGL) é ativa constitutivamente e completa a lipólise. Em resumo, as perilipinas, na forma desfosforilada, impedem que as lipases interajam com os triacilgliceróis; quando fosforiladas pela PKA, permitem essa interação e os triacilgliceróis são hidrolisados. Os ácidos graxos produzidos são liberados na corrente sanguínea, podendo suprir a demanda energética de músculos esqueléticos e cardíaco, e fígado. O aumento do nível de ácidos graxos no plasma promove a sua tomada por esses tecidos, aumentando a oferta de substratos para a  $\beta$ -oxidação. Esta via ocorre dentro da mitocôndria e é exatamente o transporte dos ácidos graxos para o interior dessa organela que determina a sua oxidação; no jejum, o transporte e a oxidação de ácidos graxos estão estimulados.

A insulina, liberada quando a glicemia é alta, sinalizando abundância de nutrientes, promove a desfosforilação das lipases e das perilipinas: as enzimas são inibidas e as perilipinas interpõem-se entre as lipases e os triacilgliceróis, resultando o armazenamento desses compostos. As respostas à insulina seriam devidas à ativação da fosfoproteína fosfatase 1 (PP-1), que passa a remover os grupos fosfato das proteínas, e da fosfodiesterase de cAMP, levando à diminuição do nível de cAMP; a insulina também estimula a síntese de lipídios.

### A atividade da acetil-CoA carboxilase é crucial para a síntese de ácidos graxos



**Figura 20.12** Síntese de ácidos graxos e triacilgliceróis a partir de glicose: visão geral das regulações alostéricas. As setas tracejadas azuis indicam regulações alostéricas, positivas (1) e negativas (-), e hormonais. Os números referem-se às etapas descritas no texto.

A síntese de ácidos graxos e, conseqüentemente, a de triacilgliceróis pelo fígado e adipócitos tem como ponto principal de regulação a formação de malonil-CoA a partir da acetil-CoA, catalisada pela *acetil-CoA carboxilase* (etapa 1



na Figura 20.12). A enzima de aves e mamíferos é constituída por dímeros cataliticamente inativos que, ao se associarem, formam a enzima polimérica ativa, um mecanismo pouco comum de regulação da atividade enzimática. A acetil-CoA carboxilase sofre regulação alostérica, que reflete o nível intracelular de efetadores, e regulação hormonal, que sinaliza as necessidades globais do organismo.

A polimerização das subunidades processa-se na presença de *citrato*. Os níveis citoplasmáticos de citrato elevam-se quando não pode ser oxidado pelo ciclo de Krebs, em virtude da inibição da *isocitrato desidrogenase* e da  *$\alpha$ -cetoglutarato desidrogenase*. É o que acontece quando a razão ATP/ADP celular é alta: o controle respiratório determina uma menor velocidade de oxidação de coenzimas pela cadeia de transporte de elétrons, havendo um acúmulo de NADH, o efetador alostérico negativo das duas enzimas. O citrato então acumulado é transportado pela *tricarboxilato translocase* (etapa 2 na Figura 20.12) da mitocôndria para o citosol, onde inibe a *fosfofrutoquinase 1* (etapa 3), estimula a acetil-CoA carboxilase e origina acetil-CoA citosólica por ação da *citrato liase* (etapa 4).

O acúmulo de citrato sinaliza a disponibilidade de energia e de precursores para a síntese de ácidos graxos, obtidos, nos seres humanos, a partir de carboidratos da dieta, principalmente.

O produto da via de síntese, *palmitoil-CoA*, tem efeito oposto ao citrato, despolimerizando e inativando a enzima; exerce um controle amplo sobre a síntese de ácidos graxos, por atuar como efetador alostérico negativo da acetil-CoA carboxilase e da citrato liase e inibir a tricarboxilato translocase.

NADPH, o agente da síntese de ácidos graxos, é fornecido pela via das pentoses e pela reação da enzima málica (etapa 5).

A acetil-CoA carboxilase é regulada por modificação covalente: sua fosforilação é acompanhada por dissociação nos protômeros inativos. Ela é fosforilada, e inibida, pela PKA e pela AMPK, as proteína quinases acionadas no jejum e no exercício. A insulina tem efeito oposto, determinando a desfosforilação e a estimulação da enzima. A regulação da citrato liase é homóloga à da glicogênio sintase: é fosforilada e inativada pela glicogênio sintase quinase-3 (GSK-3), que é bloqueada na presença de insulina. De todos estes modos, a insulina promove a síntese de ácidos graxos.

Nos vegetais e procaríotos, a acetil-CoA carboxilase não exhibe as regulações descritas para os mamíferos. A enzima de vegetais, localizada nos cloroplastos, é ativada por aumento do pH e da concentração de  $Mg^{2+}$  do estroma, obtidos sob incidência de luz. Nas bactérias, organismos que não armazenam triacilgliceróis, os ácidos graxos são utilizados fundamentalmente como precursores de lipídios estruturais de membrana: sua síntese é estimulada quando ocorre divisão celular.

### Durante a síntese de ácidos graxos, a sua degradação é impedida

A via da  $\beta$ -oxidação não é submetida a regulação alostérica ou modificação covalente. Seu funcionamento está subordinado ao suprimento de substrato, coenzima A,  $NAD^+$  e FAD, sendo que o fornecimento das coenzimas oxidadas depende da cadeia de transporte de elétrons.

A disponibilidade de substrato para a  $\beta$ -oxidação é função da atividade do sistema de transporte de grupos acila para o interior da mitocôndria, o compartimento celular onde ocorre a sua degradação. Quando a acetil-CoA carboxilase está ativada — em situações de abundância de carboidratos e de níveis altos de insulina — aumenta a concentração de malonil-CoA, que, além de ser substrato da síntese de ácidos graxos, exerce um papel regulador na degradação destes compostos. Malonil-CoA inibe a *carnitina acil transferase I* (etapa 6 na Figura 20.12), a enzima responsável pela introdução de radicais acila na mitocôndria. Esta inibição previne a entrada e a oxidação na mitocôndria dos ácidos graxos recém-sintetizados, pois, enquanto ocorre a síntese, os níveis citoplasmáticos de malonil-CoA permanecem elevados. No jejum, invertem-se os resultados das regulações.

### Outras ações da insulina estimulam a síntese de ácidos graxos e triacilgliceróis

A insulina, liberada no período absorptivo, atua na síntese de lipídios desde a entrada de glicose nas células até a transcrição de genes que codificam enzimas da via.

O estímulo do transporte de glicose para as células aumenta não só a oferta de precursores para a síntese de ácidos graxos, como também a de glicerol 3-fosfato, permitindo a esterificação dos ácidos graxos sintetizados. O tecido adiposo, responsável pelo armazenamento de triacilgliceróis, obtém glicerol 3-fosfato principalmente por redução de di-hidroxiacetona fosfato, proveniente da glicose percorrendo a via glicolítica, igualmente estimulada por insulina. Só dispondo de glicose, o adipócito pode sintetizar e armazenar triacilgliceróis. Com efeito, os carboidratos da dieta são a principal fonte de carbonos para a formação do depósito de triacilgliceróis nos seres humanos. No fígado, o glicerol 3-fosfato pode ser formado por redução de di-hidroxiacetona fosfato ou por fosforilação de glicerol pela glicerol quinase, enzima muito ativa neste órgão.

Além da acetil-CoA carboxilase, outras enzimas são estimuladas por insulina, levando a um aumento na síntese de lipídios: *complexo piruvato desidrogenase* (Seção 20.4) e *glicerol 3-fosfato acil transferase* (Seção 16.7).

A insulina induz a transcrição dos genes de diversas enzimas do metabolismo de triacilgliceróis, como a acetil-CoA carboxilase e a sintase de ácidos graxos. No jejum ou diabetes, estas ações são revertidas por glucagon.

### No jejum, o glucagon determina a degradação de triacilgliceróis e ácidos graxos


A regulação da lipólise nos adipócitos, descrita no início desta seção, determina a mobilização do depósito de triacilgliceróis em situações de jejum. Simultaneamente, no fígado, a síntese de ácidos graxos — já dificultada pela impossibilidade de produzir acetil-CoA a partir de glicose, devido à falta do açúcar e à inibição da glicólise e do complexo piruvato desidrogenase — é bloqueada pela inativação da acetil-CoA carboxilase. Como consequência, há diminuição da concentração de malonil-CoA e ativação da carnitina acil transferase I, o que possibilita o transporte dos grupos acila dos ácidos graxos para a matriz mitocondrial, onde podem ser oxidados.

Assim, no jejum, o ciclo da  $\beta$ -oxidação funciona ativamente, alimentado pelos ácidos graxos liberados do tecido adiposo. Adicionalmente, como a glicólise e o ciclo de Krebs estão desativados, por falta de substrato e por todos os mecanismos inibitórios então desencadeados, as coenzimas oxidadas pela cadeia de transporte de elétrons destinam-se exclusivamente ao ciclo de Lynen. A coenzima A utilizada por este ciclo provém da conversão de acetil-CoA a corpos cetônicos.

A acetil-CoA produzida na  $\beta$ -oxidação é desviada para a formação de corpos cetônicos, já que não pode ser quantitativamente oxidada pelo ciclo de Krebs, uma vez que o oxaloacetato está sendo sequestrado pela gliconeogênese estimulada por glucagon — a obtenção de ATP pelo fígado depende da oxidação, na fosforilação oxidativa, das coenzimas reduzidas na conversão de ácidos graxos a acetil-CoA pelo ciclo de Lynen. Deste modo, o glucagon, além de promover a manutenção da glicemia, provê o aporte de ácidos graxos e corpos cetônicos para satisfazer as necessidades energéticas dos tecidos que podem oxidá-los.

As sínteses de ácidos graxos e de triacilgliceróis, como já assinalado, ficam inibidas no jejum, devido aos efeitos do glucagon, antagônicos aos da insulina, sobre a atividade e a concentração de enzimas.

No estado diabético, o bloqueio da produção de ácidos graxos e o aumento de sua degradação estabelecem níveis plasmáticos aumentados destes compostos, que poderiam induzir resistência à insulina.

 **O controle global do metabolismo de lipídios depende da razão insulina/glucagon e está tratado no Capítulo 21.**

Término leitura  
lipídios

## 20.8 Regulação do metabolismo do colesterol

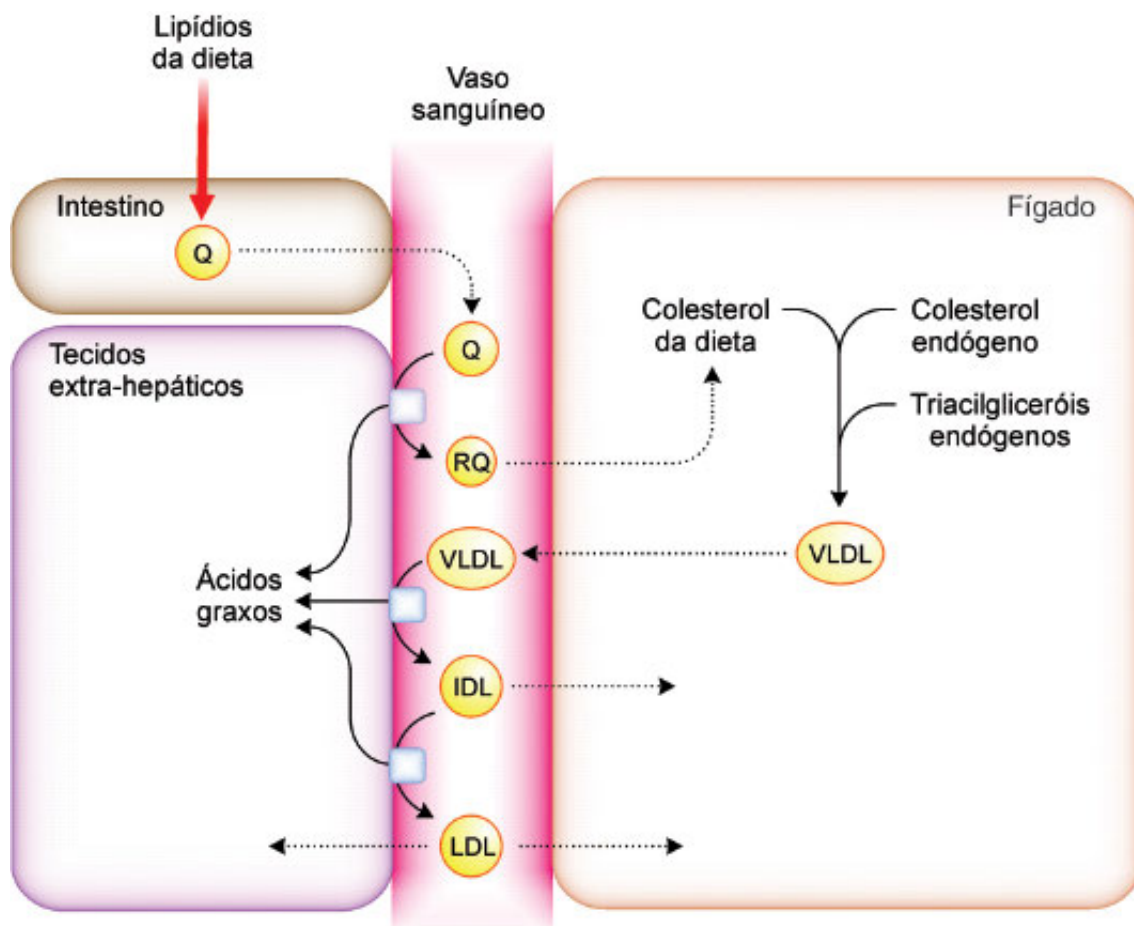
O colesterol é fundamental para os animais vertebrados. É um componente estrutural de membranas, e seus metabólitos, como sais biliares, hormônios esteroides e oxiesteroides desempenham funções biológicas importantes. A regulação da homeostase do colesterol celular e do organismo todo é essencial porque um excesso ou uma diminuição de colesterol podem ser danosos.

### As lipoproteínas plasmáticas encarregam-se da distribuição de colesterol aos tecidos e da sua remoção

O colesterol presente na maioria das células do organismo humano é obtido por síntese *de novo*, a partir de acetil-CoA, ou é fornecido por lipoproteínas plasmáticas. O colesterol transportado pelas lipoproteínas origina-se da síntese endógena, sobretudo no fígado e intestino delgado, ou dos alimentos.

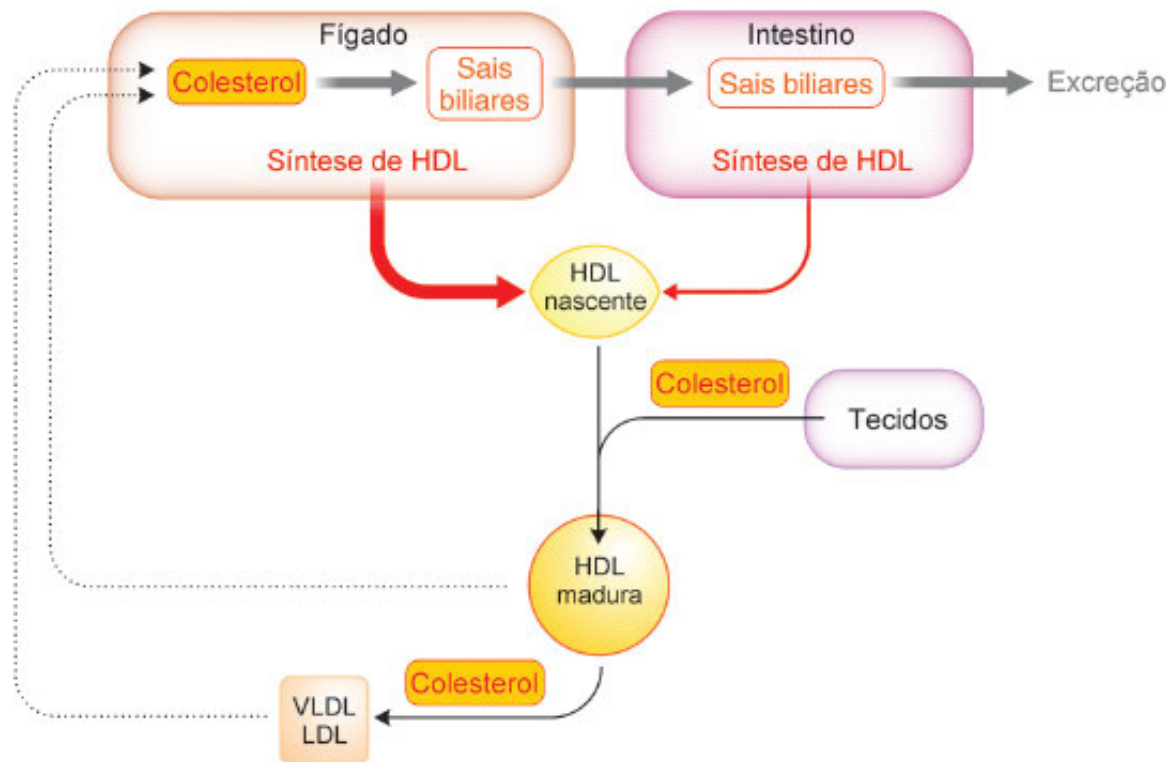
Os lipídios da dieta ganham a circulação sanguínea sob a forma de quilomícrons, sintetizados no intestino delgado (Figura 20.13). Nos tecidos extra-hepáticos, os triacilgliceróis componentes dos quilomícrons são hidrolisados pela lipase lipoproteica (Seção 16.1), fornecendo ácidos graxos e glicerol. Os remanescentes dos quilomícrons, então enriquecidos em colesterol, são retirados da circulação pelo fígado. Os quilomícrons são, então, responsáveis pela distribuição de triacilgliceróis aos tecidos extra-hepáticos e de colesterol ao fígado.

No período pós-prandial, o fígado sintetiza ativamente triacilgliceróis e colesterol, que se somam àqueles provenientes dos quilomícrons. Os triacilgliceróis e o colesterol que excedem as necessidades dos próprios hepatócitos são utilizados para a síntese das *VLDL*<sup>3</sup>, que são exportadas. À medida que estas lipoproteínas circulam pelos capilares que irrigam os tecidos extra-hepáticos, os triacilgliceróis delas componentes são hidrolisados pela lipase lipoproteica. Deste processo, resultam as *IDL*, enriquecidas em colesterol. Uma fração das *IDL* é captada pelo fígado e o restante, após outro ciclo de remoção de triacilgliceróis pelos tecidos periféricos, origina as *LDL*, as lipoproteínas plasmáticas que apresentam o maior teor de colesterol. As *LDL* constituem o principal veículo de colesterol no sangue: os tecidos, exceto fígado e intestino, obtêm a maior parte de seu colesterol exógeno a partir da endocitose de *LDL* (Seção 7.4.2).



**Figura 20.13** Transporte de lipídios aos tecidos pelas lipoproteínas plasmáticas. Os retângulos azuis voltados para o lúmen do vaso sanguíneo representam a lipase lipoproteica. Q: quilomícron; RQ: remanescente de quilomícron.

As *HDL* atuam no sentido oposto ao das *LDL*, removendo colesterol dos tecidos extra-hepáticos (Figura 20.14). São sintetizadas no fígado e, em menor extensão, no intestino delgado, como uma lipoproteína rica em proteína e contendo um teor relativamente baixo de colesterol: são as chamadas *HDL nascentes*. Elas ligam-se à superfície dos tecidos e o excesso de colesterol intracelular é transferido para a membrana plasmática e, em seguida, para o interior das *HDL*, como ésteres de colesterol. As *HDL* enriquecidas em colesterol, as *HDL maduras*, podem ser diretamente absorvidas pelo fígado, onde o colesterol pode ser transformado em sais biliares, que são excretados; adicionalmente, podem transferir o colesterol para outras lipoproteínas plasmáticas, *VLDL* e *LDL* principalmente, que também são absorvidas pelo fígado. Diz-se que as *HDL* efetuam o *transporte reverso de colesterol*, dos tecidos para o fígado, o único órgão capaz de eliminar colesterol. Como o organismo humano não sintetiza enzimas que degradem o núcleo esteroide, a conversão em sais biliares é a principal via de excreção de colesterol.



**Figura 20.14** Esquema simplificado da remoção de colesterol dos tecidos por HDL. As HDL são sintetizadas pelo fígado e intestino delgado como partículas discoides, as HDL nascentes. O excesso de colesterol dos tecidos é transferido, sob a forma de ésteres de colesterol, para as HDL nascentes, que se convertem em partículas esféricas, as HDL maduras. Estas podem transferir colesterol para outras lipoproteínas (VLDL e LDL) ou serem incorporadas pelo fígado, onde o colesterol excedente pode ser convertido em sais biliares e excretado. As outras partículas contendo alto teor de colesterol, VLDL e LDL, também são transferidas para o fígado, para excreção do colesterol.

### A concentração de colesterol regula a sua síntese

O teor de colesterol no plasma de um indivíduo sadio oscila dentro de um intervalo estreito. Esta homeostase é mantida, fundamentalmente, graças à modulação da síntese hepática exercida pelo conteúdo de colesterol intracelular e por ação hormonal. A enzima mais importante na regulação da via de síntese de colesterol é a *3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase* (*HMG-CoA redutase*). Concentrações elevadas de colesterol inibem a atividade da enzima e também a transcrição do gene que a codifica. A enzima é ainda regulada por modificação covalente: sua fosforilação e inativação é promovida por glucagon; a insulina determina sua desfosforilação e ativação. Mecanismos acionados em condições de alto conteúdo de colesterol alteram a expressão de outros genes:

1. Repressão do gene do *receptor de LDL*. As LDL penetram nas células por endocitose, iniciada pela ligação da lipoproteína a seu receptor presente na membrana plasmática. Sendo assim, uma diminuição do número de receptores de LDL propicia uma redução no aporte de colesterol para as células.
2. Indução de genes envolvidos no *transporte reverso de colesterol*, o transporte do excesso de colesterol dos tecidos periféricos para o fígado na forma de HDL, cujo nível aumenta.
3. Indução de genes relacionados com a *excreção de colesterol*, por exemplo, genes de enzimas reguladoras da via de síntese de sais biliares, propiciando a conversão de colesterol em sais biliares, equivalente à sua excreção.

Assim, quando a concentração de colesterol se eleva, a síntese e a tomada pelas células são suprimidas e a remoção e a excreção deste composto, estimuladas. Estes efeitos são devidos aos *oxiesteroides*, esteroides derivados do colesterol por incorporação de oxigênio na cadeia lateral. Os sensores dos níveis elevados de oxiesteroides, que refletem aqueles de colesterol, são os receptores nucleares LXR (de *Liver X Receptors*). A interação com os oxiesteroides leva à ativação destes receptores, que ativam ou reprimem a expressão gênica por ligarem-se a regiões reguladoras dos genes-alvo e atuarem em conjunto com coativadores ou corepressores.

A inibição da síntese de receptores de LDL, ocasionando uma menor incorporação celular de LDL-colesterol, tem como consequência o aumento da sua concentração no sangue (*hipercolesterolemia*). A importância do número de receptores de LDL no controle do nível plasmático de colesterol é evidenciada por uma doença hereditária, a *hipercolesterolemia familiar*, caracterizada pela ausência de receptores funcionais e por concentrações muito elevadas de colesterol plasmático.

## A aterosclerose correlaciona-se com níveis aumentados de colesterol plasmático

A hipercolesterolemia promove o desenvolvimento de *aterosclerose*. Esta doença é devida a distúrbios no metabolismo de lipídios e à instalação de um processo inflamatório crônico na parede das artérias. Caracteriza-se pela deposição de lipídios — especialmente colesterol e ésteres de colesterol — na camada interna da parede de artérias, formando placas, denominadas *ateromas*<sup>4</sup>. A consistência inicial dos ateromas é pastosa, podendo evoluir para placas fibrosas e calcificadas. Estas lesões determinam um estreitamento de artérias e desencadeiam a formação de coágulos, que podem levar à sua oclusão. Resulta o bloqueio da irrigação do tecido em questão (isquemia) e a sua morte, devido à interrupção do aporte de oxigênio e de nutrientes e, conseqüentemente, da produção de energia. Isto é o que acontece no infarto do miocárdio. A aterosclerose é o tipo mais frequente de *arteriosclerose* (esclerose de artérias). A arteriosclerose é a principal causa de doenças cardiovasculares — coronariopatias, acidentes vasculares cerebrais (derrames), embolia pulmonar, trombose de artérias das extremidades (resultando em gangrena) etc. —, que constituem a principal causa de morte nos países desenvolvidos.

A ocorrência de aterosclerose não depende diretamente do teor total de colesterol plasmático, mas sim, da concentração da fração de LDL-colesterol. Por outro lado, há uma correlação negativa com o nível de HDL-colesterol, que tem um efeito protetor contra a aterosclerose. Estas constatações são coerentes com as funções exercidas pelos dois tipos de lipoproteínas plasmáticas: as LDL *fornecem* colesterol aos tecidos e as HDL *removem* o excesso de colesterol das células, que, depois de transportado para o fígado, pode ser excretado. O LDL-colesterol e o HDL-colesterol costumam ser chamados de “mau” e “bom” colesterol, respectivamente. Esta denominação refere-se, é óbvio, ao papel desempenhado pelos dois tipos de lipoproteínas, já que a molécula de colesterol é sempre a mesma. As HDL, além de efetuarem o transporte reverso de colesterol, exercem uma potente ação anti-inflamatória, importante nas disfunções metabólicas associadas a processos inflamatórios, como o diabetes. Doenças caracterizadas por níveis elevados e crônicos de LDL, como o diabetes, costumam estar associadas a aterosclerose. Mas, o exemplo mais dramático é a hipercolesterolemia familiar: os homocigotos apresentam concentração plasmática de LDL cerca de cinco vezes maior que o normal e a maioria morre de infarto do miocárdio na infância.

## A predisposição genética tem influência decisiva na concentração do LDL-colesterol

Atualmente, acredita-se que o patrimônio genético de um indivíduo é o principal responsável pelo seu perfil de lipoproteínas plasmáticas e, conseqüentemente, pela possibilidade de desenvolver aterosclerose. Além dos portadores de defeitos genéticos relativamente raros, como a hipercolesterolemia familiar, uma parcela significativa da população dos países industrializados apresenta uma predisposição genética para o desenvolvimento de aterosclerose e doenças cardiovasculares. Todavia, diversos outros fatores, que poderiam ser chamados de “ambientais”, interferem no nível de colesterol plasmático.

A quantidade e o tipo de lipídios da dieta têm influência fundamental sobre a concentração do colesterol sanguíneo e a sua distribuição nas lipoproteínas plasmáticas. A hipercolesterolemia pode ser desencadeada por ingestão excessiva de lipídios. A redução do teor de colesterol da dieta tem um efeito parcial, devido à estimulação concomitante da sua síntese endógena. As gorduras saturadas e as gorduras *trans* têm efeito hipercolesterolêmico e a sua substituição por gorduras contendo ácidos graxos mono ou poli-insaturados é extremamente benéfica na redução do colesterol do organismo. Os efeitos dos ácidos graxos sobre a colesterolemia e as suas fontes dietéticas encontram-se na Seção 18.2.4. As bases moleculares da atuação dos diferentes tipos de ácidos graxos ainda não são inteiramente compreendidas, mas é sabido que a intervenção dietética mais importante para estabelecer níveis recomendados de colesterol plasmático é reduzir o teor de ácidos graxos saturados e ácidos graxos *trans* da dieta.

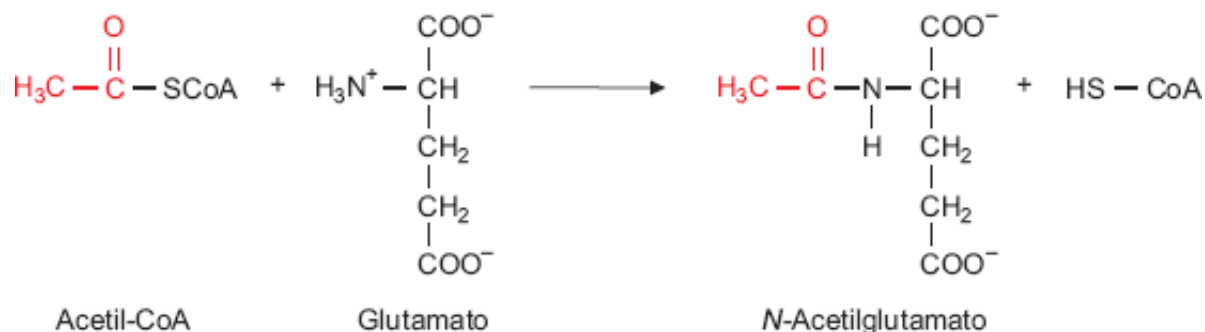
Quando alterações na dieta não são suficientes para a normalização do colesterol plasmático, utilizam-se terapias medicamentosas, que visam (1) reduzir a síntese endógena de colesterol, (2) aumentar a sua excreção como sais biliares ou (3) diminuir a sua absorção. No primeiro caso, empregam-se inibidores competitivos da HMG-CoA redutase, como as *estatinas*, que são metabólitos de fungos; no segundo caso, resinas positivamente carregadas (*colestiramina*, por exemplo), que, por ligarem-se aos sais biliares (negativamente carregados), impedem a sua reabsorção intestinal, intensificando a conversão de colesterol em sais biliares, ou seja, a sua excreção; no terceiro caso, inibidores da absorção de colesterol do lúmen do intestino delgado, como o *ezetimibe*. Tais terapias visam reduzir a concentração de colesterol, para estimular a síntese de receptores de LDL e, conseqüentemente, a maior tomada destas partículas pelo fígado, principalmente. Nos casos da utilização de fármacos inibidores da absorção de sais biliares ou de colesterol, os resultados obtidos são limitados, porque a diminuição do nível de colesterol estimula a sua síntese; somente a adoção conjunta destes fármacos com inibidores da síntese de colesterol propicia redução significativa da colesterolemia.

A qualidade de vida do indivíduo é, ainda, decisiva na prevenção da aterosclerose, que tem sido frequentemente associada ao estresse emocional, sedentarismo, obesidade etc.



A quantidade de ureia excretada por um indivíduo hígido aumenta significativamente em uma situação pouco usual, que é a ingestão de dieta com alto teor de proteína. A degradação dos aminoácidos excedentes origina os respectivos  $\alpha$ -cetoácidos, que são convertidos em triacilgliceróis, e os grupos amino, que são eliminados como ureia. Nesta condição, há indução da síntese das enzimas do ciclo da ureia e da carbamoil-fosfato sintetase I, que podem ter suas concentrações elevadas de 10 a 20 vezes.

A síntese de ureia é submetida a regulação alostérica: a carbamoil-fosfato sintetase I é estimulada por *N*-acetilglutamato, um composto produzido a partir de acetil-CoA e glutamato:



A reação é catalisada pela *N*-acetilglutamato sintase, que é ativada por *arginina*. Se a produção de ureia não ocorrer em velocidade adequada para eliminar a amônia gerada no catabolismo de aminoácidos, acumulam-se intermediários do ciclo da ureia, dentre os quais, *arginina*. Graças à sua atuação como efetador alostérico, este aminoácido provoca um aumento da concentração de *N*-acetilglutamato, que, por sua vez, estimula a carbamoil-fosfato sintetase I. Deste modo, a *arginina* permite adequar a velocidade de formação de amônia à sua conversão em ureia.

## Bibliografia

- Chaves VE *et al.*: Several agents and pathways regulate lipolysis in adipocytes. *Biochimie* **93** (10): 1631-1640, 2011.
- Czech MP *et al.*: Insulin signalling mechanisms for triacylglycerol storage. *Diabetologia* **56** (5): 949-964, 2013.
- Grininger M: Perspectives on the evolution, assembly and conformational dynamics of fatty acid synthase type I (FAS I) systems. *Curr Opin Struct Biol* **25**: 49-56, 2014.
- Hong C, Tontonoz P: Liver X receptors in lipid metabolism: opportunities for drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* **13** (6): 433-444, 2014.
- Jeong JY *et al.*: Transcriptional regulation of pyruvate dehydrogenase kinase. *Diabetes Metab J* **36** (5): 328-335, 2012.
- Krebs EG, Beavo JA: Phosphorylation-dephosphorylation of enzymes. *Annu Rev Biochem* **48**: 923-959, 1979.
- Liangyou R: Energy metabolism in the liver. *Compr Physiol* **4** (1): 177-197, 2014.
- Marcolongo P *et al.*: Multiple roles of glucose-6-phosphatases in pathophysiology: state of the art and future trends. *Biochim Biophys Acta* **1830** (3): 2608-2618, 2013.
- Morris SM Jr: Regulation of enzymes of the urea cycle and arginine metabolism. *Annu Rev Nutr* **22**: 87-105, 2002.
- Novellademunt L *et al.*: Akt-dependent activation of the heart 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase (PFKFB2) isoenzyme by amino acids. *J Biol Chem* **288** (15): 10640-10651, 2013.
- Nunes-Nesi A *et al.*: Regulation of the mitochondrial tricarboxylic acid cycle. *Curr Opin Plant Biol* **16** (3): 335-343, 2013.
- Ramzan R *et al.*: Mitochondrial respiration and membrane potential are regulated by the allosteric ATP-inhibition of cytochrome *c* oxidase. *Biochim Biophys Acta* **1797** (9): 1672-1678, 2010.
- Rovira J *et al.*: Upregulation of heart PFK-2/FBPase-2 isozyme in skeletal muscle after persistent contraction. *Eur J Physiol* **463**: 603-613, 2012.
- Schwartz MW *et al.*: Cooperation between brain and islet in glucose homeostasis and diabetes. *Nature* **503**: 59-66, 2013.
- Stenvinkel P *et al.*: Hibernating bears (Ursidae) — metabolic magicians of definite interest for the nephrologist. *Kidney Int* **83** (2): 207-212, 2013.
- Tong L: Structure and function of biotin-dependent carboxylases. *Cell Mol Life Sci* **70** (5): 863-891, 2013.
- Wu LE, Sinclair DA: SIRT2 controls the pentose phosphate switch. *EMBO J* **33** (12): 1287-1288, 2014.

---

<sup>1</sup>Cerca de 90% dos resíduos de glicose do glicogênio são removidos como *glicose 1-fosfato*, por fosforólise catalisada pela glicogênio fosforilase e 10% como *glicose*, por hidrólise promovida pela enzima desramificadora (Seção 13.1).

<sup>2</sup>A *hexoquinase IV*, a isoenzima predominante em hepatócitos e células  $\beta$  do pâncreas, é inadequadamente chamada de *glicoquinase*, já que não é específica para glicose. Porém, devido ao seu uso consagrado, esta segunda denominação será mantida neste texto.

<sup>3</sup>A nomenclatura e a composição das lipoproteínas plasmáticas estão apresentadas na Tabela 6.3 (Seção 6.2.7).

<sup>4</sup>A denominação *ateroma* deriva da palavra grega *athere*, que significa pastoso, seguida do sufixo *oma*, porque, quando as placas foram descobertas, acreditava-se serem formações tumorais.

# 19 Estratégias de Regulação do Metabolismo

A estabilidade da massa corpórea e do aspecto geral de um indivíduo adulto e sadio esconde as grandes flutuações diárias de seu metabolismo. De fato, a ingestão periódica de alimentos submete o organismo humano a situações opostas que se alternam: abundância e escassez de nutrientes. A adaptação a esta variação deriva de sistemas reguladores capazes, não só de reconhecer a situação nutricional vigente, como de responder apropriadamente a ela. Após uma refeição, as moléculas absorvidas são convertidas em compostos de reserva, utilizados nos períodos de jejum, além de seguirem outros destinos metabólicos. A glicose, por exemplo, poderá ser oxidada a  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ , mas poderá também gerar o esqueleto de carbono de aminoácidos não essenciais, ser polimerizada a glicogênio ou ser convertida a gordura.

As vias metabólicas não funcionam sempre com a mesma velocidade. Ao contrário, cada via será acionada com intensidade variada, segundo a situação fisiológica considerada, que depende não apenas de estados nutricionais diferentes, mas, também, de demandas energéticas diferentes, como no repouso ou sob exercício vigoroso. A adequação do metabolismo às diferentes condições fisiológicas é obtida graças a processos que, em conjunto, são chamados de *regulação metabólica*. Os eventos de regulação não são isolados; cada um deles atua como um gerador primário de sinais, captados por geradores secundários, capazes de retransmiti-los até atingir toda a rede metabólica e repercutir, à distância, em outros órgãos. A complexidade do processo é enorme, mas justifica-se por permitir um ajuste sensívelíssimo do metabolismo a diferentes situações, propiciando uma resposta pronta e logicamente organizada.

Diante desta complexidade, *a regulação metabólica é descrita nas seguintes etapas:*

- 1ª) **Estratégias** de que o organismo dispõe para regular o metabolismo — este capítulo (Capítulo 19)
- 2ª) **Regulação das vias metabólicas** apresentadas na *Parte 3 | Metabolismo: Vias Principais*, Capítulo 20
- 3ª) **Regulação metabólica integrada** — Capítulo 21. Os dados recolhidos em cada uma das vias são combinados para descrever a regulação metabólica integrada, frente a situações escolhidas como exemplos: abundância e escassez de nutrientes, e diabetes. Esta descrição compreende o metabolismo de alguns órgãos e a influência dos hormônios considerados mais relevantes
- 4ª) **Contração muscular** — Capítulo 22. São analisadas as fontes de energia utilizadas pelo organismo para o exercício e as adaptações do metabolismo a esta situação.

Invariavelmente a regulação metabólica é feita por interferência em determinadas reações químicas que compõem o metabolismo, aumentando ou diminuindo sua velocidade. O resultado imediato desta alteração de velocidade é o aumento da oferta de substratos para as reações subsequentes ou o acúmulo de metabólitos, o que, indiretamente, irá afetar outras reações relacionadas. Assim, o efeito é propagado para todas as vias metabólicas.

As formas mais decisivas de interferir na velocidade de uma reação catalisada são, naturalmente, alterar a *concentração* ou a *eficiência* do seu catalisador.

## 19.1 Alteração da concentração de enzimas

No caso das reações biológicas, o catalisador — a enzima — é produzido pelas próprias células e sua concentração pode ser alterada por variação na velocidade de sua síntese ou na velocidade de sua degradação. Este é um mecanismo de regulação a longo prazo, manifestando-se em tempos da ordem de horas ou dias. O controle da síntese de enzimas é exercido, basicamente, sobre a transcrição do gene que codifica a enzima: pode ser ativada ou inibida, levando à indução ou à repressão da síntese da enzima, respectivamente. A regulação da transcrição gênica é complexa, podendo ser exercida por fatores que vão desde a concentração do substrato sobre o qual a enzima atua, até hormônios específicos. Por exemplo, uma dieta rica em carboidratos provoca aumento da expressão de genes que codificam enzimas da glicólise. Estas alterações, em alguns casos, resultam de interação da própria glicose com sequências reguladoras dos promotores dos



genes e, em outros, são devidas à atuação de efetores ativados nas vias de sinalização da insulina (Seção 19.4), cuja secreção é estimulada por glicose.

A velocidade de degradação de uma enzima também sofre controle rigoroso, embora pouco conhecido. O tempo de permanência das enzimas nas células varia, ou seja, têm meias-vidas diferentes (Tabela 17.1, Seção 17.1). Em geral, as enzimas que catalisam reações-chave do metabolismo têm meias-vidas curtas.

Esta contínua síntese e degradação proteica deve ser entendida como um processo de adaptação do metabolismo, que permite drenar o fluxo metabólico em uma ou outra direção, de acordo com as condições fisiológicas prevalecentes. Tais desvios seriam dificultados se a concentração das enzimas permanecesse constante em qualquer condição.

Ao longo dos capítulos subsequentes, são apresentados muitos exemplos de mudanças do conteúdo celular de enzimas, que constituem respostas do organismo a situações fisiológicas diversas. A Tabela 21.1 (Seção 21.1) contém um resumo de enzimas importantes cuja síntese é passível de indução.

## 19.2 Alteração da atividade das enzimas

Além da alteração na concentração da enzima, outro nível de regulação manifesta-se a curto prazo, em tempos da ordem de segundos ou minutos. Mesmo quando a concentração de uma enzima é mantida constante, a velocidade da reação que ela catalisa pode ser aumentada ou diminuída como resultado de mudanças conformacionais da própria enzima, provocadas por ligação de compostos ou grupos à cadeia polipeptídica. Esta ligação pode ser do tipo não covalente (*regulação alostérica*) ou do tipo covalente (*regulação por modificação covalente*). A regulação alostérica da atividade das enzimas depende da concentração celular de compostos que são claros indicadores das condições metabólicas da célula. A regulação por modificação covalente está sob influência indireta da ação hormonal, que coordena a resposta do organismo como um todo. O alvo destas regulações são enzimas-chave presentes nas vias metabólicas, as *enzimas reguladoras*, cuja atividade é decisiva para o funcionamento de toda a via.

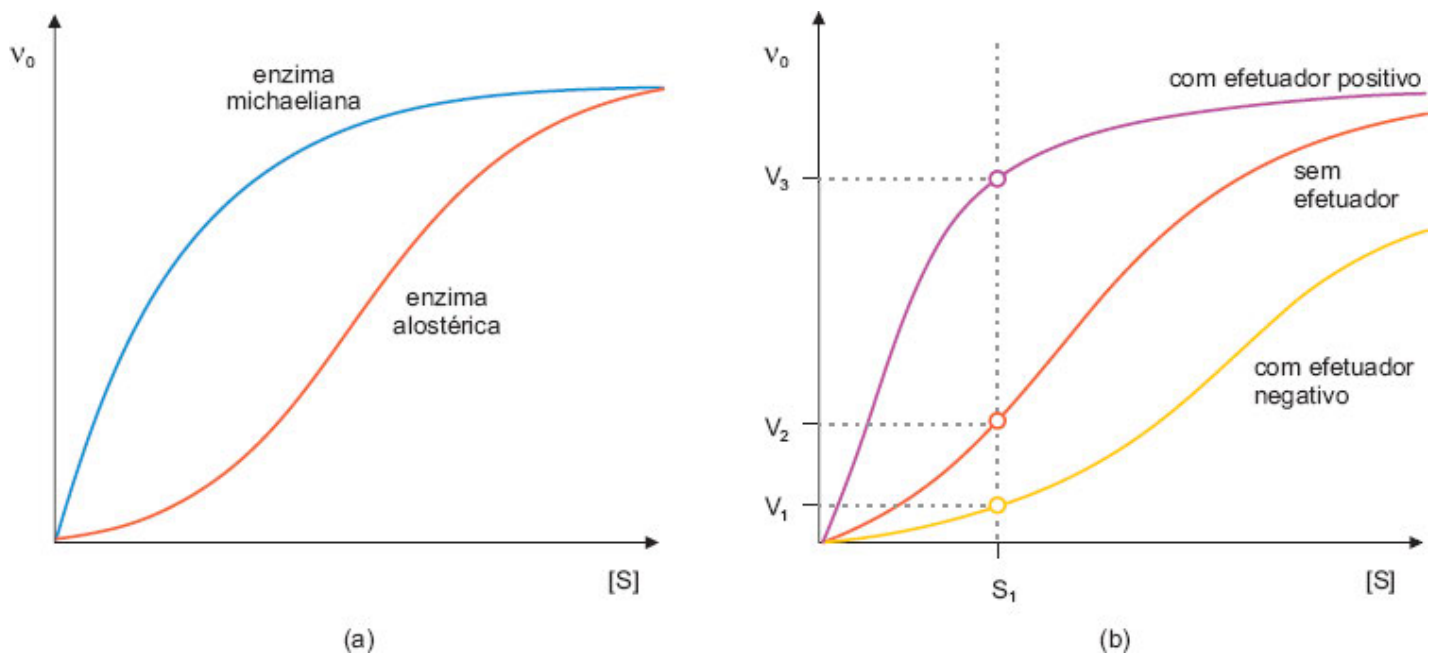
As regulações alostérica e por modificação covalente têm seus princípios gerais descritos a seguir.

### 19.2.1 Regulação alostérica

As enzimas reguladas por modificação não covalente são chamadas *alostéricas*. Este tipo de enzima é encontrado em quase todas as vias metabólicas, catalisando geralmente uma reação irreversível localizada no início da via. Estruturalmente, são proteínas oligoméricas, com um sítio ativo em cada cadeia polipeptídica. A ligação do substrato ao sítio ativo de uma subunidade afeta a conformação das demais, facilitando a ligação das moléculas de substrato aos outros sítios ativos. A cooperatividade estabelecida entre os sítios catalíticos é evidenciada pela cinética da catálise: o gráfico de velocidade da reação em função da concentração de substrato é uma *curva sigmoide*, em vez da *curva hiperbólica* de Michaelis-Menten (Figura 19.1 a). Trata-se do mesmo tipo de cooperatividade, exibida por uma curva sigmoide, encontrada na ligação do oxigênio à hemoglobina, também uma proteína oligomérica, com um sítio de ligação para o oxigênio, o grupo heme, em cada subunidade. Em contraposição, a ligação do oxigênio à mioglobina, uma proteína monomérica, com um único grupo heme, segue uma cinética hiperbólica, como a das enzimas michaelianas, que apresentam, geralmente, uma única cadeia polipeptídica, com um só sítio ativo. Mesmo enzimas oligoméricas podem apresentar cinética michaeliana, desde que não exista efeito cooperativo entre suas subunidades.

As enzimas alostéricas são sensíveis reguladores do metabolismo graças à possibilidade de ligarem-se a determinados metabólitos, o que provoca grandes alterações de sua atividade. Estes metabólitos, os *efetadores* ou *moduladores alostéricos*, são chamados *positivos* (*ativadores alostéricos*) ou *negativos* (*inibidores alostéricos*), segundo provoquem aumento ou redução da velocidade da reação catalisada (Figura 19.1 b). O efetador alostérico liga-se a um nicho específico da estrutura tridimensional da enzima, chamado *centro* ou *sítio alostérico*, que é tão específico para o efetador quanto o sítio ativo é para o substrato.

As enzimas alostéricas caracterizam-se por apresentarem duas conformações espaciais diferentes e interconvertíveis, com alta ou baixa afinidade pelo substrato. O efeito dos efetadores alostéricos pode ser explicado por sua ligação preferencial a uma das formas, muito ativa ou pouco ativa, da enzima. Como esta ligação estabiliza a enzima em uma dada forma, os efetadores alostéricos atuam como ativadores ou inibidores da reação enzimática.



**Figura 19.1** a) Gráfico da velocidade de reação em função da concentração de substrato para uma enzima alostérica e para uma enzima michaeliana. A curva sigmoideal exibida pela enzima alostérica é o reflexo da cooperatividade apresentada pelas suas subunidades; as enzimas monoméricas, michaelianas, têm cinética hiperbólica. b) Cinética da reação catalisada por uma enzima alostérica na presença e na ausência de efetadores alostéricos. Com igual concentração de substrato ( $S_1$ ), a velocidade da reação varia dependendo da presença de efetadores.

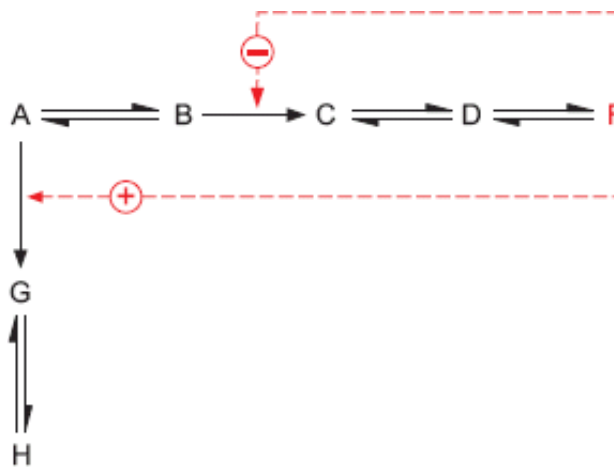
Como a ligação dos efetadores à enzima é não covalente e reversível, o percentual de enzima que se encontra na forma ativa ou inativa depende da concentração do efetador alostérico. Considere-se o esquema simplificado de ligação de uma enzima alostérica a seu efetador:



Em uma situação fisiológica em que a concentração do efetador alostérico negativo é baixa, praticamente todas as moléculas de enzima estarão ativas; à medida que a concentração do efetador aumenta, percentuais crescentes de enzima estarão a ele ligados e, então, inativos. Quando o inibidor alostérico, que é um produto do metabolismo, for consumido por outra reação celular e sua concentração decrescer, percentuais cada vez maiores de enzima voltarão à forma ativa.

Uma mesma enzima alostérica pode ser regulada por efetadores alostéricos positivos e negativos, que poderão estar presentes em diferentes concentrações. A velocidade da reação que ela catalisa poderá variar em uma larga faixa: a menor velocidade será obtida na presença de concentrações altas do efetador negativo, e a maior velocidade, na presença de grandes concentrações do efetador positivo. Desta forma, *para uma mesma concentração de substrato e mesma concentração de enzima*, a velocidade da reação catalisada por uma enzima alostérica pode apresentar grande variação. Notem-se, na Figura 19.1 b, os valores diferentes de velocidade ( $v_1$ ,  $v_2$ ,  $v_3$ ), obtidos com a concentração  $S_1$  de substrato.

Nas vias metabólicas é frequente que um produto final atue como efetador alostérico negativo de uma enzima alostérica que catalisa uma das primeiras reações da via (Figura 19.2). Quando a concentração celular deste produto aumenta, sua atuação como inibidor alostérico faz diminuir a velocidade da via, restringindo sua própria produção. Este é o mecanismo conhecido como *inibição por feedback* ou *retroinibição*. À medida que o metabólito é consumido por outras seqüências metabólicas e sua concentração diminui, percentuais crescentes de enzima voltam à forma ativa, aumentando a velocidade da via. A participação da enzima reguladora em uma etapa inicial da via é estratégica, constituindo um fator de economia celular, por impedir o acúmulo indevido de compostos intermediários que poderiam interferir de modo negativo sobre outras vias. Muitas vezes, o produto final de uma via atua também como efetador alostérico positivo em outra via metabólica que utiliza o mesmo substrato inicial. Naturalmente, a regulação desta segunda via irá interferir em uma terceira via, e assim por diante. O resultado final desta série de interferências é o rigoroso ajuste da produção de cada composto ao seu consumo e o funcionamento harmônico e coordenado das reações que compõem o metabolismo.



**Figura 19.2** Regulação alostérica de duas vias metabólicas hipotéticas. O composto F é efetador alostérico negativo da enzima que catalisa a conversão de B em C e efetador alostérico positivo da enzima que converte A em G — a oferta de A resulta em síntese aumentada de H.

### Algumas coenzimas são efetadores alostéricos importantes

A função de modulador alostérico não é exercida apenas por compostos intermediários do metabolismo, sendo muito frequente que coenzimas também desempenhem este papel. Uma coenzima pode participar de uma reação exercendo o seu papel precípua de coenzima, ligando-se ao sítio ativo da enzima ou atuar como efetador alostérico de outra enzima, ligando-se ao sítio alostérico e alterando a velocidade da reação — o NADH, além de ser uma coenzima transportadora de hidrogênio, atua como efetador alostérico de enzimas do ciclo de Krebs regulando a velocidade do ciclo. Casos mais complexos ocorrem quando a coenzima de uma reação atua como inibidor alostérico da enzima que catalisa a reação, sendo reconhecida tanto pelo sítio ativo como pelo sítio alostérico. O exemplo clássico é o ATP na reação catalisada pela fosfofrutoquinase 1. Este caso constitui um aparente paradoxo, pois a ligação da coenzima ao sítio alostérico impediria sua ligação ao sítio ativo, inviabilizando a reação. Na realidade, a afinidade da coenzima pelo sítio ativo é muito maior do que pelo sítio alostérico. Em baixas concentrações da coenzima, a ligação com o sítio ativo é favorecida; em altas concentrações, a ligação com o sítio alostérico torna-se possível e a reação passa a ser inibida.

A Tabela 19.1 alista as enzimas alostéricas mais relevantes e seus principais efetadores positivos e negativos.

**Tabela 19.1** Enzimas alostéricas e seus efetadores.

Enzima	Efetadores alostéricos	
	Negativos	Positivos
Fosfofrutoquinase 1	ATP, Citrato	AMP, Frutose 2,6-bisfosfato
Frutose 1,6-bisfosfatase	Frutose 2,6-bisfosfato	
6-Fosfofruto-2-quinase	Fosfoenolpiruvato	
Frutose 2,6-bisfosfatase	Frutose 6-fosfato	Fosfoenolpiruvato
Piruvato quinase	Alanina	Frutose 1,6-bisfosfato
Piruvato carboxilase		Acetil-CoA
Piruvato desidrogenase	Acetil-CoA, NADH	Piruvato
Isocitrato desidrogenase	NADH	ADP
$\alpha$ -Cetoglutarato desidrogenase	Succinil-CoA, NADH, ATP	
Carnitina acil transferase I	Malonil-CoA	
Citrato liase	Acil-CoA	
Acetil-CoA carboxilase	Acil-CoA	Citrato

As coenzimas, mesmo quando não agem como efetadores alostéricos, podem determinar a velocidade das reações das quais participam em função de sua concentração. Em cada reação a coenzima é utilizada em quantidade

estequiometricamente equivalente à do substrato e, como as concentrações celulares das coenzimas são muito inferiores às dos substratos, elas são limitantes da velocidade da reação. A ação contínua das coenzimas é viabilizada pelo fato de oscilarem constantemente entre suas duas formas possíveis: NAD<sup>+</sup> e NADH, ATP e ADP etc. As mesmas coenzimas participam de vias metabólicas diferentes, algumas das quais consomem a forma oxidada da coenzima, e outras, a forma reduzida. É o caso do ciclo de Krebs, que utiliza a forma oxidada de NAD<sup>+</sup> e FAD e produz as respectivas formas reduzidas; em contrapartida, a cadeia de transporte de elétrons recebe as coenzimas reduzidas e oxida-as. Estas vias podem, então, trabalhar em associação utilizando uma pequena quantidade de coenzimas, reciclando-as permanentemente. É também o que ocorre com a via das pentoses-fosfato e a síntese de ácidos graxos. O NADPH, a forma predominante da coenzima no citosol, inibe as desidrogenases da via das pentoses-fosfato; somente quando processos de sínteses redutoras, como a síntese de ácidos graxos, fazem diminuir a concentração citosólica de NADPH e aumentar a de NADP<sup>+</sup>, as desidrogenases e, por consequência, a via das pentoses podem funcionar.

Tendo em vista que a soma das concentrações celulares das duas formas de uma coenzima — (NAD<sup>+</sup> + NADH), (ATP + ADP) etc. — é constante, o aumento da concentração de uma das formas é sempre acompanhado pela diminuição da outra forma. Adicionalmente, a proporção entre as duas formas varia com o compartimento celular.

As coenzimas constituem indicadores sensíveis da fisiologia celular, e pequenas alterações na concentração de uma de suas formas são imediatamente percebidas pelas reações que se processam naquele compartimento celular e, subsequentemente, pelos ciclos metabólicos de outros compartimentos. Quando, por exemplo, a fibra muscular executa contração intensa, com um aporte insuficiente de oxigênio, o aumento da concentração mitocondrial de NADH é refletido no citosol, desviando a reação catalisada pela lactato desidrogenase no sentido da formação de lactato, regenerando NAD<sup>+</sup> (Seção 9.1.1).

### A localização intracelular aprimora o controle da atividade de enzimas

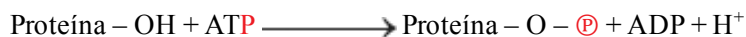
Nas células eucarióticas, a existência de organelas propicia uma forma adicional de controle enzimático. Uma enzima pode ser expressa em dois compartimentos celulares diferentes e ser deslocada de um para o outro, segundo o estado fisiológico vigente, como acontece com a glicoquinase (Seção 20.2). As organelas proveem microambientes diferenciados nos quais as concentrações de substratos ou efetadores alostéricos podem ser mais estritamente reguladas, por meio do controle de suas transferências através de membranas.

## 19.2.2 Regulação por modificação covalente

A atividade de uma enzima pode ser drasticamente alterada pela ligação covalente de certos grupos à cadeia polipeptídica. A modificação resultante em sua conformação provoca desde mudanças na afinidade pelo substrato ou na sensibilidade a efetadores alostéricos, até sua completa inativação.

A modificação covalente constitui uma reação química catalisada por enzimas, ao contrário da ligação não covalente de efetadores alostéricos. A mudança de atividade não é definitiva, pois este sistema de controle inclui enzimas capazes de catalisar a retirada do grupo adicionado, devolvendo a enzima modificada à sua conformação original. Várias são as modificações possíveis (metilação, adenilação, acetilação etc.), mas a mais frequente consiste na fosforilação da cadeia polipeptídica.

A fosforilação é catalisada por *proteína quinases* (*PK*, de *Protein Kinase*)<sup>1</sup> e a transferência do grupo fosfato terminal do ATP é feita para resíduos específicos de serina, treonina ou tirosina, formando uma ligação éster fosfórico:



Em cada tecido há determinadas proteínas que são substratos das proteína quinases. A fosforilação pode transformá-las de inativas em ativas, ou vice-versa (Tabela 19.2). As próprias proteína quinases estão sujeitas a regulação, podendo ser ativadas por mecanismos diversos, mediados por AMP cíclico, fosfolípidios, íons Ca<sup>2+</sup> etc. (Seção 19.4).

A retirada do grupo fosfato, introduzido pela ação das proteína quinases, é catalisada pelas *fosfoproteína fosfatases* (*PP*, de *Phosphoprotein Phosphatases*), por hidrólise:



**Tabela 19.2** Modificação da atividade enzimática por fosforilação.

Via metabólica	Enzima fosforilada	Forma
Glicogenólise	Glicogênio fosforilase quinase	Ativa

	Glicogênio fosforilase	Ativa
Glicogênese	Glicogênio sintase	Inativa
Glicólise e gliconeogênese	6-Fosfofruto-2-quinase	Inativa
	Frutose 2,6-bisfosfatase	Ativa
	Piruvato quinase	Inativa
Piruvato → Acetil-CoA	Piruvato desidrogenase	Inativa
Lipólise	Lipase	Ativa
Lipogênese	Citrato liase	Inativa
	Acetil-CoA carboxilase	Inativa
	3-Hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase	Inativa

O controle da atuação das fosfoproteína fosfatases (designadas 1, 2 etc.) é menos conhecido do que o das proteína quinases.

A predominância de uma das formas — fosforilada ou desfosforilada — de uma dada proteína dependerá da enzima que estiver ativada: proteína quinase ou fosfoproteína fosfatase. Exemplos destas possibilidades são mostrados neste e no próximo capítulo.

Nos animais superiores, a modificação covalente de enzimas constitui o resultado de vias de regulação metabólica, que efetuam o que se costuma chamar de “transdução” de sinal.

### 19.3 Transdução de sinal

*Transdução (transformação, tradução) de sinal* é o processo que confere às células a capacidade de receber e processar estímulos originados do meio ambiente (luz, odorantes) ou do próprio organismo (hormônios, neurotransmissores). Qualquer que seja o estímulo, o circuito que integra este processo é formado por componentes comuns: o sinal inicial, o receptor do sinal, a transdução propriamente dita, que consiste na transformação do estímulo em um composto químico, e a resposta celular. As respostas geradas são variadas e podem incidir sobre a atividade de enzimas, a expressão gênica e a transmissão do impulso nervoso. A maioria das vias de transdução de sinal compreende a interação de estímulos físicos ou químicos com receptores situados na membrana plasmática.

Os *receptores* são proteínas integradas da membrana celular, geralmente contendo três motivos: um imerso na bicamada lipídica e dois expostos nas porções externa e interna da membrana; transmitem a informação recebida do exterior para o meio intracelular, sem que o estímulo inicial penetre na célula. Os receptores são específicos para cada estímulo e, quando o sinal é um composto químico, guarda com ele a mesma relação de especificidade de uma enzima com seu substrato; são ainda característicos de determinados órgãos ou tecidos. Em muitos receptores, a cadeia polipeptídica atravessa várias vezes a membrana, formando sete  $\alpha$ -hélices, sendo chamados de *receptores hepta-helicoidais* ou *7TM* (de *seven transmembrane helical regions*) (Figura 2.12). Esta classe de receptores constitui uma família com mais de 1.000 representantes em mamíferos e são a “antena” para o recebimento de sinais externos, como fótons (no caso da visão), substâncias voláteis (estímulo para o olfato), moléculas não voláteis (relacionadas ao paladar) ou sinais de origem endógena, como hormônios e neurotransmissores. Estes sinais são transmitidos para o interior das células, onde provocam mudanças na fisiologia celular, devidas à alteração da conformação de proteínas, por fosforilação ou ligação com íons cálcio, ou modificação do funcionamento (abertura ou fechamento) de canais iônicos.

A transdução de sinais endógenos está descrita na Seção seguinte, que trata da ação hormonal; as vias de transdução de estímulos luminosos e olfatórios estão resumidas na Seção 19.5.

### 19.4 Ação hormonal

Os mamíferos têm seu metabolismo regulado de forma global e integrada. Nestes organismos, há uma especialização de funções, distribuídas pelos diferentes órgãos ou tecidos, como consequência da diferenciação celular. O conjunto de enzimas sintetizadas em um órgão atribui a ele capacidades metabólicas específicas. Por exemplo, os hepatócitos são capazes de sintetizar e degradar lipídios; as fibras musculares apenas degradam estes compostos e hemácias nem sintetizam nem degradam lipídios. Embora desempenhando papéis específicos, os tecidos não são autônomos, devendo agir de forma concertada. A coordenação das respostas dos diversos órgãos e tecidos ao mesmo sinal depende de sistemas de comunicação, que permitem a reação adequada do organismo como um todo — o sistema endócrino e o sistema nervoso



são os responsáveis pela integração das funções vitais nos animais.

### Os hormônios são os primeiros mensageiros do sistema endócrino

Os hormônios são sintetizados pelo sistema endócrino e secretados na corrente sanguínea. Atuam sobre tecidos específicos, provocando respostas também específicas, mas o conjunto das respostas é cooperativo, tornando lógico e harmônico o ajuste do organismo a uma determinada condição fisiológica. Ao atingirem células sensíveis, as *células-alvo*, provocam modificações de seu metabolismo por interferência na atividade de enzimas, no controle da expressão gênica ou no transporte através de membranas. São os *primeiros mensageiros* químicos, extracelulares, do sistema endócrino.

Alguns tipos importantes de hormônios são os *esteroides* (cortisol, aldosterona, estradiol, progesterona, testosterona), os *tireoidianos* (tiroxina, tri-iodotironina), os *peptídicos* (insulina, glucagon, hormônio do crescimento) e as *catecolaminas* (adrenalina, noradrenalina).

### Os receptores hormonais situam-se na membrana plasmática, no citosol ou no núcleo das células-alvo

A ação hormonal é iniciada pela interação do hormônio com receptores específicos presentes nas células-alvo. Nessas células, de acordo com o tipo de hormônio, podem situar-se na membrana plasmática, no citosol ou no núcleo. Os receptores são proteínas, capazes de ligarem-se aos hormônios com grande afinidade: os efeitos dos hormônios são verificados com concentrações plasmáticas menores do que  $10^{-10}$  M. Por serem secretados no plasma, os hormônios são distribuídos por todo o organismo e é a presença do receptor que torna uma célula responsiva ao hormônio.

A quantidade de receptores presentes nas células varia em função da concentração do hormônio circulante. Existem diversos processos reguladores responsáveis por este ajuste, sendo que, mais frequentemente, ocorre uma diminuição do número de receptores em resposta a níveis altos do hormônio. Certos hormônios unem-se a receptores localizados na membrana plasmática, provocando a manifestação celular, e, posteriormente, os complexos hormônio-receptor são internalizados por endocitose adsorptiva (Seção 7.4.2). As vesículas contendo os complexos fundem-se com lisossomos, onde o hormônio é dissociado do receptor e degradado; uma parte dos receptores também é degradada e outra parte é reciclada para a membrana. A junção do hormônio ao receptor determina uma diminuição transitória do número de receptores presentes na membrana celular. Cessado o estímulo hormonal, o número de receptores é restabelecido por síntese proteica.

Os receptores de diversos *hormônios esteroides* são proteínas presentes no citosol das células-alvo. O caráter hidrofóbico destes hormônios permite sua difusão pela membrana plasmática, propiciando sua ligação aos receptores. Os complexos hormônio-receptor deslocam-se para o núcleo e fixam-se a sequências específicas do DNA. Os hormônios tireoidianos agem de modo semelhante, mas têm seus receptores no núcleo. Estes dois tipos de hormônios atuam no nível da expressão gênica, alterando a velocidade de transcrição de determinados genes; geralmente, ocorre a ativação da transcrição gênica, com a consequente produção de proteínas. A resposta do tecido ao estímulo hormonal é consequência da ação destas proteínas.

Os receptores dos *hormônios peptídicos* e das *catecolaminas* localizam-se na membrana plasmática. A formação do complexo hormônio-receptor inicia a transdução do sinal hormonal, descrita a seguir.

#### 19.4.1 AMP cíclico e a via da proteína quinase A

##### A produção do segundo mensageiro da ação hormonal é uma etapa do processo de transdução de sinal

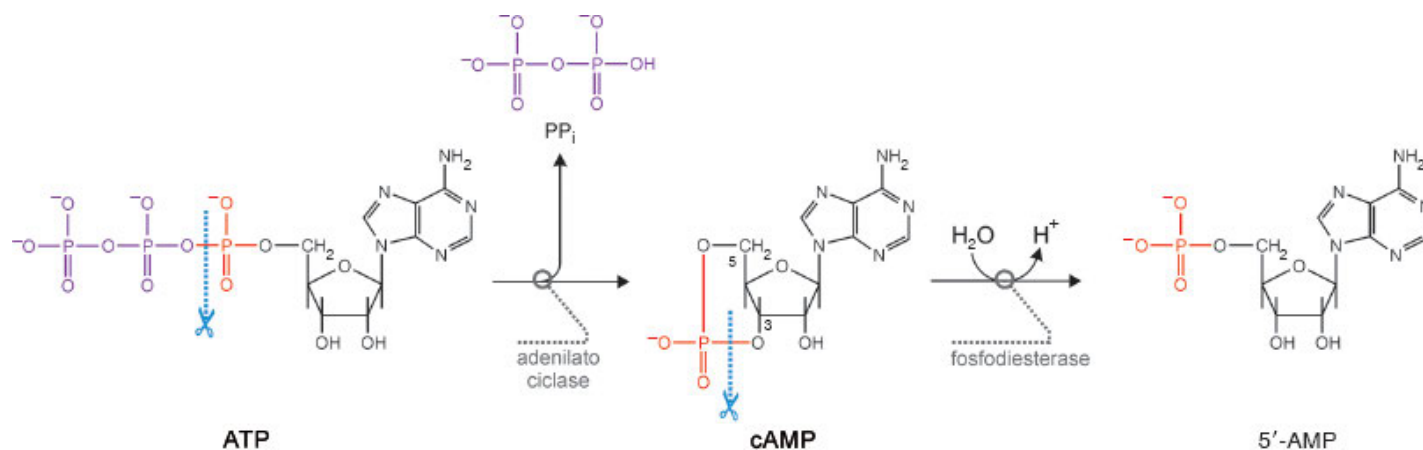
A transdução de sinal, iniciada com a ligação do hormônio a seu receptor na membrana plasmática, leva à produção intracelular de um *segundo mensageiro* da ação hormonal. A atuação deste segundo mensageiro sobre as reações processadas na célula-alvo resulta na resposta característica de um tecido a um determinado hormônio, sem que este tenha sido introduzido na célula. O processo compreende, geralmente, o acoplamento do complexo hormônio-receptor a uma proteína G, seguido pela interação desta proteína com uma enzima, que, então, catalisa a produção do segundo mensageiro. As *proteínas G* compõem uma grande família de proteínas transdutoras, capazes de transformar sinais moleculares externos em sinais intracelulares; são designadas *G* pela propriedade de ligarem-se a nucleotídeos de guanina, GDP e GTP.

A alteração da concentração dos segundos mensageiros provoca, como *resposta* ao estímulo inicial, mudanças na fisiologia celular, devidas à alteração da conformação de proteínas, por fosforilação ou ligação com íons cálcio ou modificação do funcionamento (abertura ou fechamento) de canais iônicos.

Os *segundos mensageiros* de hormônios constituem uma classe de compostos muito diversificados estruturalmente. Alguns exemplos importantes são: AMP cíclico, GMP cíclico, íons  $Ca^{2+}$  e derivados de fosfolípidios de membrana.

O *AMP cíclico (cAMP)*, ou *adenosina 3',5'-monofosfato*, é formado a partir de ATP, por ação da *adenilato ciclase*, uma enzima integrada na membrana plasmática. A presença de cAMP nas células irá provocar alterações na atividade de

determinadas enzimas e, por consequência, no metabolismo. Estas modificações são temporárias, porque o cAMP pode ser hidrolisado a 5'-AMP pela reação catalisada pela *fosfodiesterase* (Figura 19.3). A concentração de cAMP e a resposta celular ao hormônio estão na dependência das atividades relativas da adenilato ciclase e da fosfodiesterase.



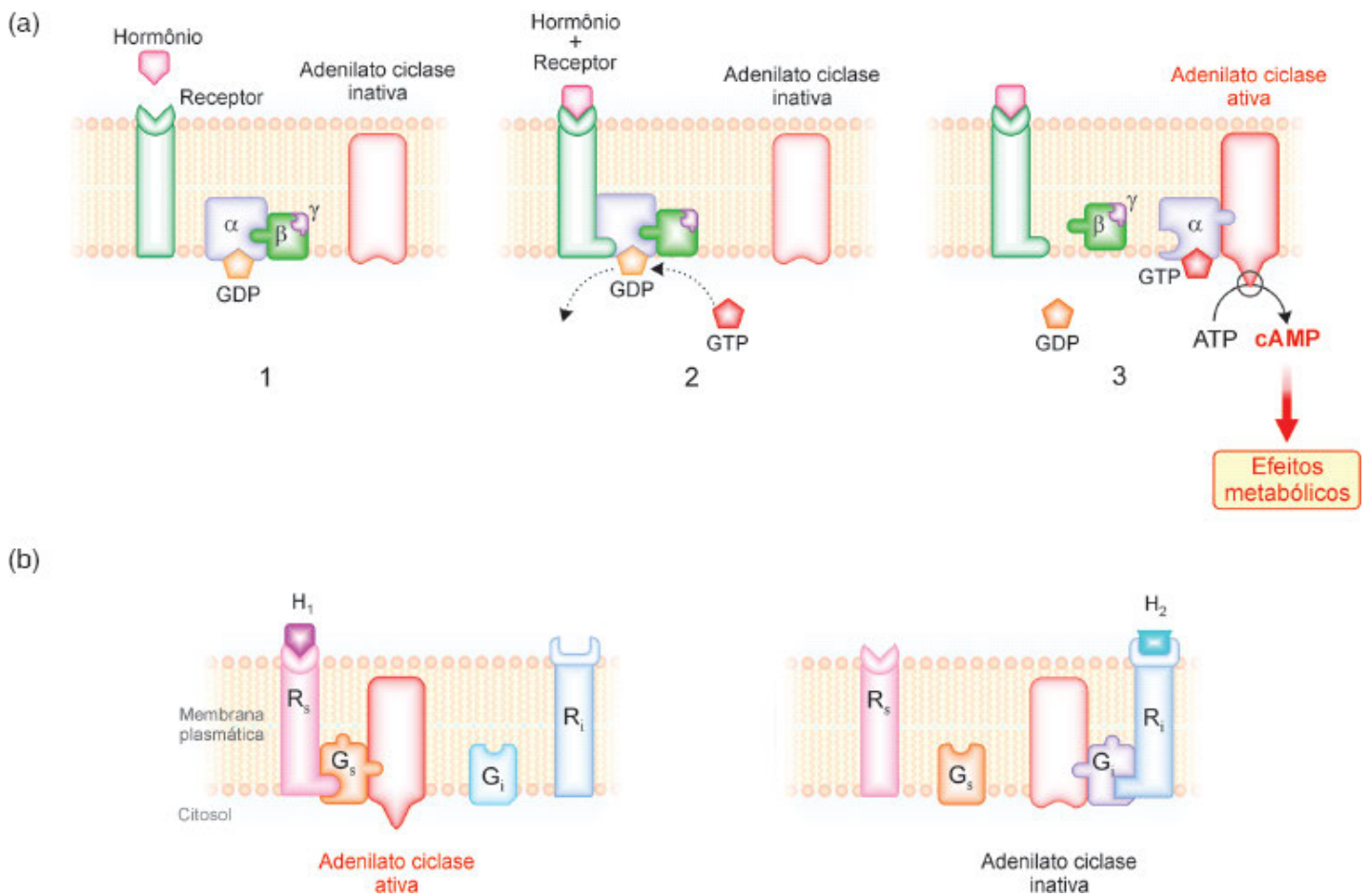
**Figura 19.3** Síntese e hidrólise de cAMP. A adenilato ciclase catalisa a conversão de ATP em cAMP, por formação de uma ligação fosfodiéster entre os carbonos 3' e 5' da ribose e liberação de pirofosfato (PP<sub>i</sub>). A ligação é hidrolisada pela fosfodiesterase, originando 5'-AMP.

A transdução de sinal dos hormônios que utilizam cAMP como segundo mensageiro é, então, efetuada por três proteínas presentes na membrana plasmática: o receptor hormonal, a adenilato ciclase e uma proteína G, que conecta as duas primeiras. São compostas de três subunidades,  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , e é a subunidade  $\alpha$  que tem a capacidade de associação a GDP ou GTP: na ausência do hormônio está ligada a GDP e na presença dele, a GTP. Os eventos (Figura 19.4 a) que levam à produção de cAMP a partir do estímulo hormonal são:

1. Na ausência do hormônio, a proteína G apresenta-se com as subunidades  $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$  associadas e a subunidade  $\alpha$  unida a GDP; a adenilato ciclase está inativa.
2. Quando o hormônio se liga ao receptor, este sofre uma mudança de conformação, que provoca sua ligação à proteína G. Esta união altera a estrutura da proteína G, fazendo diminuir a afinidade da subunidade  $\alpha$  por GDP e aumentar a sua afinidade por GTP; em consequência, o GDP é trocado por GTP.
3. A ligação de GTP à subunidade  $\alpha$  promove sua dissociação das outras duas subunidades da proteína G, obtendo-se dois conjuntos:  $\beta$ - $\gamma$  e  $\alpha$ -GTP. Este último associa-se à adenilato ciclase, formando o complexo  $\alpha$ -GTP-adenilato ciclase. A ligação de  $\alpha$ -GTP estimula a enzima, que catalisa a conversão de ATP em cAMP.

A estimulação da adenilato ciclase tem duração limitada. A própria subunidade  $\alpha$  da proteína G tem uma discreta atividade GTPásica, sendo capaz de catalisar a hidrólise lenta de GTP a GDP. Quando isto acontece, há dissociação do complexo  $\alpha$ -GDP-adenilato ciclase: a enzima, inativa, é liberada e a subunidade  $\alpha$  volta a associar-se às subunidades  $\beta$ - $\gamma$ , reconstituindo a proteína G, que pode participar de outro ciclo de transdução de sinal. Em virtude da ação GTPásica da subunidade  $\alpha$ , a atividade da adenilato ciclase depende estritamente de estimulação hormonal, cessando na ausência do hormônio.

O mecanismo descrito refere-se à ação de hormônios que *ativam* a adenilato ciclase. Outros hormônios determinam *inibição* da adenilato ciclase: são reconhecidos por outro tipo de receptor, que se liga a outro tipo de proteína G, embora o processo que produz a inibição seja análogo ao do estímulo. Ou seja, existem dois tipos de proteínas G: o primeiro deles, designado G<sub>s</sub>, com subunidade  $\alpha$  chamada  $\alpha_s$  (*s* de *stimulation*), está associado a receptores de hormônios que provocam o estímulo da adenilato ciclase, denominados R<sub>s</sub> (Figura 19.4 b). O segundo tipo é chamado G<sub>i</sub>, com subunidade  $\alpha$  indicada por  $\alpha_i$  (*i* de *inhibition*), e intermedeia a ação de hormônios que levam à inibição da adenilato ciclase. Após a ligação desta categoria de hormônio a seu receptor, do tipo R<sub>i</sub>, os eventos são semelhantes ao caso do estímulo: troca de GDP por GTP e ligação de  $\alpha_i$ -GTP à adenilato ciclase. Esta ligação, entretanto, provoca inibição da enzima. Alguns hormônios, como a adrenalina, podem ligar-se, em tecidos diferentes, a receptores R<sub>s</sub> ou R<sub>i</sub>.



**Figura 19.4** a) Transdução de sinal de hormônios que estimulam a adenilato ciclase. 1) Situação prévia à ligação do hormônio ao receptor: proteína G com as três subunidades (α-β-γ) associadas e GDP ligado à subunidade α; adenilato ciclase inativa. 2) A formação do complexo hormônio-receptor altera o receptor, causando sua união à proteína G, que, então, troca GDP por GTP. 3) A ligação de GTP à subunidade α da proteína G determina dissociação das subunidades β-γ; o complexo α-GTP liga-se à adenilato ciclase, ativando-a. b) Representação esquemática da regulação da adenilato ciclase por hormônios estimuladores ( $H_1$ ) e inibidores ( $H_2$ ) da sua atividade. O complexo  $H_1$ - $R_s$  une-se a uma proteína  $G_s$  que ativa a adenilato ciclase, enquanto o complexo  $H_2$ - $R_i$  interage com uma proteína  $G_i$  que inibe a enzima.

O funcionamento de vias de transdução de sinal envolvendo proteínas G pode ser alterado por toxinas bacterianas, ocasionando a instalação de moléstias. A *toxina da cólera*, por exemplo, é uma enzima que catalisa a transferência de uma unidade ADP-ribose do  $NAD^+$  (a remoção da nicotinamida da molécula de  $NAD^+$  produz ADP-ribose — Figura 9.2) para um resíduo de arginina da subunidade  $\alpha_s$  de uma proteína  $G_s$ . Esta modificação covalente determina a perda da atividade GTPásica de  $\alpha_s$ , que permanece ligada a GTP, mantendo a adenilato ciclase estimulada mesmo na ausência do hormônio. A toxina da cólera liga-se à superfície das células da mucosa intestinal e é internalizada; uma vez no citosol, promove a modificação da  $G_s$ . O aumento da concentração intracelular de cAMP altera o funcionamento de canais iônicos, acelerando a secreção de íons para a luz intestinal, acompanhada de enorme afluxo de água, ocasionando a diarreia profusa característica da cólera.

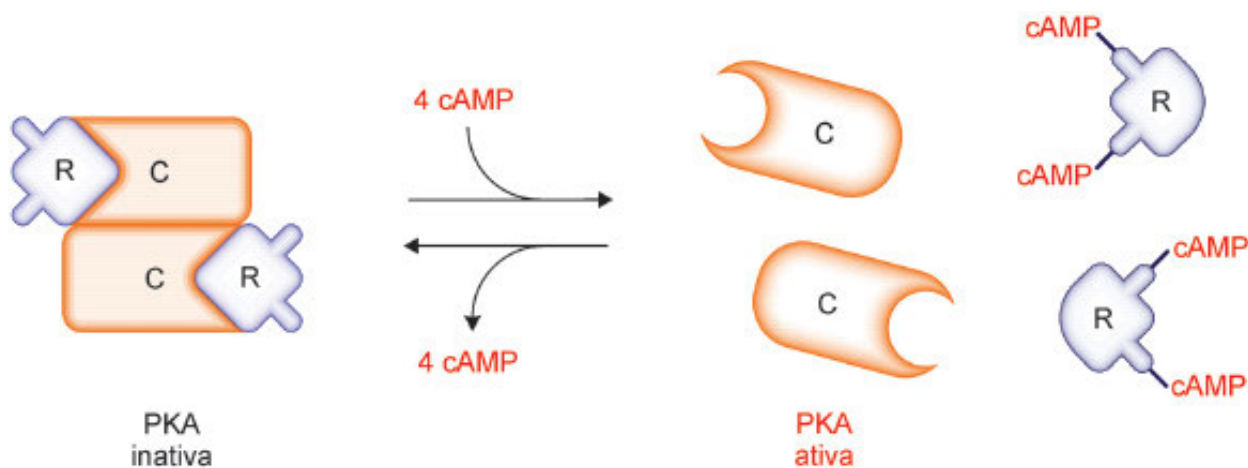
A *toxina da coqueluche* (ou *tosse comprida*) catalisa a ADP-ribosilação da subunidade  $\alpha_i$  de uma proteína  $G_i$  das células epiteliais do trato respiratório. Neste caso,  $\alpha_i$  permanece associada a GDP e às subunidades  $\beta$  e  $\gamma$ , ficando impossibilitada de complexar-se com a adenilato ciclase e causar a sua inibição; o resultado é a ativação permanente da enzima. A concentração elevada de cAMP, por mecanismos desconhecidos, provoca dano ao epitélio do trato respiratório, que se reflete em acessos de tosse violenta.

Os níveis de cAMP podem ainda ser aumentados por inibição da fosfodiesterase de cAMP, causada por derivados de purinas, como *caféina* e *teofilina*. Estas substâncias também atuam como antagonistas dos efeitos fisiológicos da *adenosina*. Este nucleosídeo, assim como o ATP (Seção 8.1.2), ocorre também no espaço extracelular e atua como neurotransmissor, ligando-se a receptores purinérgicos presentes na membrana plasmática da maioria das células de mamíferos. Estão descritos quatro receptores de adenosina, do tipo 7TM, que interagem com proteínas G. A adenosina extracelular participa da regulação dos sistemas cardiovascular, nervoso, imunológico e respiratório; neste último caso, provoca broncoconstrição. A teofilina provoca dilatação brônquica e é empregada no tratamento da asma há mais de 70 anos; apesar disto, seu mecanismo de ação ainda é incerto, podendo ser devido à inibição da fosfodiesterase (o aumento da concentração de cAMP causa relaxamento de músculos lisos — Seção 22.6) ou ao bloqueio dos receptores de adenosina,

impedindo a broncoconstrição.

### O cAMP estimula a proteína quinase A

O aumento intracelular na concentração de cAMP, conseqüente à ação hormonal, resulta na ativação de um tipo particular de proteína quinase, chamada *proteína quinase dependente de cAMP* ou *proteína quinase A (PKA)*. É uma enzima oligomérica, composta por subunidades catalíticas e subunidades reguladoras que, quando associadas, formam um complexo inativo. O cAMP liga-se às subunidades reguladoras, provocando a dissociação das subunidades catalíticas, que se tomam ativas (Figura 19.5), capazes de promover a transferência do grupo fosfato do ATP para resíduos de treonina ou serina de diversas proteínas.



**Figura 19.5** Ativação da proteína quinase dependente de cAMP (PKA). A molécula da enzima inativa é formada por quatro subunidades: duas catalíticas (C) e duas reguladoras (R). A ligação de cAMP às subunidades reguladoras libera as subunidades catalíticas, então ativas.

A via de transdução de sinal hormonal descrita até aqui — hormônio complexado ao receptor  $R_s$  da membrana plasmática/ligação à proteína  $G_s$ /adenilato ciclase estimulada/síntese de cAMP/PKA ativada — é denominada *via da PKA*. Todas as proteínas componentes da via, desde o receptor até a fosfoproteína fosfatase, que finaliza a transdução de sinal (ver a seguir), ficam agrupadas em regiões diferenciadas da membrana, os *rafts* (Seção 7.2), formando uma unidade de transdução de sinal muito eficiente.

A ação catalítica da PKA pode ser exercida sobre inúmeras proteínas; algumas tornam-se ativas em virtude da fosforilação; outras perdem a atividade. Sendo assim, um mesmo hormônio atuando em vários tecidos, apesar de provocar a mesma sequência inicial de eventos — ativação da via da PKA —, determina alterações diferentes do padrão metabólico em cada tecido, porque as enzimas que serão fosforiladas em cada tecido também serão diferentes. A resposta metabólica obtida dependerá da equipe de proteínas sintetizadas pelo tecido-alvo do hormônio que causou a estimulação da PKA.

A atuação de muitos hormônios peptídicos e de catecolaminas e o desempenho de diversas atividades fisiológicas resultam de ativação da via da PKA. Alguns exemplos:

1. *Hormônios da hipófise*: hormônios adrenocorticotrófico (ACTH), tireoide-estimulante (tirotrófina ou TSH), luteinizante (LH) e foliculoestimulante (FSH), atuando em glândulas endócrinas, onde estimulam a liberação e/ou síntese de hormônios específicos — cortisol, hormônios tireoidianos e hormônios sexuais.
2. *Hormônio antidiurético (vasopressina)*, atuando no controle da reabsorção de água nos túbulos renais.
3. Atividades sensoriais como a *visão* e o *olfato* (Seção 19.5).
4. *Adrenalina e glucagon* (Seção 19.6).

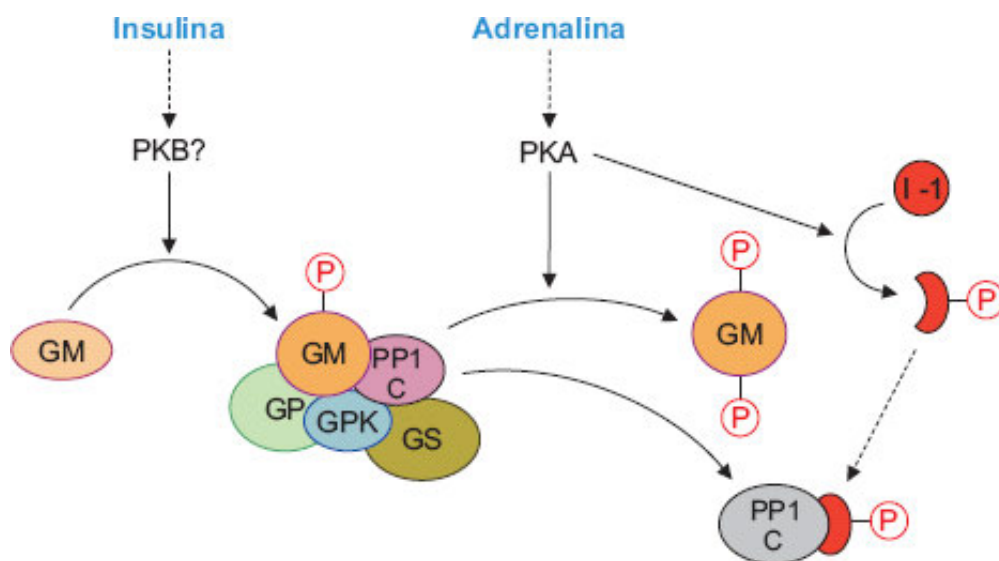
### As fosfoproteína fosfatases antagonizam os efeitos da PKA

A fosforilação de proteínas pode ser revertida pelas fosfoproteína fosfatases (PP — Seção 19.2.2), que hidrolisam os grupos fosfatos adicionados pelas proteína quinases, PKA inclusive. As próprias fosfoproteína fosfatases são reguladas por modificação covalente: são substratos da PKA e de outras proteína quinases. Um exemplo importante em eucariotos é a *fosfoproteína fosfatase-1 (PP-1)*, que participa da regulação de uma grande variedade de processos celulares. PP-1 é constituída por uma subunidade catalítica, que apresenta baixa atividade e ausência de especificidade para o substrato. Só é capaz de atuar efetivamente, e sobre determinados substratos, quando está associada a uma das 200 subunidades reguladoras diferentes já identificadas. Esta seria a razão da grande versatilidade de atuação de PP-1, porque, dessas



associações, resultam formas diferentes da enzima, com especificidade de substrato, localização celular e regulação distintas.

Uma das vias metabólicas reguladas por PP-1 é o metabolismo do glicogênio em mamíferos. O glicogênio e as enzimas que atuam no seu metabolismo e que o regulam organizam-se em grânulos citoplasmáticos. As subunidades reguladoras de PP-1, *GM* em músculos esqueléticos e *GL* no fígado, funcionam como um elo de ligação entre a subunidade catalítica, o glicogênio e as enzimas-substrato de PP-1 (glicogênio sintase, glicogênio fosforilase, glicogênio fosforilase quinase — Seção 20.1), localizadas nos grânulos.



**Figura 19.6** Regulação da fosfoproteína fosfatase 1 (PP-1) em músculos esqueléticos de mamíferos. Na presença de insulina, a adição de grupos fosfato (P) à subunidade GM ativa a subunidade catalítica de PP-1 (PP-1-C), que desfosforila suas três enzimas-substrato: a glicogênio sintase (GS) é ativada; a glicogênio fosforilase (GP) e a glicogênio fosforilase quinase (GPK) são inibidas. Com adrenalina, a fosforilação de GM pela proteína quinase dependente de cAMP (PKA) causa sua separação da subunidade catalítica, que se dissocia do grânulo de glicogênio. A interação da subunidade catalítica com o Inibidor-1 (I-1), também fosforilado pela PKA, resulta no bloqueio da PP-1. (Adaptada de Nelson DL, Cox MM: *Lehninger Principles of Biochemistry*, 5th ed. W. H. Freeman, 2008.)

A subunidade *GM* de músculos apresenta sítios em sua estrutura que podem ser fosforilados por diferentes proteína quinases (Figura 19.6). Com insulina, a fosforilação de um desses sítios, provavelmente pela PKB, ativa PP-1, que desfosforila as três enzimas-substrato, levando à ativação da glicogênio sintase e à inativação da glicogênio fosforilase e da glicogênio fosforilase quinase — PP-1 promove o acúmulo de glicogênio, por estimular a síntese e inibir a degradação do polissacarídeo. Sob estímulo de adrenalina, a adição de grupos fosfato à subunidade GM pela PKA provoca a dissociação da subunidade catalítica, que se desliga dos grânulos, ficando impossibilitada de atuar sobre os seus substratos. Uma vez livre no citosol, PP-1 pode interagir com uma proteína inibidora, chamada de *Inibidor-1 (I-1)*, e tornar-se totalmente inativa. Para que isto ocorra, o Inibidor-1 deve estar fosforilado, à custa da PKA. Assim, a PKA mantém a PP-1, uma enzima cuja ação é antagônica à sua, na forma inativa.

A regulação do metabolismo do glicogênio continua a ser analisada na Seção 20.1.2.

## 19.4.2 Íons $\text{Ca}^{2+}$ e via da fosfolipase C

### Derivados de fosfolípidios de membrana e íons $\text{Ca}^{2+}$ também atuam como segundos mensageiros

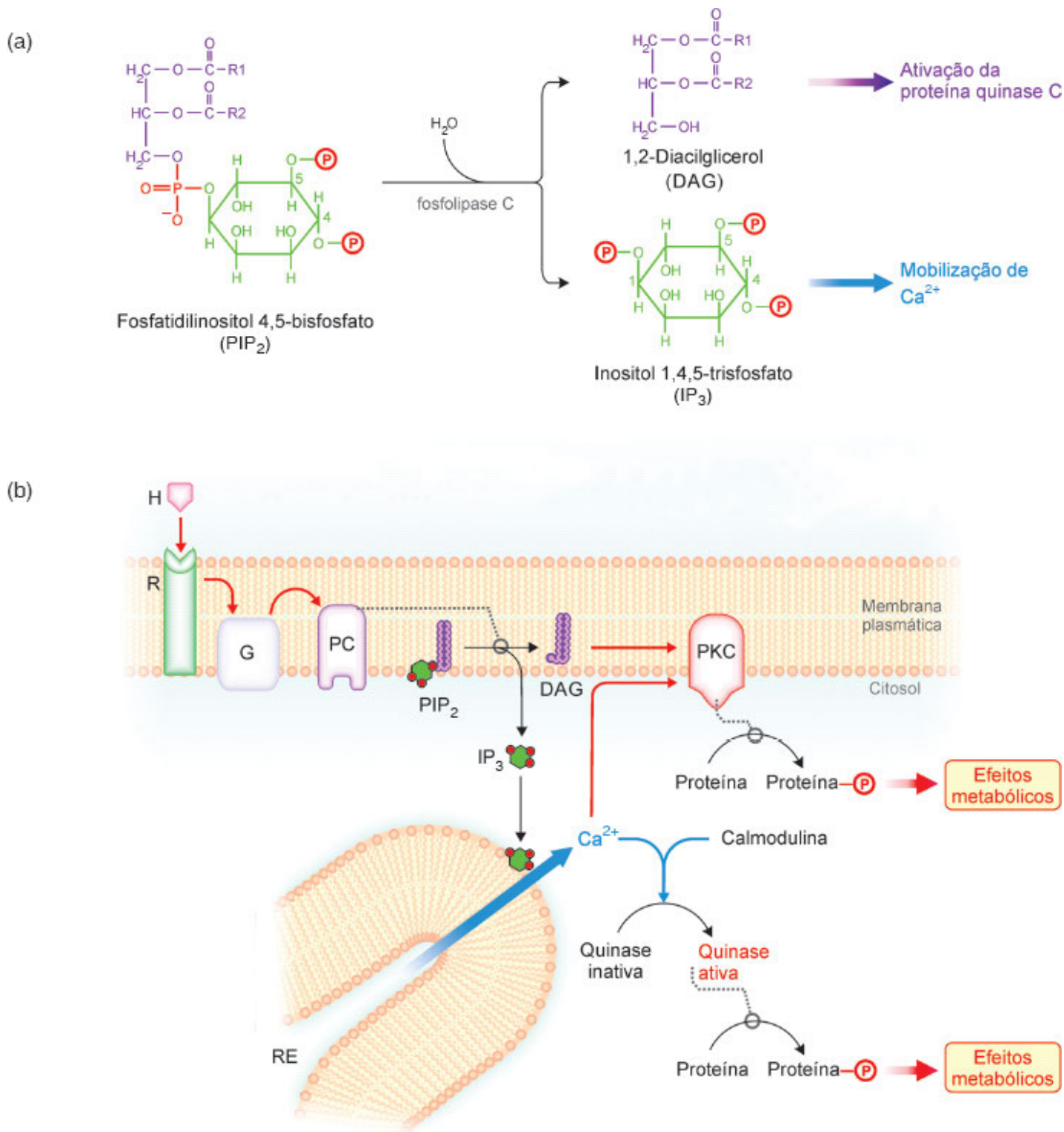
Vários hormônios que se ligam a receptores da membrana plasmática utilizam vias de transdução de sinal diferentes da via de ativação da PKA. Um exemplo é a *via do fosfatidilinositol bisfosfato*, também chamada *via da fosfolipase C*.

A formação do complexo hormônio-receptor ativa uma proteína Gq, que estimula uma fosfolipase de membrana, a *fosfolipase C (PC)*. Esta enzima catalisa a hidrólise de *fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP<sub>2</sub>)*, um fosfolípido minoritário da membrana plasmática, produzindo dois segundos mensageiros, o *inositol 1,4,5-trisfosfato (IP<sub>3</sub>)* e o *1,2-diacilglicerol (DAG)* (Figura 19.7 a), que têm atuações diferentes.

O papel de  $\text{IP}_3$  é aumentar a concentração citosólica de íons  $\text{Ca}^{2+}$ , promovendo sua liberação do depósito intracelular deste íon, as vesículas do retículo endoplasmático ou do retículo sarcoplasmático em células musculares. Sendo hidrossolúvel,  $\text{IP}_3$  difunde-se pelo citosol, e liga-se a canais de  $\text{Ca}^{2+}$  da membrana dos reservatórios celulares, determinando a abertura dos canais e a liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  (Figura 19.7 b). Os íons  $\text{Ca}^{2+}$  exercem diversos efeitos por si sós ou quando ligados à proteína calmodulina (ver a seguir), formando o complexo  $\text{Ca}^{2+} \cdot \text{calmodulina}$ . Nos músculos esqueléticos, os



íons  $\text{Ca}^{2+}$  desencadeiam a contração e promovem a degradação de glicogênio; nos músculos lisos (Seção 22.6), ligam-se à calmodulina e modificam uma série de proteínas, incluindo diversas quinases. Adicionalmente, os íons  $\text{Ca}^{2+}$  agem como coadjuvantes do outro segundo mensageiro, o 1,2-diacilglicerol.



**Figura 19.7** a) Estruturas do fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato ( $\text{PIP}_2$ ) e dos produtos de sua hidrólise.  $\text{PIP}_2$  e DAG são lipídios da membrana plasmática, o que não está mostrado na figura. b) Via de transdução de sinal do fosfatidilinositol bisfosfato (ou via da fosfolipase C). A sequência de eventos está descrita no texto. H = hormônio; R = receptor; G = proteína G; PC = fosfolipase C; RE = retículo endoplasmático; PKC = proteína quinase C. O hormônio poderia ser, por exemplo, a adrenalina ligando-se a receptores  $\alpha_1$ .

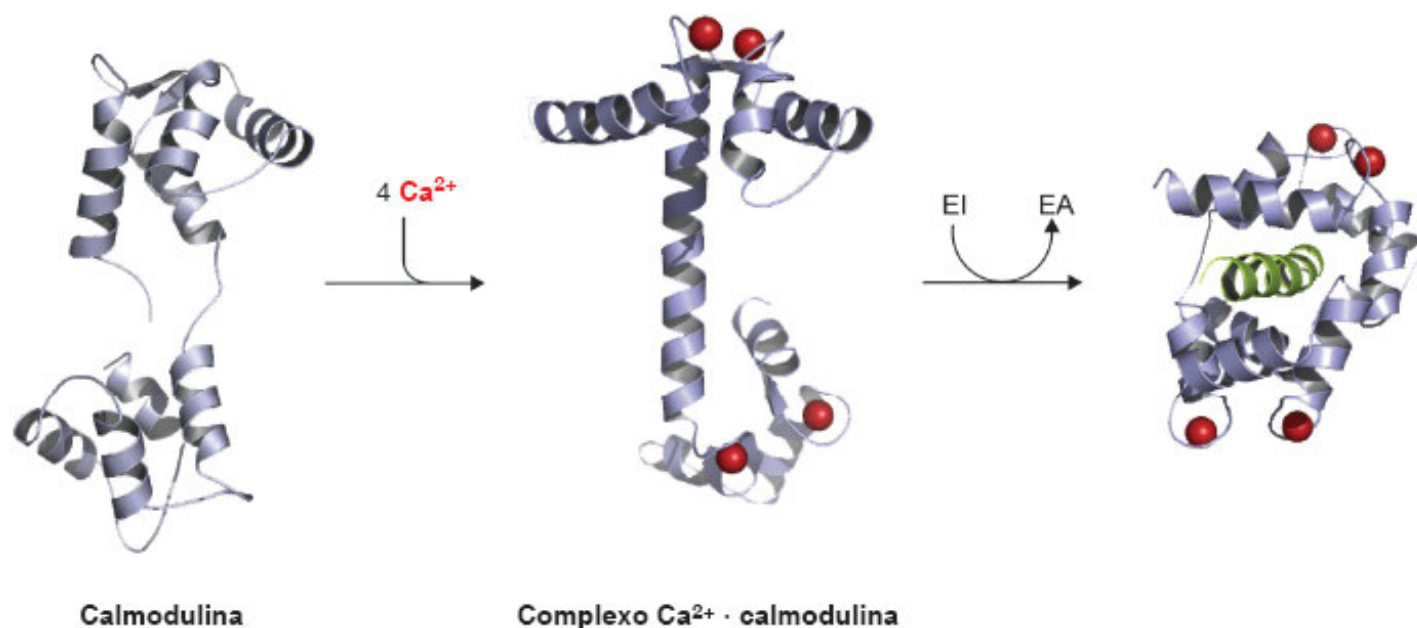
O 1,2-diacilglicerol (DAG) permanece ligado à membrana e na presença de íons  $\text{Ca}^{2+}$ , disponíveis graças a  $\text{IP}_3$ , estimula uma proteína quinase de membrana, a *proteína quinase C*, assim denominada por depender de  $\text{Ca}^{2+}$ . Esta enzima catalisa a fosforilação de um conjunto de proteínas, diferente do conjunto modificado pelo complexo  $\text{Ca}^{2+}$  • calmodulina. A alteração da atividade de todas estas proteínas-alvo desencadeia a resposta celular ao hormônio.

Exemplos de hormônios que acionam a via do fosfatidilinositol bisfosfato são a adrenalina, atuando em receptores  $\alpha_1$  (Seção 19.6), a vasopressina (agindo em músculos lisos de vasos) e os hormônios hipotalâmicos de liberação de tirotrófina

(TRH) e de gonadotrofinas (GnRH), que estimulam a liberação dos hormônios hipofisários TSH, LH e FSH.

### O complexo $\text{Ca}^{2+}$ · calmodulina e cAMP interagem na regulação da atividade celular

A *calmodulina* (*calmodulin*, de *calcium-modulating protein*) ocorre sob forma livre ou constitui a subunidade receptora de íons  $\text{Ca}^{2+}$  da glicogênio fosforilase quinase (Seção 20.1.1). Trata-se de uma proteína pequena, com quatro sítios de ligação para  $\text{Ca}^{2+}$  (Figura 19.8). A ocupação destes sítios por  $\text{Ca}^{2+}$  determina uma mudança de conformação na calmodulina, que pode então ligar-se a proteínas-alvo, geralmente proteínas quinases, alterando sua atividade. Em vários casos de regulação de enzimas pelo complexo  $\text{Ca}^{2+}$  · calmodulina — glicogênio fosforilase quinase, proteína quinase dependente de  $\text{Ca}^{2+}$  · calmodulina, miosina quinase de músculos lisos etc. —, ocorre ativação. Os processos metabólicos que utilizam  $\text{Ca}^{2+}$  ou cAMP como segundos mensageiros são interligados: uma mesma enzima pode ser regulada tanto por  $\text{Ca}^{2+}$  · calmodulina como por cAMP, como ocorre com a glicogênio fosforilase quinase e a miosina quinase de músculos lisos (Seção 22.6).



**Figura 19.8** A calmodulina liga-se a íons  $\text{Ca}^{2+}$  (esferas vermelhas) e sofre uma modificação estrutural, que a torna apta a interagir com sua proteína-alvo, a enzima E. No exemplo, a enzima é autoinibida por um segmento de sua cadeia polipeptídica, o peptídeo helicoidal assinalado em verde, que bloqueia seu centro ativo (o restante da molécula da enzima foi omitido). O complexo  $\text{Ca}^{2+}$  · calmodulina dobra-se sobre o peptídeo inibidor, removendo-o da enzima inativa (EI), que é convertida na forma ativa (EA).

## 19.5 Transdução de sinais sensoriais

Nos seres humanos e em outros vertebrados, os mecanismos de percepção de estímulos gerados no próprio organismo ou de estímulos oriundos do meio ambiente são semelhantes. Todavia, nas vias de transdução de sinal dos exemplos relatados de hormônios, o resultado é a modificação da fisiologia celular. No caso da transdução de sinais externos (fótons, odorantes etc.), o resultado do estímulo inicial é a geração de um impulso nervoso, que conecta a célula sensorial ao cérebro. Esta é a situação dos processos da visão e do olfato, resumidos a seguir.

### Visão

As células fotossensíveis da retina dos animais, os cones e bastonetes, são neurônios sensoriais que formam sinapses com neurônios intermediários, que se comunicam com o nervo óptico e, finalmente, com o cérebro.

Na membrana celular dos cones e bastonetes está presente a *rodopsina*, um receptor hepta-helicoidal (7TM) (Figura 2.12), composto por uma porção proteica, a *opsina*, e um grupo prostético, 11-*cis*-retinal, derivado da vitamina A (Seção 18.4). Esta molécula fotossensível é o *pigmento visual*, assim chamado por sua propriedade de absorver luz, e que inicia a transdução do sinal visual. A absorção de um fóton pelo 11-*cis*-retinal provoca sua isomerização para uma forma toda *trans*, provocando uma alteração na estrutura da rodopsina. Esta nova forma da proteína ativa uma proteína G, previamente ligada a GDP. Pela ativação, há uma troca de GDP por GTP. A subunidade  $\alpha$  da proteína G desliga-se das demais ( $\beta$  e  $\gamma$ ) e associa-se a uma cGMP fosfodiesterase, que é estimulada. Esta ativação provoca a redução do nível celular de cGMP, o que, por sua vez, acarreta o fechamento de canais iônicos dependentes de cGMP. A consequência deste fechamento é a hiperpolarização da membrana, resultando em um potencial de ação e o início do impulso nervoso que, processado pelo

sistema nervoso central, constitui a visão. Neste caso, verificam-se duas transduções de sinal: a transformação de um estímulo físico (o fóton) em diminuição da concentração de um composto químico (cGMP) e a conversão desta diminuição de concentração em um estímulo elétrico.

## Olfato

A transdução de estímulos olfativos é análoga à transdução de sinal dos hormônios que utilizam cAMP como segundo mensageiro (Seção 19.4.1).

Os neurônios olfativos, situados no epitélio nasal, têm numerosos cílios em uma de suas extremidades. Na membrana desses cílios estão presentes centenas de receptores específicos para diferentes compostos voláteis: são os receptores olfativos, da família dos receptores 7TM, associados à proteína  $G_{olf}$ . A ligação de um odorante ao receptor olfativo desencadeia a mesma sequência de eventos da via de transdução de sinal de hormônios que estimulam a adenilato ciclase (Figura 19.4 a). A grande concentração de cAMP resultante determina a abertura de canais iônicos da membrana ciliar, seguida de despolarização da membrana e ativação do neurônio olfativo, na forma de um sinal elétrico enviado ao cérebro. Neste caso, há também duas transduções de sinal: a ligação do odorante levando ao aumento da concentração de cAMP e este aumento provocando o impulso nervoso.

## 19.6 Adrenalina, glucagon e insulina

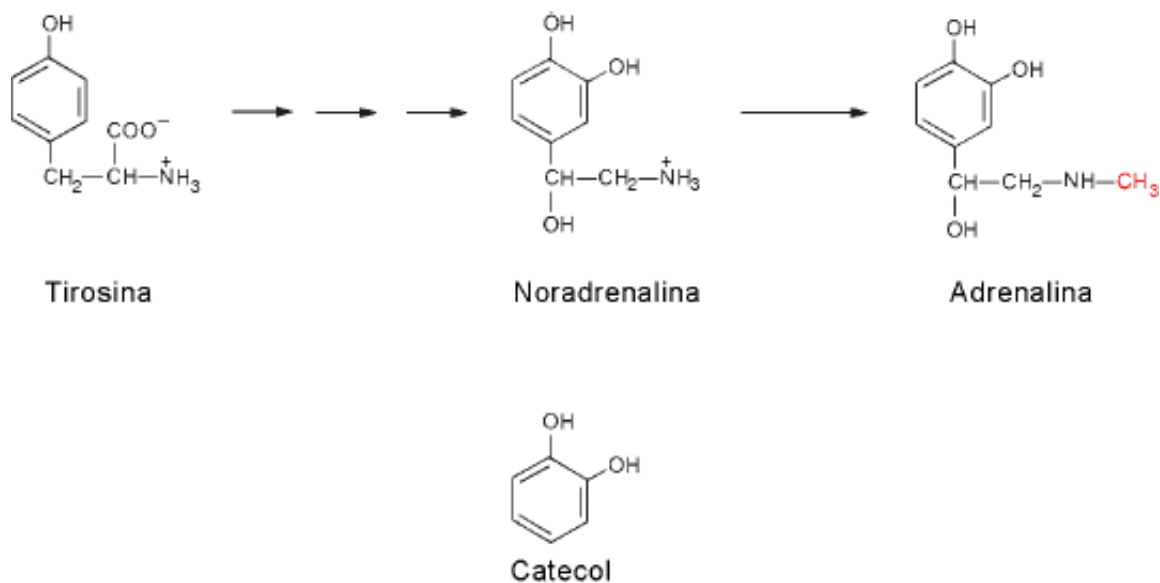
Os hormônios que têm papel fundamental na regulação do metabolismo — *adrenalina*, *glucagon* e *insulina* — são discutidos brevemente neste capítulo. ***Sua atuação em vias metabólicas específicas está analisada nos capítulos seguintes.***

### 19.6.1 Adrenalina (epinefrina)

Os hormônios *adrenalina* (ou *epinefrina*) e *noradrenalina* (ou *norepinefrina*) são sintetizados na medula das glândulas suprarrenais, também denominadas adrenais, a partir de tirosina (Figura 19.9). São chamados, juntamente com a dopamina, de *catecolaminas* por sua semelhança estrutural ao catecol. A adrenalina é o principal produto da medula adrenal, constituindo cerca de 80% das catecolaminas. Também são sintetizadas por neurônios autonômicos, onde atuam como neurotransmissores.

A secreção de adrenalina é provocada por estímulo nervoso autônomo sobre as suprarrenais em situações de perigo real ou imaginário, exercício físico (Capítulo 22), hipoglicemia (Capítulo 21) e exposição a baixas temperaturas. A adrenalina determina uma série coordenada de respostas fisiológicas e metabólicas que permitem ao indivíduo reagir a essas situações. Entre os efeitos mais importantes estão: relaxamento de alguns músculos lisos, como os dos brônquios e das arteríolas dos músculos esqueléticos, facilitando a tomada de ar e a oxigenação dos músculos voluntários; contração dos músculos lisos dos vasos abdominais, desviando mais sangue para os músculos esqueléticos; aumento da força e da frequência cardíacas; glicogenólise muscular e hepática; lipólise no tecido adiposo e gliconeogênese hepática. Seus efeitos metabólicos convergem para aumentar a oferta de substratos oxidáveis, contrapondo-se aos da insulina e coadjuvando os do glucagon.

As diferentes ações da adrenalina sobre os vários tecidos são resultantes da presença de diversos tipos de *receptores adrenérgicos* nas células-alvo. A distinção entre os tipos de receptores é estabelecida com base na atuação de *agonistas*, isto é, substâncias capazes de ligarem-se aos receptores e induzir respostas equivalentes às do hormônio ou de *antagonistas*, compostos que se unem aos receptores, mas sem provocar as ações hormonais. Ainda com base na especificidade ou na potência da ação de agonistas e antagonistas, foram identificados vários subtipos de receptores adrenérgicos:  $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$  e  $\alpha_{1D}$ ;  $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$  e  $\alpha_{2C}$ ;  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  e  $\beta_3$ ;  $DA_1$  a  $DA_5$ .



**Figura 19.9** A tirosina é precursora das catecolaminas, com estrutura semelhante ao catecol. Por reações de hidroxilação e descarboxilação, a tirosina origina a noradrenalina que é metilada, convertendo-se em adrenalina.

Os receptores adrenérgicos, embora provoquem respostas tão diversas, pertencem todos à família dos receptores heptahelicoidais (7TM), acoplados a proteínas G. Dependendo do tipo de receptor ativado ( $\alpha$ ,  $\beta$  etc.), uma via de transdução de sinal é acionada, envolvendo a participação de uma determinada proteína G. A ligação adrenalina-receptor  $\alpha_1$  tem seus efeitos mediados pela proteína  $G_q$  na via da fosfolipase C. Quando se liga a receptores  $\alpha_2$  e aos três subtipos de receptores  $\beta$ , a via de transdução de sinal acionada é a via da proteína quinase A (PKA): no primeiro caso há inibição da adenilato ciclase e no segundo caso, estimulação. Os receptores  $\alpha_2$  são do tipo  $R_i$  e interagem com uma proteína  $G_i$ , que inibe a adenilato ciclase; já os  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  e  $\beta_3$  são receptores  $R_s$ , que determinam a ativação da adenilato ciclase, mediada por proteínas  $G_s$ .

As ações metabólicas da adrenalina (Tabela 19.3) resultam de sua interação com receptores  $\beta$  nos órgãos efetores e do consequente aumento de atividade da PKA.

Como as respostas à ativação dos receptores adrenérgicos são muito variadas, agonistas e antagonistas, por mimetizarem ou inibirem os efeitos hormonais, têm largo emprego terapêutico. Exemplos: *atenolol*, utilizado como hipotensor, é antagonista de  $\beta_1$ , que medeia aumento da pressão arterial; *salmeterol*, agonista de  $\beta_2$ , que causa broncodilatação (Seção 22.6), é empregado no tratamento da asma.

O *cortisol*, um hormônio esteroide produzido pelo córtex das suprarrenais, atua conjuntamente com a adrenalina e glucagon na resposta do organismo ao estresse, aumentando a disponibilidade de substratos oxidáveis. Promove a gliconeogênese por meio de duas ações: estimula a proteólise e a consequente liberação de aminoácidos dos tecidos periféricos (músculos, principalmente) e induz a síntese de enzimas-chave da gliconeogênese. Estimula também a lipólise, contribuindo para a elevação do teor de ácidos graxos circulantes.

**Tabela 19.3** Efeitos metabólicos de adrenalina, insulina e glucagon.

	Adrenalina	Glucagon	Insulina
Glicemia	↑	↑	↓
Glicólise	–	↓	↑
Gliconeogênese	↑	↑	↓
Glicogenólise	↑	↑	↓
Glicogenogênese	–	↓	↑
Lipólise	↑	↑	↓
Lipogênese	–	↓	↑
Cetogênese	–	↑	↓

↑ = glicemia ou velocidade da via aumentada; ↓ = glicemia ou velocidade da via diminuída.

## 19.6.2 Glucagon

O glucagon é um peptídeo formado por 29 aminoácidos, sintetizado pelas células  $\alpha$  das ilhotas de Langerhans do pâncreas. É liberado na corrente sanguínea quando a concentração de glicose circulante é baixa (hipoglicemia). Seu papel fisiológico principal é aumentar a produção e a exportação de glicose pelo fígado, de modo a elevar a glicemia. O glucagon determina este resultado por estimular as vias que produzem glicose — glicogenólise e gliconeogênese — e inibir aquelas que a consomem — síntese de glicogênio e glicólise.

Seus efeitos metabólicos, com exceção da estimulação da síntese de glicose nos hepatócitos, são eminentemente degradativos (Tabela 19.3), incidindo sobre carboidratos, lipídios e proteínas, em especial no fígado e tecido adiposo. Essas ações do glucagon somam-se às da adrenalina, fazendo parte da adaptação do organismo a situações de carência de nutrientes nos intervalos entre as refeições e no jejum (Capítulo 21). No tecido muscular, desprovido de receptores de glucagon, predominam os efeitos da adrenalina.

A transdução de sinal do glucagon ocorre pela via da proteína quinase A (PKA). O glucagon liga-se a seus receptores ( $R_S$ ) na membrana plasmática das células-alvo e eles passam a interagir com uma proteína  $G_S$ , que estimula a adenilato ciclase: o nível de cAMP aumenta, resultando na ativação da PKA. As reações de fosforilação catalisadas pela PKA são responsáveis pela interferência do glucagon no metabolismo e na transcrição gênica.

A regulação da secreção de glucagon durante a hipoglicemia é complexa, envolvendo a participação de diversos fatores. É estimulada por adrenalina, também liberada nessa condição, e que inibe a secreção de insulina; a glicose, direta ou indiretamente, por ação mediada por insulina, inibe a secreção de glucagon. Estes fenômenos ilustram a oposição funcional entre glucagon (e adrenalina) e insulina. No diabetes, estes mecanismos de controle estão alterados: a secreção de glucagon diminui na hipoglicemia e permanece elevada na hiperglicemia.

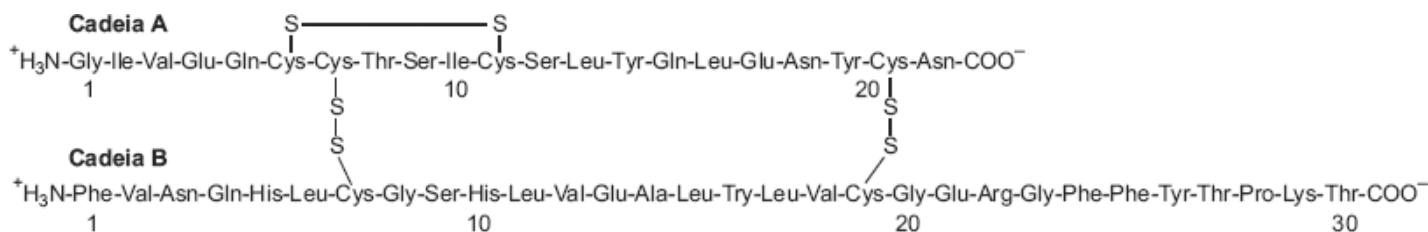
### 19.6.3 Insulina

A insulina é uma proteína pequena, formada por 51 aminoácidos organizados em duas cadeias polipeptídicas ligadas por pontes dissulfeto (Figura 19.10). É secretada pelas células  $\beta$  das ilhotas de Langerhans do pâncreas, em resposta à hiperglicemia, e tem efeitos metabólicos antagônicos aos do glucagon e da adrenalina (Tabela 19.3). Os níveis de insulina e glucagon sofrem uma alternância periódica estritamente regulada (Figura 21.1). Na deficiência de insulina, como no *diabetes tipo 1*, os níveis de glucagon aparecem sempre muito elevados.

A insulina liga-se a seu receptor na superfície celular, desencadeando cascatas de sinais que regulam muitos processos celulares.

#### Níveis altos de insulina provocam diminuição do número de seus receptores

Há uma relação inversa entre a concentração plasmática de insulina e o número de seus receptores. Como acontece com outros hormônios que se ligam a receptores na superfície celular (Seção 19.4), esta regulação é mantida por endocitose do complexo insulina-receptor, seguida por proteólise da insulina e de parte dos receptores, e pelo retorno do restante deles para a membrana. Na ausência do hormônio, os receptores são sintetizados, restabelecendo a sua quantidade normal. Quando o nível de insulina é mantido alto, a recomposição dos receptores não se completa e, a longo prazo, verifica-se uma diminuição do número de receptores. É o que ocorre no diabetes tipo 2, em que há uma diminuição da resposta celular à insulina, frente aos níveis aumentados do hormônio.

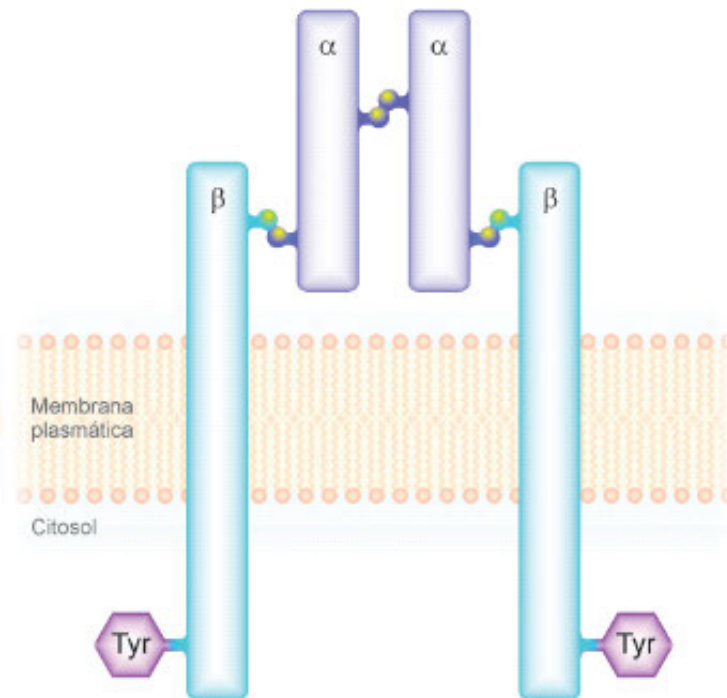


**Figura 19.10** Estrutura da insulina humana. A insulina é sintetizada como única cadeia polipeptídica, contendo mais 24 aminoácidos ligados ao resíduo  $B_1$  e 35 aminoácidos ligando  $B_{30}$  a  $A_1$ . Por ação de enzimas hidrolíticas, estes segmentos são eliminados, restando as duas cadeias unidas por pontes dissulfeto que constituem a forma funcional do hormônio.

#### O receptor da insulina tem atividade de proteína quinase

O receptor de insulina está presente na membrana plasmática de todas as células de mamíferos, em quantidades que variam de algumas poucas dezenas em hemácias até milhares em hepatócitos e adipócitos. É uma glicoproteína constituída por duas subunidades  $\alpha$  e duas  $\beta$ , ligadas por pontes dissulfeto (Figura 19.11).





**Figura 19.11** O receptor de insulina é uma proteína transmembrana formada por quatro subunidades ( $\alpha_2\beta_2$ ), unidas por pontes dissulfeto (cada uma representada por duas pequenas esferas unidas). A ligação do hormônio se dá nas subunidades  $\alpha$ ; os segmentos internos das subunidades  $\beta$  contêm diversos resíduos de tirosina (Tyr) passíveis de autofosforilação (a figura mostra somente um destes resíduos em cada subunidade  $\beta$ ).

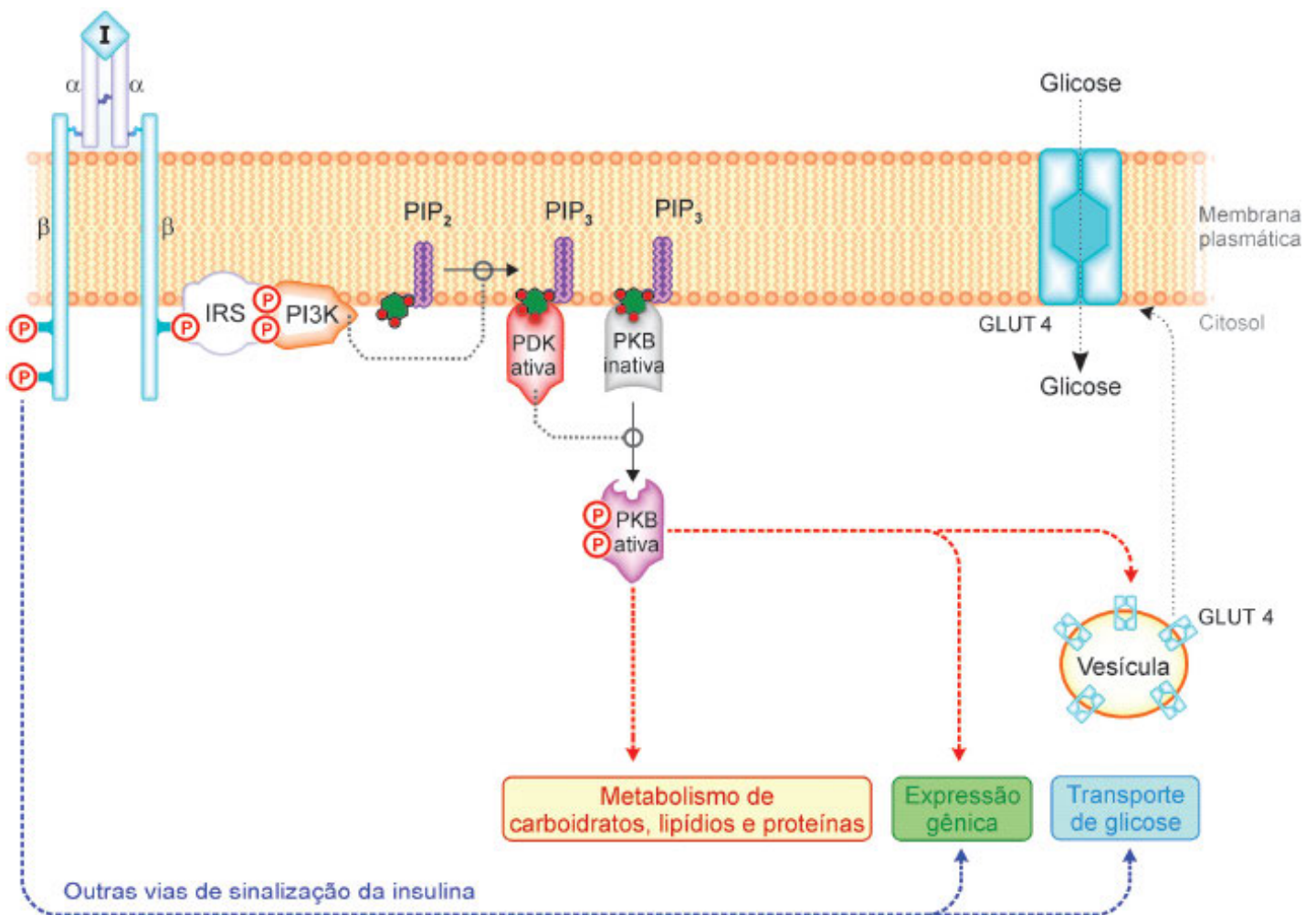
As subunidades  $\alpha$  situam-se extracelularmente e as subunidades  $\beta$  atravessam a membrana plasmática. A porção citoplasmática das subunidades  $\beta$  apresenta atividade de proteína quinase, específica para resíduos de tirosina — *tirosina quinase* — e contém resíduos de tirosina suscetíveis à fosforilação. A ligação da insulina às subunidades  $\alpha$  ativa as subunidades  $\beta$ , que catalisam a fosforilação cruzada daqueles resíduos, ou seja, uma subunidade  $\beta$  fosforila tirosinas da outra subunidade  $\beta$  — o receptor de insulina funciona como a glicogenina (Seção 13.1), por constituir-se em enzima e substrato.

A autofosforilação do receptor faz aumentar sua atividade intrínseca de tirosina quinase, o que desencadeia a fosforilação em cascata de uma série de proteínas sinalizadoras, muitas das quais são também proteína quinases — são acionadas diferentes vias de transdução de sinal, responsáveis pelos múltiplos efeitos da insulina, que incidem em processos tão diversos quanto o transporte de metabólitos, a regulação do metabolismo e a proliferação e a diferenciação celulares; em relação à homeostase de glicose, promove a tomada de glicose pelos tecidos periféricos (músculos e tecido adiposo) e suprime a síntese de glicose no fígado.

### A via da PI3K é uma das principais vias de sinalização da insulina

Na via da *fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K, de Phosphatidylinositol 3-Kinase)* (Figura 19.12), o receptor, na presença de insulina, sofre autofosforilação e liga-se a proteínas denominadas *IRS* (de *Insulin Receptor Substrates*). IRS pertencem à família das chamadas *proteínas adaptadoras*, que apresentam a propriedade de se ligar aos resíduos fosforilados de tirosina do receptor. O receptor, então com a atividade de tirosina quinase estimulada, fosforila IRS. As proteínas adaptadoras, quando fosforiladas, funcionam como adesivos moleculares, recrutando os demais componentes intracelulares da cascata de sinalização e conectando-os ao receptor ativado na superfície celular. Um destes efetores é a *lipídio quinase* que empresta seu nome à via — *fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K)* —, que se associa aos resíduos fosforilados de tirosina de IRS e se torna estimulada. A enzima introduz um grupo fosfato no carbono 3 do anel inositol do fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato ( $PIP_2$ ), o fosfolípido da membrana plasmática mostrado na Figura 19.7 a, convertendo-o em *fosfatidilinositol 3,4,5-trisfosfato (PIP<sub>3</sub>)*.

O aumento da concentração de  $PIP_3$  cria, em regiões restritas da membrana, ancoradouros moleculares para proteínas que, na ausência da insulina, encontram-se dispersas no citosol. Várias proteínas sinalizadoras têm domínios que se ligam especificamente a este fosfoinositídeo. Da união com  $PIP_3$ , resultam a ativação e a aproximação dessas proteínas, que se organizam em complexos sinalizadores que atuam coordenada e sequencialmente.



**Figura 19.12** Via de transdução de sinal da fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K). Na presença de insulina, o receptor é estimulado e adiciona grupos fosfato (Ⓟ) a resíduos de tirosina de suas subunidades β. A proteína adaptadora IRS liga-se a estes resíduos e é fosforilada pelo receptor. Uma vez nesta forma, IRS associa-se a PI3K, que se torna ativa e converte PIP<sub>2</sub> em PIP<sub>3</sub>. Duas proteínas quinases citosólicas ancoram-se nas moléculas de PIP<sub>3</sub>: PDK e PKB. A união a PIP<sub>3</sub> aproxima as quinases e estimula PDK, que fosforila PKB, ativando-a. PKB, então, passa a atuar sobre os diversos processos celulares controlados por insulina: o metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas, a expressão gênica e o transporte de glicose.

Uma proteína importante estimulada por ligação a PIP<sub>3</sub> é a *proteína quinase dependente de fosfoinosítido* (PDK, de *Phosphoinositide-dependent Kinase*). PDK fosforila, e estimula, algumas proteínas quinases, das quais se destaca a *proteína quinase B* (PKB). PKB é uma proteína quinase específica para resíduos de serina e treonina, assim denominada por guardar semelhanças com a proteína quinase A (PKA) e a proteína quinase C (PKC) em mamíferos; é também chamada de *Akt*<sup>2</sup>. PKB tem atuação ampla e diversificada: além de ser ativada em diversos cânceres humanos, efetua o acoplamento de sinais extracelulares e o metabolismo.

### A insulina interfere na fosforilação e na síntese de enzimas

A insulina foi purificada em 1922 e, a despeito de intensa investigação ao longo de 90 anos, o mecanismo da sua atuação permanece controverso. As respostas fisiológicas à insulina, tais como o controle do metabolismo, da transcrição gênica e da síntese proteica, além do transporte de glicose e aminoácidos, poderiam ser devidas a modificações no estado de fosforilação e, conseqüentemente, no funcionamento de proteínas efetoras. Admite-se que a proteína quinase B (PKB), o componente final da via da PI3K (Figura 19.12), seja capaz de mediar a maioria dos efeitos metabólicos da insulina.

Os eventos de fosforilação catalisados pela PKB convergem para a predominância das formas *desfosforiladas* de enzimas, porque alguns de seus substratos são:

1. fosfoproteína fosfatases, a principal sendo a fosfoproteína fosfatase-1 (PP-1), que se tornam estimuladas e passam a remover os grupos fosfato de enzimas;
2. fosfodiesterase de cAMP, que é ativada, levando à diminuição do nível de cAMP e à desativação da proteína quinase dele dependente, a PKA;
3. proteínas quinases, como a proteína quinase dependente de AMP (AMPK — Seção 19.7) e a glicogênio sintase quinase (GSK-3), que são inativadas e deixam de fosforilar enzimas.

A *glicogênio sintase quinase (GSK-3)*, em células não estimuladas, é ativa e catalisa a adição de grupos fosfato a várias enzimas<sup>3</sup>, inclusive a glicogênio sintase, inibindo-as. Com insulina, PKB fosforila e inativa GSK-3, suspendendo o bloqueio exercido sobre certas vias metabólicas, como a síntese de glicogênio (Seção 20.1).

Tais ações da insulina fariam prevalecer as formas desfosforiladas de enzimas e explicariam seu antagonismo ao glucagon e à adrenalina. Na realidade, o mecanismo das respostas à insulina é mais complexo e não completamente compreendido.

Além de modificar a atividade enzimática, a insulina determina alterações na concentração de enzimas nos seus tecidos-alvo, em especial nos músculos esqueléticos e cardíaco, tecido adiposo e fígado, por intervenção na transcrição dos genes que as codificam. Conhecem-se, atualmente, mais de uma centena de RNAs mensageiros cuja síntese é regulada por insulina. Um exemplo importante ocorre na interrupção da síntese de glicose no fígado: PKB, a proteína quinase ativada na via da PI3K, fosforila e inativa fatores de transcrição, impedindo a transcrição dos genes de enzimas da gliconeogênese, como fosfoenolpiruvato carboxiquinase e glicose 6-fosfatase; a insulina, então, inibe a gliconeogênese, por desligar a expressão desses genes. Outro nível de atuação da insulina é a tradução de RNAs mensageiros: ela modula a síntese proteica por meio da fosforilação de proteínas ribossomais e de fatores de iniciação e de alongamento. A modulação da expressão gênica por insulina envolve a participação de outras vias de transdução de sinal, além da via da PI3K.

### A insulina aumenta o transporte de glicose para o interior das células

O transporte de glicose através da membrana plasmática das células de mamíferos é um processo passivo, catalisado por uma família de permeases, denominadas *GLUT* (de *Glucose Transporter*) 1 a 14, segundo a ordem de sua descoberta. Estes transportadores diferem quanto à distribuição pelos tecidos, às propriedades cinéticas e à especificidade em relação ao substrato (alguns transferem também outros açúcares); diferem ainda quanto à sensibilidade à insulina.

O grupo mais bem caracterizado de GLUTs compreende GLUT 1 a 4 (Tabela 19.4). *GLUT 1*, 3 e 4 são proteínas com alta afinidade por glicose. Por exibirem valores de  $K_M$  menores que a concentração normal de glicose sanguínea (5 a 8 mM — Figura 21.1 A), são responsáveis pela captação basal do açúcar. *GLUT 2* tem baixa afinidade por glicose, contribuindo para a captação de glicose apenas quando a glicemia aumenta, como após as refeições. Das quatro permeases referidas, somente *GLUT 4* é dependente de insulina.

*GLUT 1* tem distribuição ubíqua, sendo mais abundante em células que obtêm energia exclusivamente a partir de glicose, como hemácias e cérebro; ocorre também em quantidades moderadas no tecido adiposo, músculos e fígado.

*GLUT 2* é expresso primariamente nas células  $\beta$  do pâncreas e no fígado. Em hiperglicemia, a velocidade do transporte de glicose por *GLUT 2* é diretamente proporcional à concentração do substrato ( $K_M$  muito acima da glicemia normal), ao passo que os outros transportadores do grupo estão saturados, funcionando em velocidades constantes. Por esta razão, *GLUT 2* atua como um sensor de glicose nas células  $\beta$  do pâncreas: no estado pós-prandial, quando a glicemia aumenta, essas células respondem com liberação de insulina. O fígado tem uma situação especial no que se refere à dependência de insulina: embora *GLUT 2*, que medeia a entrada de glicose, seja insensível ao hormônio, o fígado depende da insulina para a síntese de glicoquinase, sem a qual não pode utilizar a glicose. *GLUT 2* transporta também frutose em rins e intestino delgado.

**Tabela 19.4 Transportadores de glicose em mamíferos.**

Transportador	Localização	$K_M$ para glicose (mM)	Dependência de insulina
GLUT 1	Todos os tecidos, abundante em cérebro e hemácias	1-5	Não
GLUT 2	Fígado, células $\beta$ do pâncreas, rins, intestino delgado	15-25	Não
GLUT 3	Cérebro	1-5	Não
GLUT 4	Tecido adiposo, músculos esqueléticos e cardíaco	1-5	Sim

Concentração normal de glicose sanguínea = 5 a 8 mM.

*GLUT 3* é o principal transportador dos neurônios do cérebro. Sua alta afinidade pelo substrato (tem o menor  $K_M$  para glicose) é coerente com a necessidade de glicose pelo cérebro, garantindo a utilização mesmo quando a glicemia é baixa.

*GLUT 4* catalisa o transporte de glicose nos tecidos adiposo e muscular (esquelético e cardíaco), que pode ser aumentado por insulina de 10 a 20 vezes, em poucos segundos. A transferência de glicose para o interior dessas células

resulta em diminuição do aumento pós-prandial do nível de glicose plasmática, o efeito mais rápido e marcante da insulina.

A insulina facilita ainda o transporte de aminoácidos para as células, particularmente as musculares.

### A estimulação do transporte de glicose por insulina é mediada pela via da PI3K

As bases moleculares das atuações da insulina são tão complexas que o conhecimento disponível sobre o seu efeito de aumentar a permeabilidade da membrana plasmática à glicose, descrito há mais de 50 anos, permanece incipiente.

GLUT 4, o transportador de glicose em músculos e tecido adiposo, fica armazenado em vesículas citosólicas que, na presença de insulina, são deslocadas para a membrana plasmática, com a qual se fundem por exocitose, posicionando GLUT 4 na membrana (Figura 19.12). O estímulo da entrada de glicose deve-se ao maior número de moléculas de GLUT presentes na superfície celular.

A mobilização de GLUT 4 dos estoques internos para a membrana plasmática envolve a participação da via da fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K). Esta via, portanto, além de interferir na regulação do metabolismo e da expressão gênica, promove o transporte de glicose.

A atividade física promove o deslocamento de GLUT 4 para a membrana, aumentando a permeabilidade das fibras musculares à glicose. Este efeito permanece normal na vigência da resistência à insulina e, por esta razão, o exercício é recomendado para o controle da glicemia em portadores de diabetes. Diversas hipóteses têm sido propostas para explicar este resultado do exercício (Seção 19.7).

### A insulina também age no cérebro, regulando o apetite

A insulina, além de atuar nos tecidos-alvo periféricos (fígado, adiposo, músculo), age diretamente no cérebro — neurônios de diversas áreas do hipotálamo expressam o receptor de insulina. O hipotálamo coordena os sinais nutricionais e hormonais, desempenhando um papel decisivo na regulação do balanço energético e do metabolismo. Determinados efeitos da insulina no sistema nervoso central coincidem com os da leptina, que também tem seus receptores concentrados no hipotálamo: ambas sinalizam saciedade, diminuindo o apetite. As vias de transdução de sinal de insulina e leptina têm etapas comuns, que resultam na ativação da fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K). Na obesidade, a tomada de alimento permanece em níveis normais ou aumentados apesar das altas concentrações plasmáticas dos dois hormônios, sugerindo uma resistência hipotalâmica à sinalização hormonal.

## 19.7 Proteína quinase dependente de AMP (AMPK)

A *proteína quinase dependente de AMP (AMPK)* é uma enzima ubíqua em eucariotos, cuja atividade se eleva em situações de estresse como hipóxia, jejum etc. e na atividade física, quando o consumo de ATP provoca aumento na razão AMP/ATP. Sua estimulação resulta de regulação alostérica por AMP e de fosforilação por proteína quinases ainda indefinidas. Apesar de o nome da enzima derivar do efeito do AMP sobre sua atividade, este é modesto (aumento de até cinco vezes) em comparação com o acréscimo promovido por modificação covalente, que chega a 1.000 vezes. Por outro lado, alguns estudos sugerem que a proteína quinase B (PKB), estimulada por insulina (Figura 19.12), fosforila AMPK em sítios diferentes, causando a sua inativação.

Uma vez na forma ativa, AMPK fosforila proteínas-alvo nos tecidos periféricos, causando o bloqueio de vias que consomem ATP, como a síntese de ácidos graxos e de colesterol, e a ativação de vias que levam à produção de ATP, como a oxidação de ácidos graxos e a glicólise. No hipotálamo, atua como mediadora das ações de hormônios e adipocinas, de modo a garantir a manutenção do sinal de fome durante períodos de balanço de energia negativo; insulina e leptina, que reduzem a ingestão de alimentos, suprimem a atividade da AMPK nos neurônios hipotalâmicos. Deste modo, além de regular a oxidação e o armazenamento de substratos nos tecidos periféricos, a AMPK participa do controle central do apetite.

O transporte de glicose em músculos esqueléticos de mamíferos é estimulado por insulina e também pelo exercício. A indução do transporte pela contração muscular é insulino independente, e seria regulada por AMPK.

AMPK pode ser ativada por vários agentes farmacológicos. É o que acontece com *antidiabéticos orais*, como a *metformina* (Seção 21.4). Por participar do controle da saciedade, AMPK é alvo de interesse para o desenvolvimento de fármacos para o tratamento da obesidade e do diabetes tipo 2. Embora as bases moleculares do efeito do exercício não sejam completamente conhecidas, sua aplicação terapêutica é fundamental para diabéticos e obesos, por causar uma melhora significativa na resistência à insulina.

## Bibliografia

- Agius L: Physiological control of liver glycogen metabolism: lessons from novel glycogen phosphorylase inhibitors. *Mini Rev Med Chem* **10** (12): 1175-1187, 2010.
- Aronson JK: Where name and image meet — the argument for “adrenaline”. *BMJ* **320** (7233): 506-509, 2000.
- Barnes PJ: Theophylline. *Am J Respir Crit Care Med* **188** (8): 901-906, 2013.
- Buchen L: Cell signalling caught in the act. *Nature* **475**: 273-274, 2011.
- Carling D *et al.*: AMP-activated protein kinase: nature’s energy sensor. *Nature Chem Biol* **7** (8): 512-518, 2011.
- Chen J F *et al.*: Adenosine receptors as drug targets — what are the challenges? *Nat Rev Drug Discov* **12** (4): 265-286, 2013.
- Edelstein SJ: Allosteric interactions after 50 years. *J Mol Biol* **425** (9): 1391-1395, 2013.
- Hay N: Akt isoforms and glucose homeostasis — the leptin connection. *Trends Endocrinol Metab* **22** (2): 66-73, 2011.
- Heroes E *et al.*: The PP1 binding code: a molecular-lego strategy that governs specificity. *FEBS J* **280** (2): 584-595, 2013.
- Leto D, Saltiel AR: Regulation of glucose transport by insulin: traffic control of GLUT4. *Nature Rev Mol Cell Biol* **13** (6): 383-396, 2012.
- Rasmussen SGF *et al.*: Crystal structure of the  $\beta_2$  adrenergic receptor-Gs protein complex. *Nature* **477** (7366): 549-55, 2011.
- Siu FY *et al.*: Structure of the human glucagon class B G-protein-coupled receptor. *Nature* **499** (7459): 444-449, 2013.
- Stark R *et al.*: AMPK and the neuroendocrine regulation of appetite and energy expenditure. *Mol Cell Endocrinol* **366** (2), 215-223, 2013.
- Taylor CW, Dale P: Intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  channels — a growing community. *Mol Cell Endocrinol* **353** (1-2): 21-28, 2012.
- Vanhaesebroeck B *et al.*: PI3K signalling: the path to discovery and understanding. *Nature Rev Mol Cell Biol* **13** (3): 195-203, 2012.
- Zorn JA, Wells JA: Turning enzymes ON with small molecules. *Nat Chem Biol* **6** (3): 179-188, 2010.



---

<sup>1</sup>As siglas da denominação inglesa das proteína quinases, fosfoproteína fosfatases e de outras enzimas serão adotadas neste texto, graças ao seu uso consagrado na literatura.

<sup>2</sup>O acrônimo *Akt* não tem relação com a função da enzima, referindo-se à designação da linhagem de camundongo, *Ak*, da qual foi isolado um retrovírus transformante, *Akt*; o oncogene viral foi denominado *v-akt* e verificou-se que codificava uma proteína quinase específica para serina/treonina. PKB (ou Akt) nas células humanas é codificada pelo gene *c-akt*, homólogo ao oncogene viral *v-akt*.

<sup>3</sup>A enzima GSK-3, diferentemente do que seu nome indica, não é específica para a glicogênio sintase; trata-se de uma proteína quinase.