

# 20 Regulação das Vias Metabólicas Principais

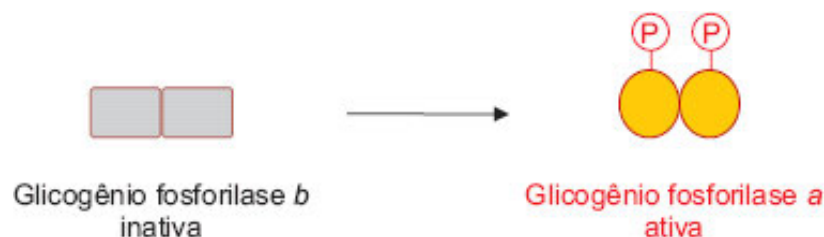
## 20.1 Regulação do metabolismo do glicogênio

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

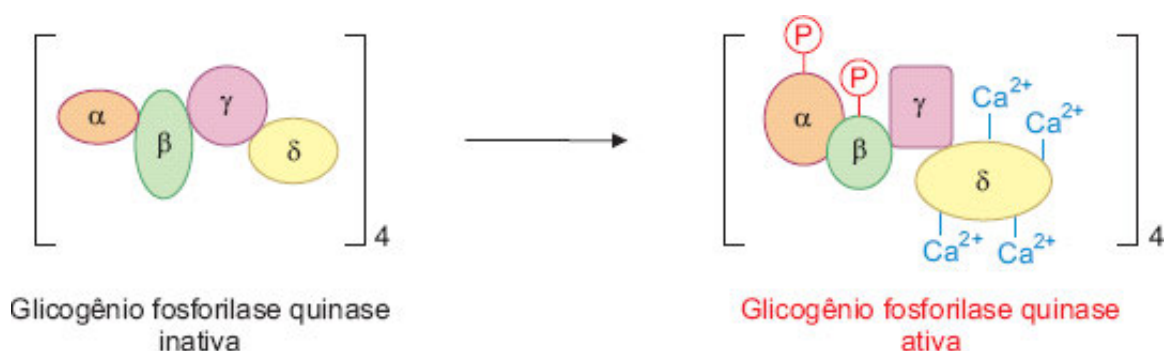
A *glicogênio fosforilase*, a enzima responsável pela glicogenólise, é um dímero e existe em duas formas: a forma *b* (inativa) e a forma *a* (ativa).



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.

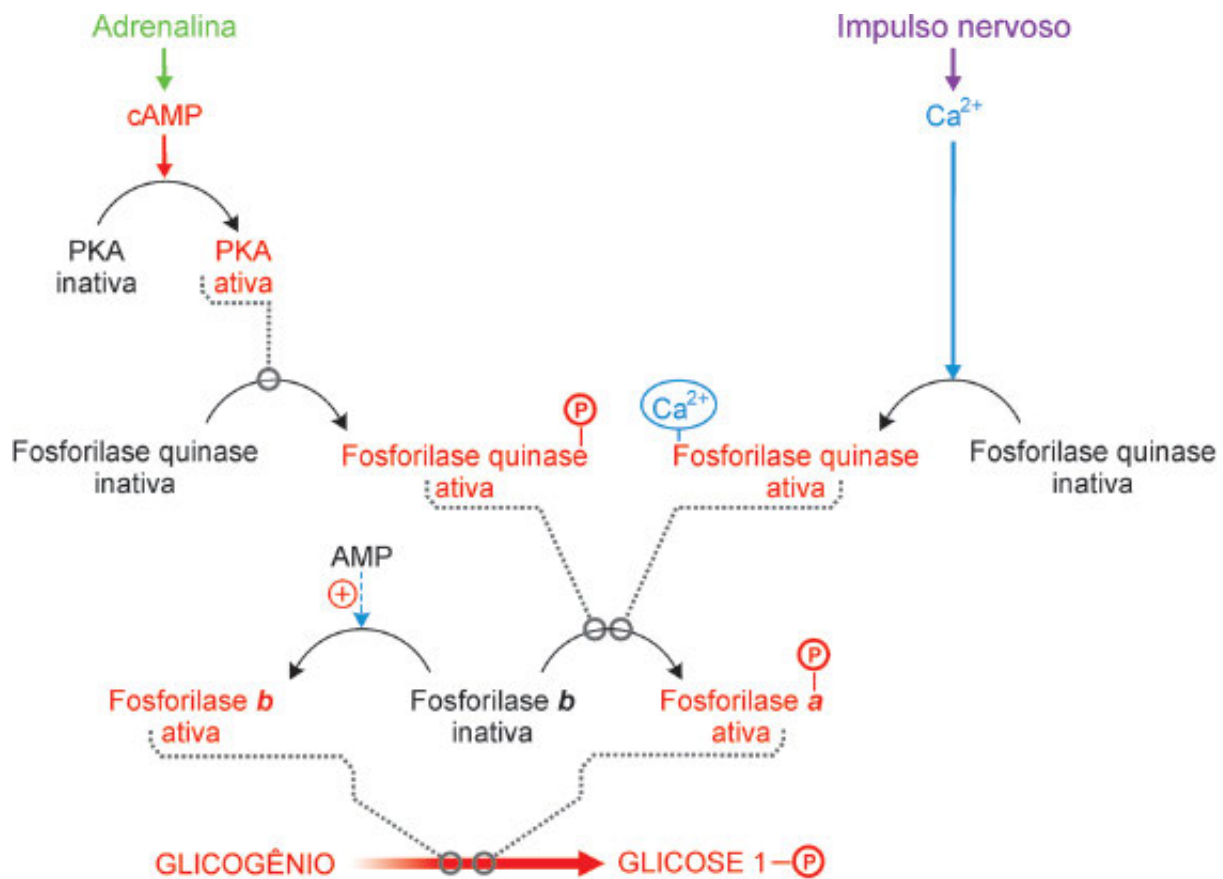


A atividade máxima da enzima é obtida com a configuração representada para a forma ativa no esquema anterior.

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*.

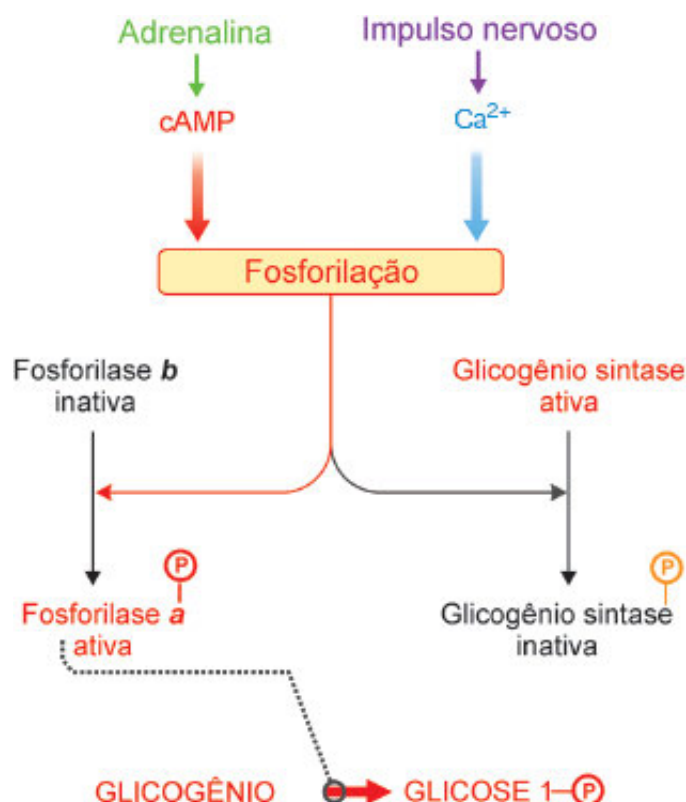
Embora a regulação da glicogênio fosforilase por modificação covalente seja a mais importante e de resultados mais radicais, o conjunto das duas regulações converge todas as formas da enzima para as formas ativas.

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).



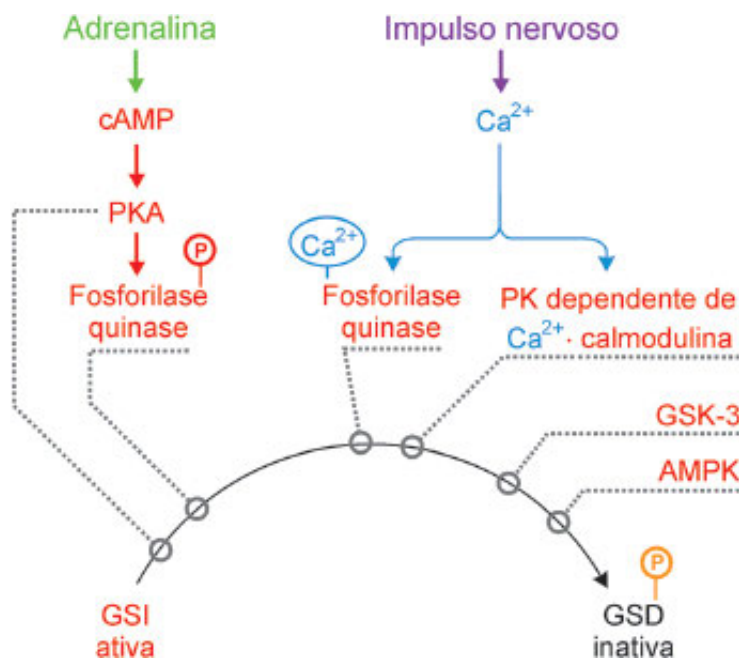
**Figura 20.2** Esquema resumindo os eventos de fosforilação provocados por adrenalina e estímulo nervoso que acarretam o estímulo da degradação e a inibição da síntese do glicogênio muscular.

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:

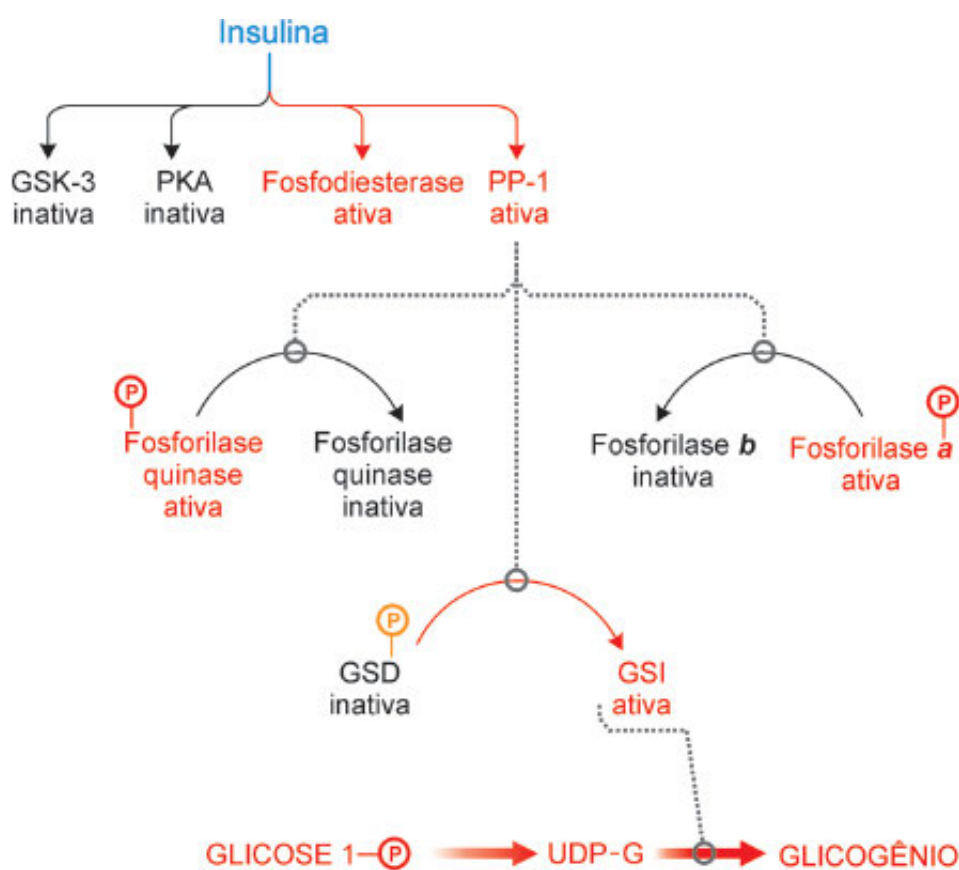
1. Graças à atividade GTPásica da subunidade  $\alpha$  da proteína G, o GTP a ela associado é hidrolisado a GDP. Esta mudança de nucleotídeos diminui a afinidade da subunidade  $\alpha$  pela adenilato ciclase e as duas se separam: a subunidade  $\alpha$  associa-se às outras subunidades da proteína 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 toma-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

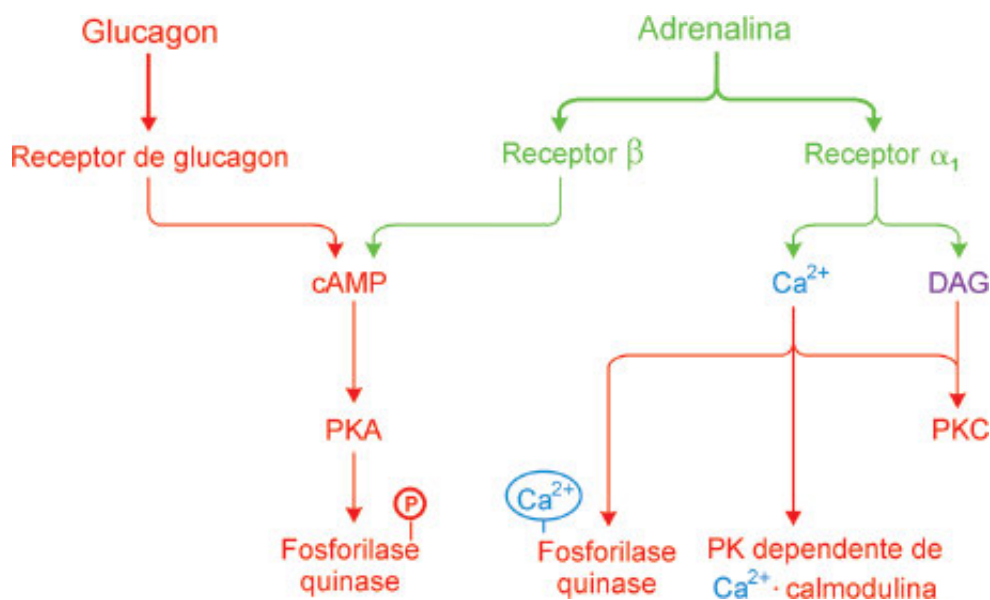
#### A regulação do metabolismo do glicogênio hepático é semelhante à do muscular

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 antagonista 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

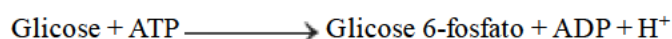
Há três sítios de controle da glicólise e da gliconeogênese: as conversões entre (1) glicose e glicose 6-fosfato; (2) frutose 6-fosfato e frutose 1,6-bisfosfato; (3) fosfoenolpiruvato e piruvato. Deve-se notar que as enzimas-alvo da regulação de ambas as vias catalisam reações irreversíveis. A próxima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

Sítios de controle da glicólise e gliconeogênese (Etapas diferentes nas duas vias)	Enzimas-alvo da regulação (Reações irreversíveis)	
Conversão entre:	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 *fígado*, o principal órgão responsável pela gliconeogênese e no *músculo*.

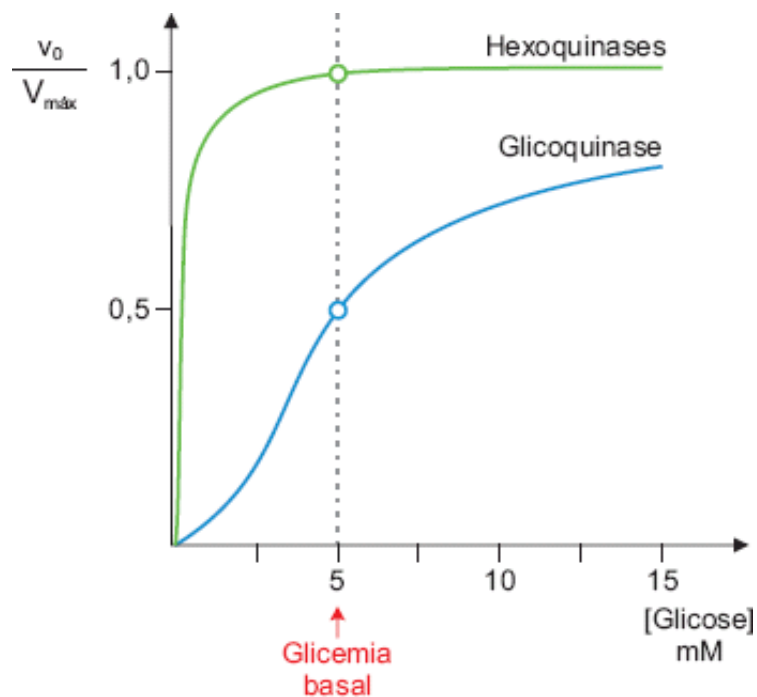
### Primeiro sítio de controle: glicoquinase e glicose 6-fosfatase

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 fígado, 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.

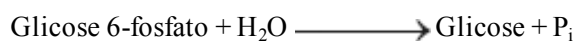


**Figura 20.6** Curvas de saturação com glicose para as hexoquinases I a III e para a glicoquinase. Em valores próximos da concentração basal (de jejum) de glicose plasmática (5 mM), as hexoquinases funcionam em velocidade constante, ao passo que a glicoquinase catalisa a reação em velocidades proporcionais 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:



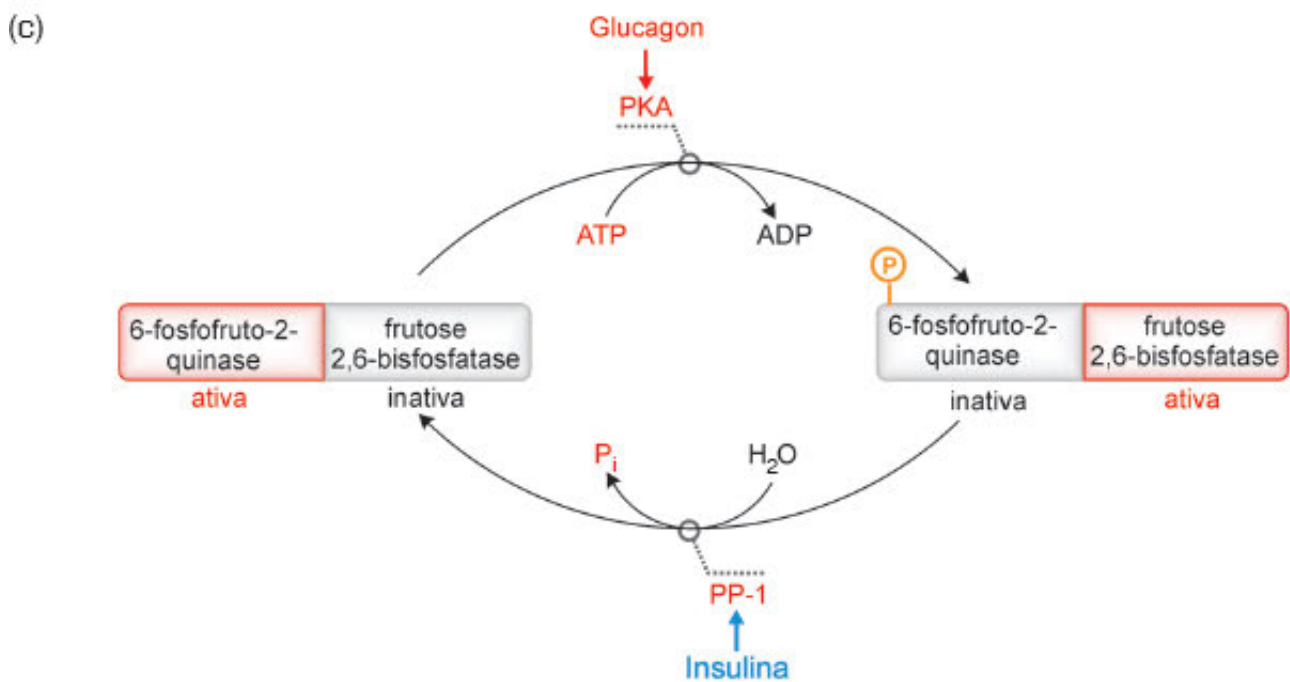
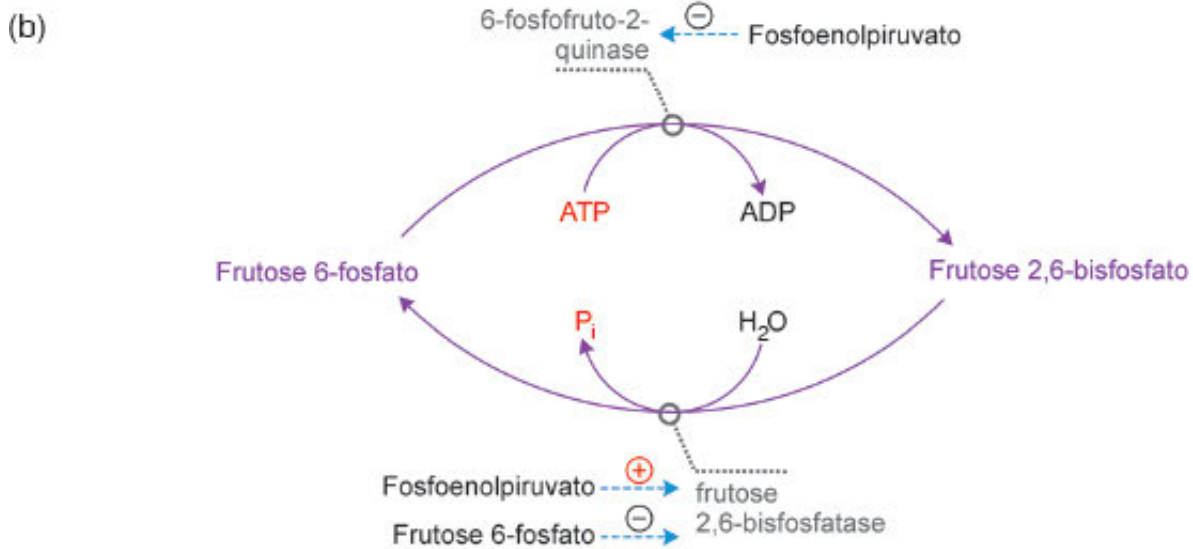
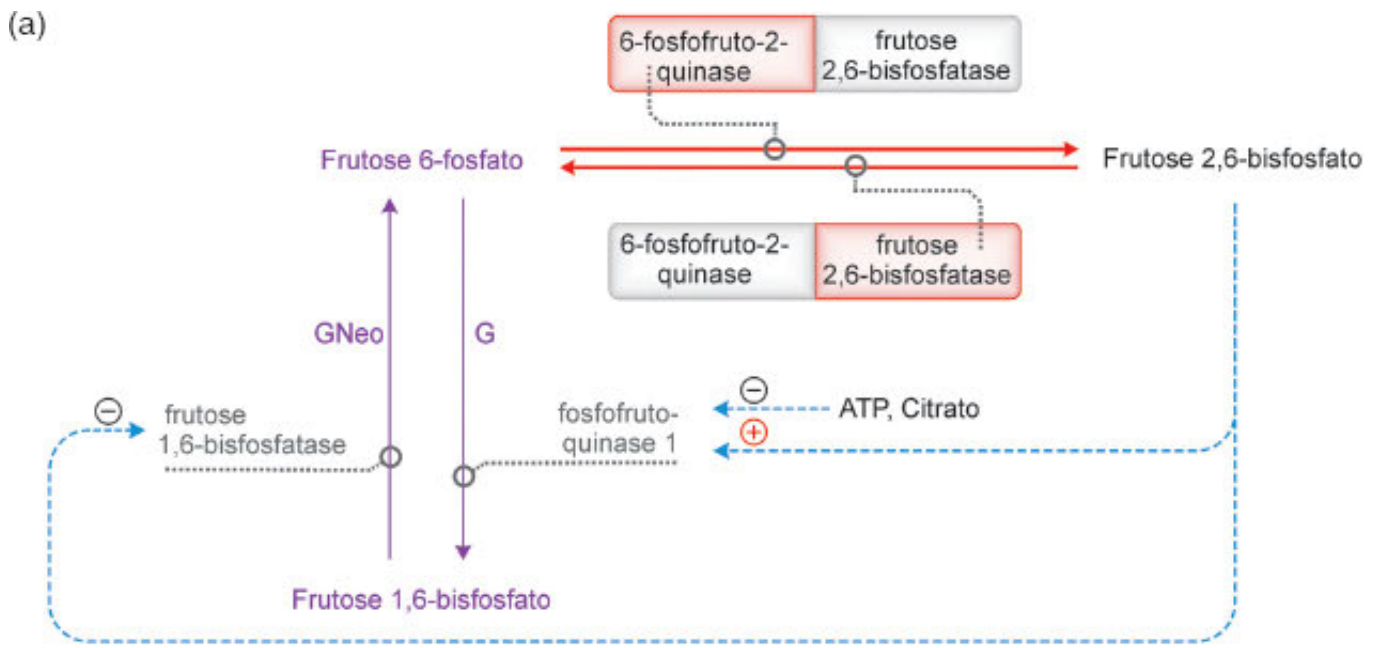


Figura 20.7 Segundo sítio de controle da glicólise/gliconeogênese: interconversão de frutose 6-fosfato e frutose 1,6-bisfosfato. As

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.

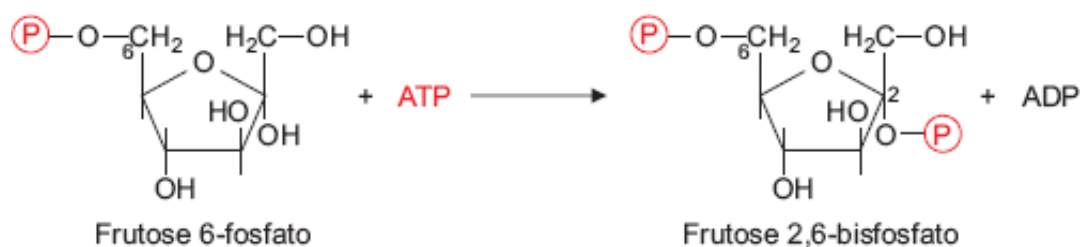
A ativação da fosfofrutoquinase 1 por *AMP* é particularmente importante no caso de músculos esqueléticos em contração vigorosa, quando aumenta a concentração de AMP. Nesta situação, também cresce a disponibilidade de substrato para a glicólise, por duas razões: a proteína quinase dependente de AMP (AMPK) 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.

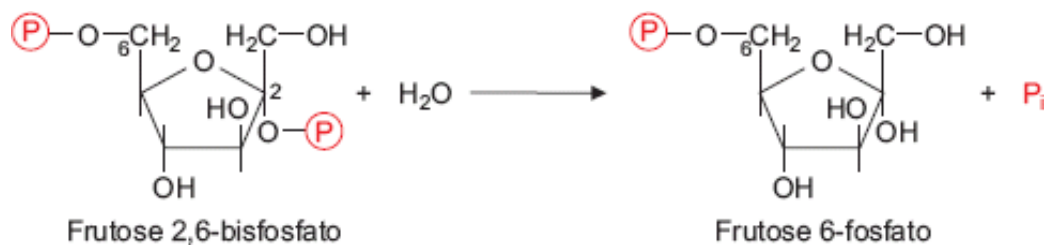
### A produção de frutose 2,6-bisfosfato é submetida a controle alostérico e hormonal

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.

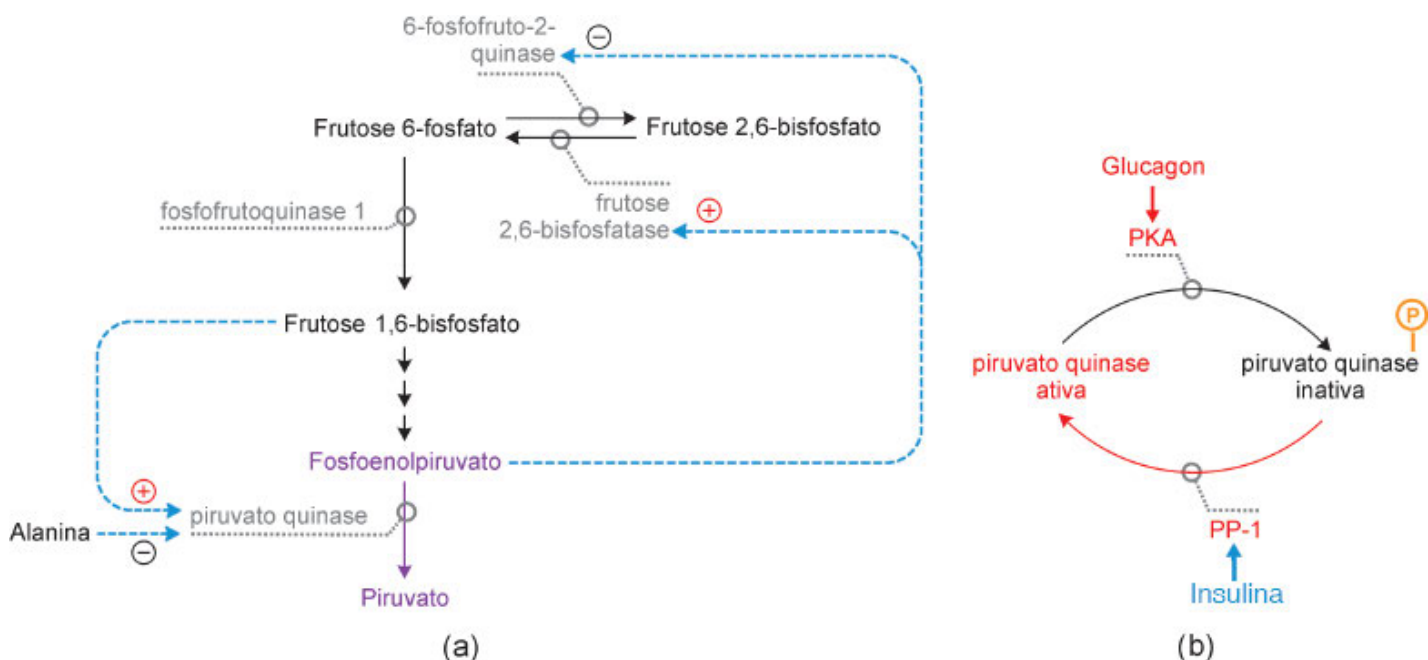
Adrenalina, hipóxia, insulina e contração intensa ativam a glicólise no miocárdio por determinarem a fosforilação e a estimulação da atividade de quinase da enzima bifuncional. A liberação de adrenalina sinaliza a necessidade de produção de ATP para sustentar o trabalho muscular e seu efeito é mediado 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

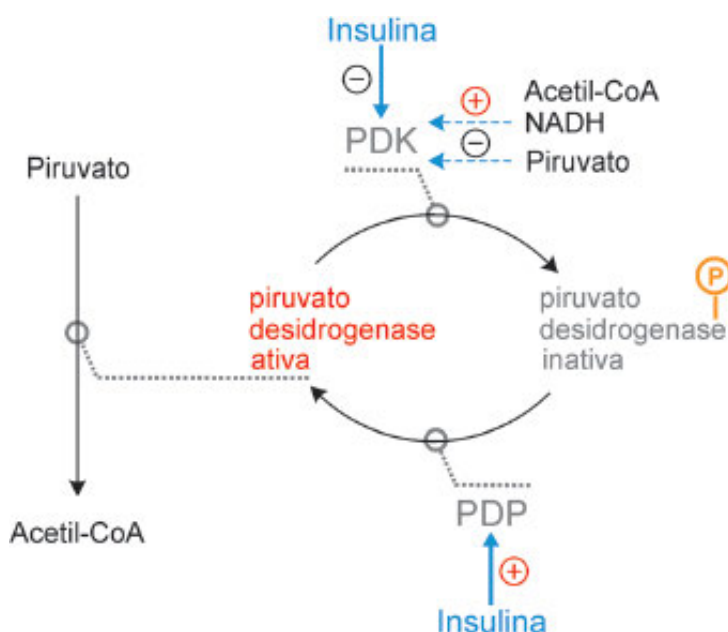
A existência de intermediários comuns — glicose 6-fosfato, frutose 6-fosfato e gliceraldeído 3-fosfato — na glicólise e na via das pentoses fosfato, somada ao fato de ambas as vias ocorrerem no citosol e à reversibilidade das reações catalisadas por transaldolases e transcetolases, permite uma grande 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.

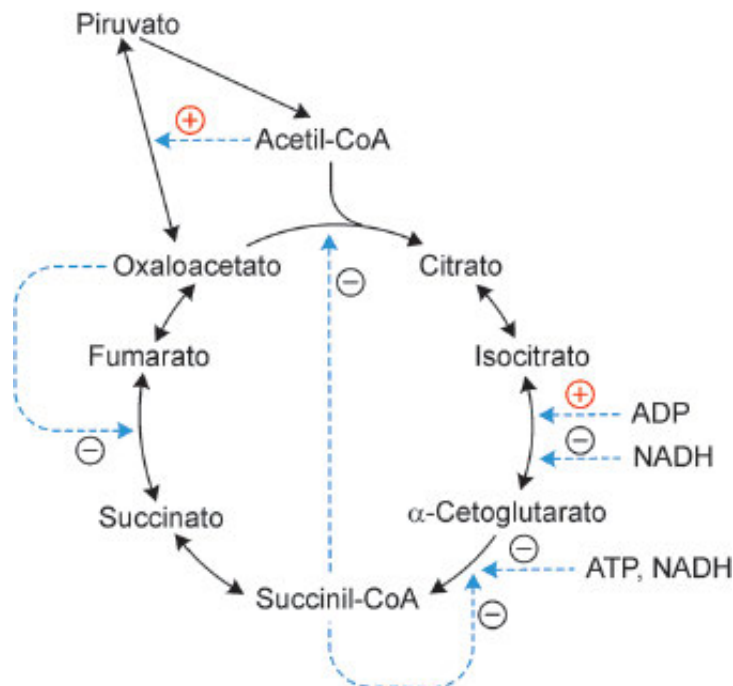
## 20.5 Regulação do ciclo de Krebs

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 tireoidianos*, 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 tireoidianos 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.

## 20.7 Regulação do metabolismo de triacilgliceróis e ácidos graxos

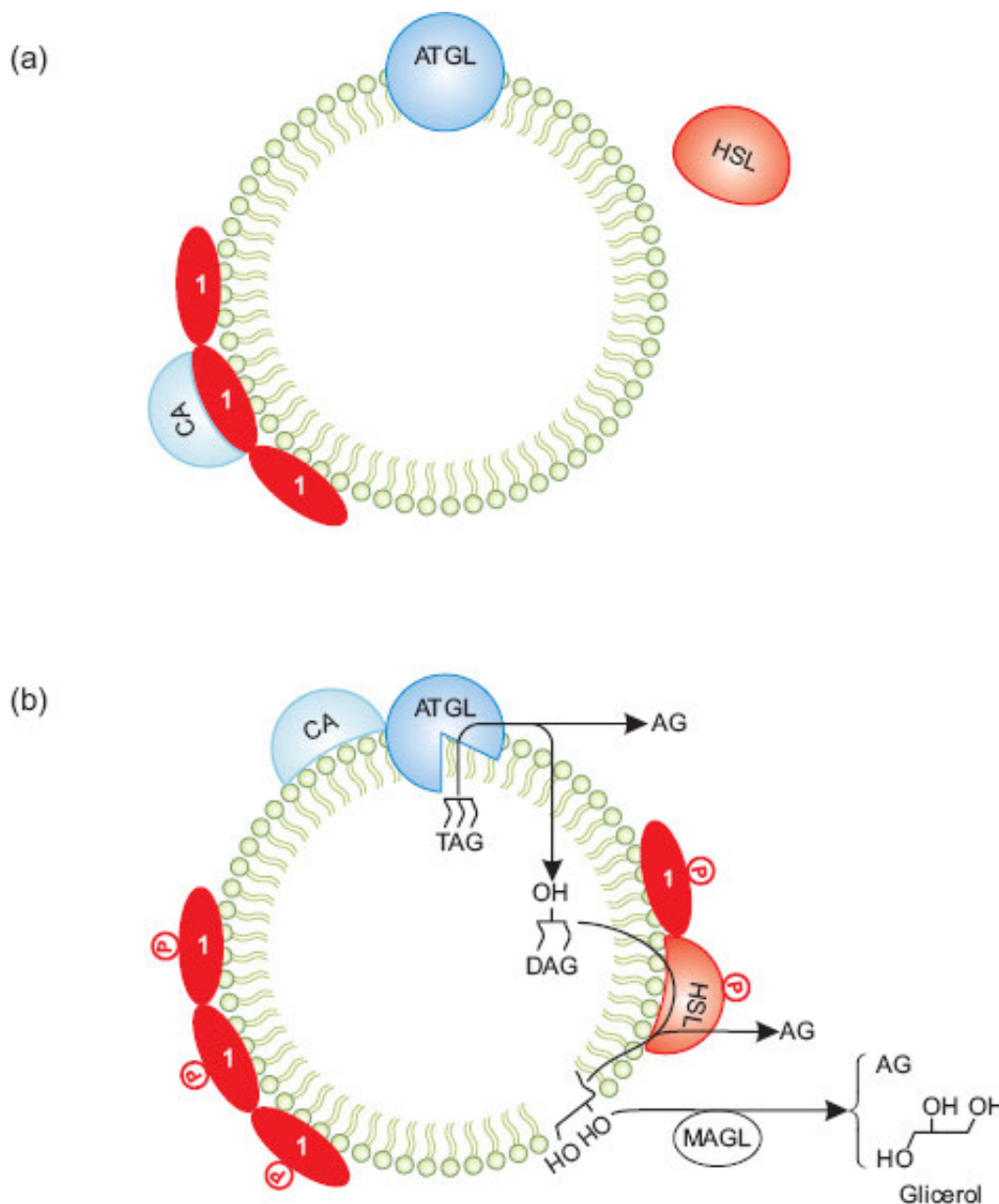
A utilização ou a recomposição do depósito de triacilgliceróis do tecido adiposo — a maior reserva energética dos mamíferos — ocorrem em condições de carência ou abundância de nutrientes, respectivamente, que desencadeiam processos reguladores diferentes. Variações das necessidades energéticas, que acontecem 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 encobrindo 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.

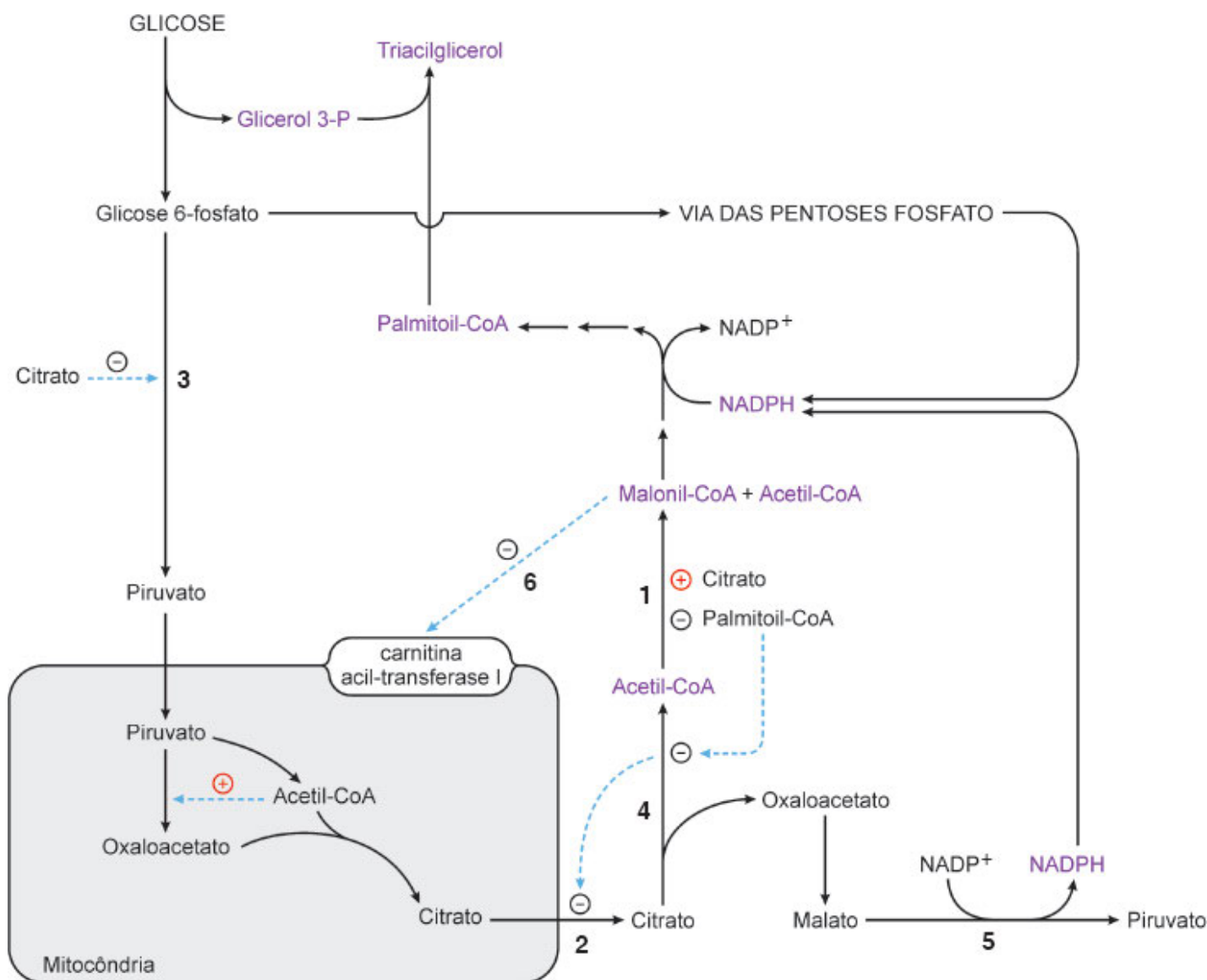
A lipólise sofre controle hormonal por glucagon e adrenalina, antagônico ao da insulina; os hormônios determinam a modificação estrutural da gota de lipídios e da atividade das lipases, por mecanismos não totalmente compreendidos.

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.**

## 20.8 Regulação do metabolismo do colesterol

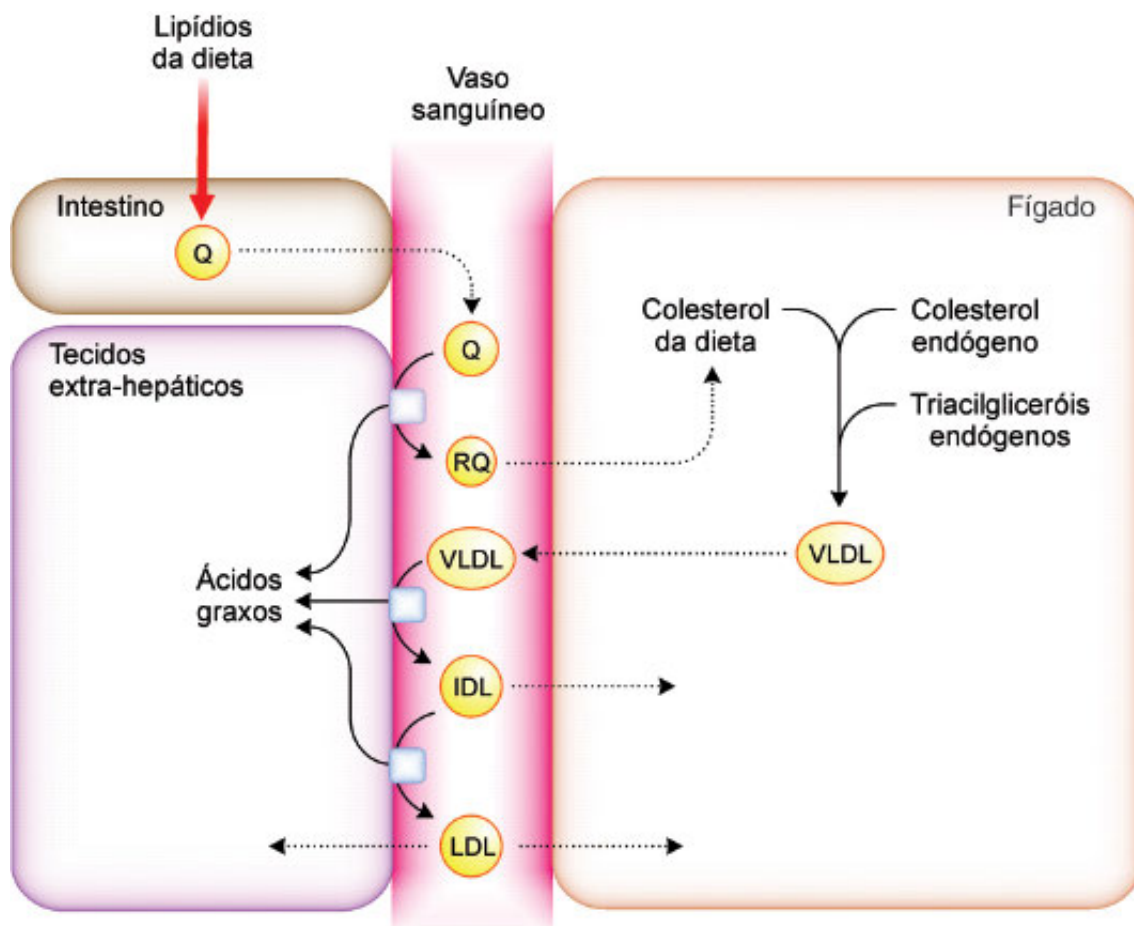
O colesterol é fundamental para os animais vertebrados. É um componente estrutural de membranas, e seus metabólitos, como sais biliares, hormônios esteroides e oxiesteroides desempenham funções biológicas importantes. A regulação da homeostase do colesterol celular e do organismo todo é essencial porque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

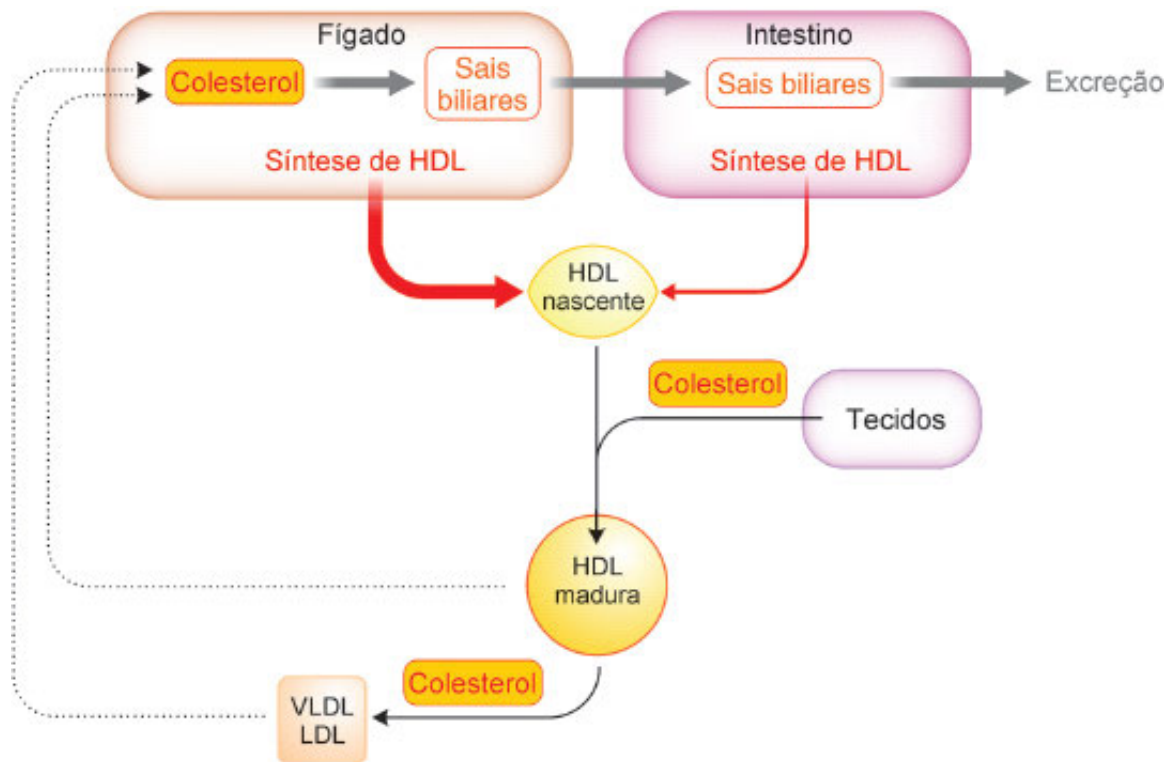
Os lipídios da dieta ganham a circulação sanguínea sob a forma de quilomícrons, sintetizados no intestino delgado (Figura 20.13). Nos tecidos extra-hepáticos, os triacilgliceróis componentes dos quilomícrons são hidrolisados pela lipase lipoproteica (Seção 16.1), fornecendo ácidos graxos e glicerol. 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 *forneem* 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.

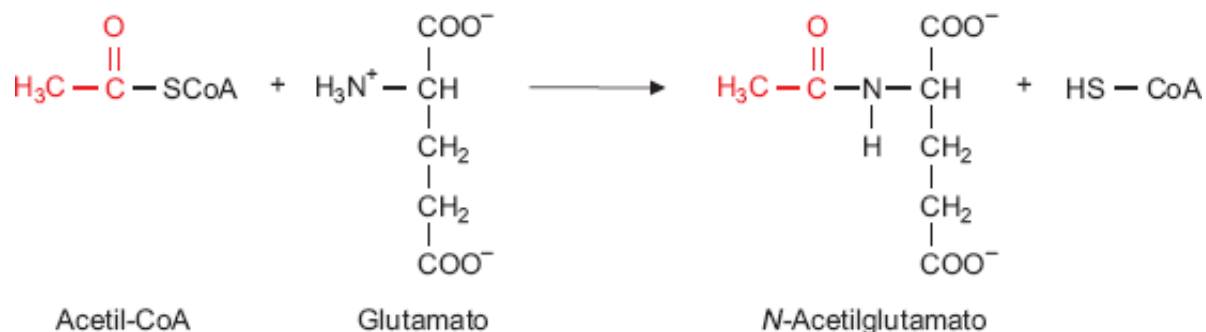
A qualidade de vida do indivíduo é, ainda, decisiva na prevenção da aterosclerose, que tem sido frequentemente associada ao estresse emocional, sedentarismo, obesidade etc.



## 20.9 Regulação do ciclo da ureia

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.

# 21 Regulação Integrada do Metabolismo

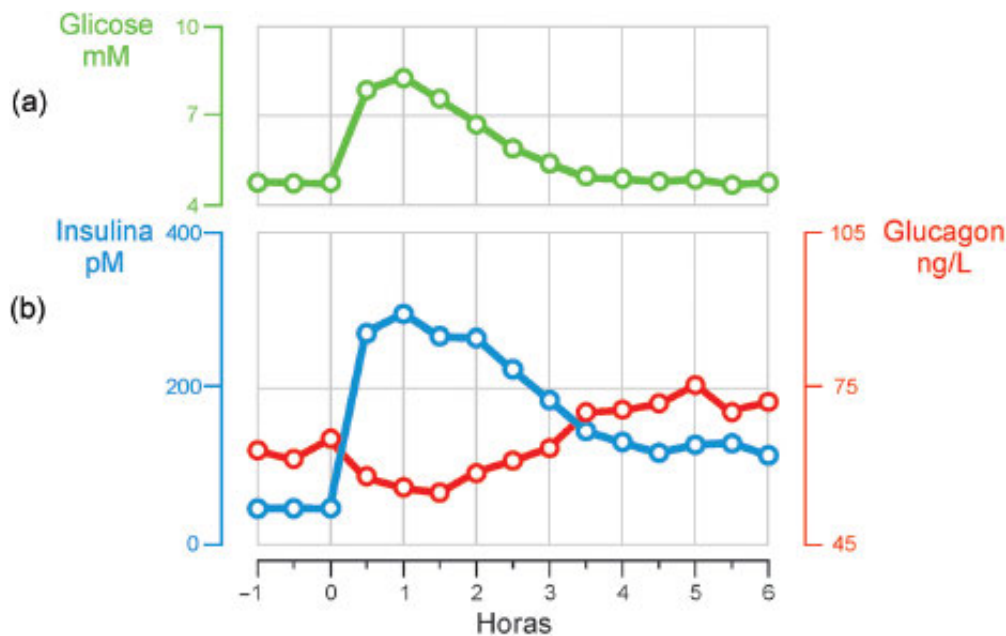
As respostas do organismo humano a duas situações distintas — abundância e escassez de alimentos —, de alternância diária, ilustram a integração dos processos que compõem a regulação metabólica. A forma principal de regular o metabolismo é modular a ação das enzimas, responsáveis pelas reações que se processam no organismo. Dentre os mecanismos que intervêm na ação enzimática, os mais importantes são: mudança na atividade de enzimas, por regulação alostérica ou modificação covalente, variação da concentração de enzimas por alteração da expressão gênica, e intervenção hormonal. A integração metabólica ocorre, portanto, em dois níveis: o celular, que compreende os mecanismos reguladores intracelulares, e o nível do organismo como um todo, coordenado por ação hormonal.

Várias seções deste livro, em especial nos Capítulos 19 e 20, referem-se a enzimas que sofrem mudança de atividade e/ou de concentração em função do excesso ou da carência de nutrientes. Este capítulo trata de reunir, dentre essas enzimas, as mais relevantes, examinando o funcionamento de vias metabólicas centrais em determinados órgãos/tecidos e como eles interagem para propiciar a adaptação do organismo por inteiro frente a essas situações diferentes.

## A concentração e a atividade das enzimas variam com a oferta de nutrientes

Quando há ingestão de nutrientes, os próprios nutrientes e a insulina, secretada em resposta ao aumento da glicemia, induzem a produção de enzimas de vias biossintéticas. Com as enzimas da gliconeogênese ocorre uma exceção: sua síntese é reprimida. Concomitantemente, há repressão da síntese de outras enzimas, como as que aceleram a mobilização dos depósitos de energia. Nos intervalos entre as refeições, a situação inverte-se: devido à queda do nível de insulina e à liberação de outros hormônios — glucagon, principalmente, e cortisol — a produção das enzimas das vias de síntese é reprimida e há estimulação da formação de enzimas das vias degradativas e também da gliconeogênese, capacitando o fígado a fornecer glicose, indispensável a diversas células.

Em resumo, as flutuações na oferta de nutrientes ao longo do dia correspondem a flutuações dos níveis absolutos de insulina e glucagon e, ainda mais importante, da *razão insulina/glucagon*, tendo em vista que a concentração de insulina varia muito mais do que a de glucagon (Figura 21.1). Um dos resultados é a alternância de indução ou repressão da transcrição de genes estruturais de enzimas, que terão, então, suas concentrações modificadas. Particularmente notável é a repercussão da razão insulina/glucagon na concentração de enzimas hepáticas (Tabela 21.1).



**Figura 21.1** Concentrações plasmáticas de glicose (a) e de hormônios (b) após a ingestão de uma refeição (tempo zero), subsequente a 14 h de jejum. A partir da tomada da refeição, a glicose sanguínea passou de 4 mM para um máximo de 8 mM em 1 hora, retornando a níveis próximos dos basais em 4 h. A insulina seguiu um padrão semelhante. O glucagon diminuiu para um mínimo em 1,5 h e aumentou gradualmente até atingir, no final do experimento, valores 50% maiores do que os basais. Baseada em Woerle HJ *et al.*: Pathways for glucose disposal after meal ingestion in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **284** (4): E716-E725, 2003.

**Tabela 21.1** Enzimas hepáticas cujas concentrações são alteradas com a disponibilidade de nutrientes e com a razão insulina/glucagon.

Período absorptivo (insulina/glucagon alta)		Jejum (insulina/glucagon baixa)	
Enzimas induzidas	Enzimas reprimidas	Enzimas induzidas	Enzimas reprimidas
Glicoquinase	Fosfoenolpiruvato carboxiquinase	Fosfoenolpiruvato carboxiquinase	Glicoquinase
Fosfofrutoquinase 1	Frutose 1,6-bisfosfatase	Frutose 1,6-bisfosfatase	Fosfofrutoquinase 1
Piruvato quinase	Glicose 6-fosfatase	Glicose 6-fosfatase	Piruvato quinase
Glicose 6-fosfato desidrogenase	Piruvato desidrogenase quinase	Piruvato desidrogenase quinase	
6-Fosfogliconato desidrogenase	Piruvato carboxilase	Piruvato carboxilase	
Citrato liase		Glutaminase	
Enzima málica		Transaminases	
Acetil-CoA carboxilase		Enzimas do ciclo da ureia	
Sintase de ácidos graxos		Carnitina-acil-CoA transferase I	
$\Delta^9$ dessaturase		HMG-CoA sintase	

Outro resultado, mais imediato, são as oscilações na atividade de enzimas, por regulação alostérica ou modificação covalente, que também dependem do estado nutricional e, conseqüentemente, da razão insulina/glucagon. O grau de fosforilação das enzimas, a modificação covalente mais importante, é a resultante das ações opostas de proteína quinases e de proteína fosfatases.

A integração metabólica será analisada nos períodos subsequentes à ingestão de uma refeição: período absorptivo (ou pós-prandial), pós-absorptivo e jejum.

## 21.1 Período absorptivo

### No período absorptivo prevalecem os efeitos da insulina

O período absorptivo ou *pós-prandial*, que compreende cerca de 4 horas após a tomada de refeições, caracteriza-se, naturalmente, pela ocorrência de processos biossintéticos que incluem a recomposição das reservas energéticas (Tabela 21.2), diminuídas pelo jejum precedente.

Após uma refeição, os nutrientes absorvidos no intestino são conduzidos diretamente ao fígado. Este órgão retém uma fração considerável da glicose recebida e o seu conteúdo de glicogênio é elevado de 70 g (5% do seu peso) para 120 g, em média. O excedente de glicose é mantido em circulação, provocando aumento da glicemia, a que o pâncreas responde aumentando a liberação de insulina e diminuindo a de glucagon (Figura 21.1 e Tabela 21.3).

**Tabela 21.2 Reservas energéticas de um homem adulto.**

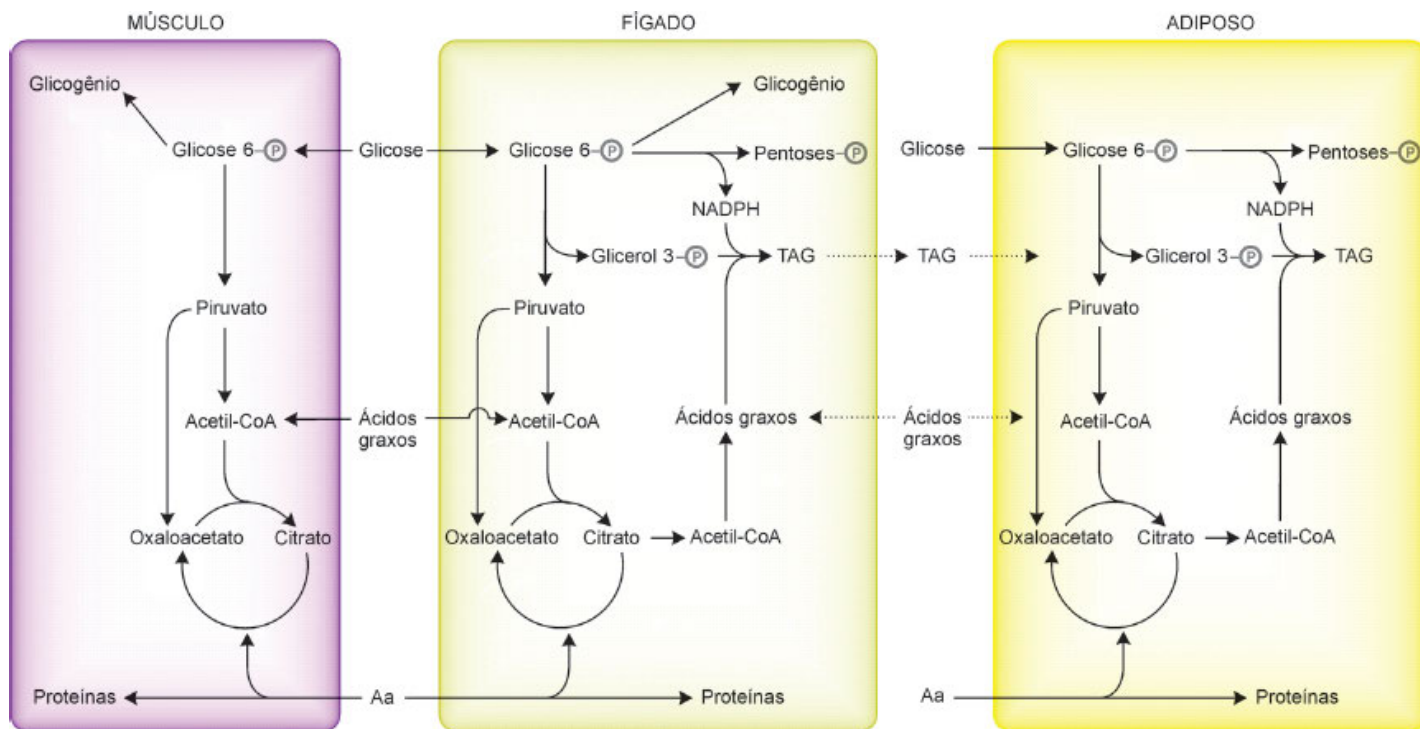
Órgão/tecido	Composto armazenado	Massa (kg)	Energia disponível	
			kcal	kJ
Fígado	Glicogênio	0,120	480	2.008
Músculos esqueléticos <sup>1</sup>	Glicogênio	0,300	1.200	5.020
Adiposo	Triacilgliceróis	15	135.000	564.840

<sup>1</sup>Os músculos esqueléticos são constituídos por 6 kg de proteínas que, embora não constituam material de reserva (não existe reserva de proteína nos animais), em jejum extremo, 50% do seu total chegam a ser consumidos.

**Tabela 21.3 Níveis plasmáticos de substratos (mM) e hormônios.**

	Período pós-absortivo	Período absorptivo	Jejum		Diabetes tipo 1 não tratado
			3 dias	5 semanas	
Glicose	6,7	4,4	3,6	3,6	28
Ácidos graxos	0,3	0,6	1,5	1,4	2,5
$\beta$ -hidroxibutirato	0,010	0,016	1,4	6	16
Acetoacetato	0,010	0,013	0,4	1,3	4
Alanina	0,8	0,34	0,32	0,14	0,30
Insulina ( $\mu$ U/mL)	100	15	7	6	< 5
Glucagon (pg/mL)	80	100	150	120	500
Insulina/glucagon	1,25	0,15	0,05	0,05	< 0,01
Bicarbonato	25	25	16		5

A elevação da razão insulina/glucagon determina profundas e amplas alterações metabólicas, decorrentes da supressão das vias de transdução de sinal do glucagon, destacando-se a via da proteína quinase dependente de cAMP ou proteína quinase A (PKA), e da ocorrência das vias de sinalização da insulina, como a via da fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K). Estas vias de sinalização, descritas nas Seções 19.4.1 e 19.6.3, interferem no grau de fosforilação de enzimas e, portanto, em sua atividade, e também na concentração de enzimas, por mudança na velocidade de sua síntese. Com a diminuição do nível de glucagon, a PKA fica inativa; com o aumento do nível de insulina, a proteína quinase B (PKB) e a fosfoproteína fosfatase-1 (PP-1) são estimuladas. Segue-se a descrição das consequências destes eventos reguladores em algumas células-alvo destes hormônios, resumidas na Figura 21.2.



**Figura 21.2** Período absorptivo: esquema da distribuição dos nutrientes absorvidos e de alguns de seus destinos metabólicos em músculos esqueléticos, fígado e tecido adiposo. O transporte de lipídios pelas lipoproteínas plasmáticas não está mostrado. A alta razão insulina/glucagon determina a predominância dos processos de síntese.

Nos hepatócitos, as proteínas anteriormente fosforiladas pela PKA passam a ser substratos da fosfoproteína fosfatase-1 (PP-1). A isoenzima hepática de PP-1 não sofre regulação por modificação covalente, sendo ativada alostericamente por glicose (Seção 20.1.3), abundante no pós-prandial; a síntese de sua subunidade reguladora GL é induzida por insulina. PP-1, então, remove grupos fosfato da glicogênio fosforilase quinase, da glicogênio fosforilase *a* e da glicogênio sintase, inativando as duas primeiras e ativando a enzima de síntese, também estimulada por glicose 6-fosfato. Outras enzimas, como a glicogênio sintase quinase-3 (GSK-3) e a proteína quinase dependente de AMP (AMPK), que, na ausência de insulina, fosforilam e inativam a glicogênio sintase, com insulina, são fosforiladas e inativadas por PKB, suspendendo o bloqueio antes exercido sobre a síntese de glicogênio. Deste modo, a degradação do glicogênio hepático é impedida e a síntese é estimulada.

A glicose, no fígado, é fosforilada pela glicocquinase, estimulada pela própria glicose, que promove a dissociação do complexo inativo glicocquinase-proteína reguladora, localizado no núcleo, resultando o deslocamento da enzima para o citoplasma, onde catalisa a fosforilação da glicose. Adicionalmente, a síntese de glicocquinase é induzida por insulina. A glicose 6-fosfato, além de ser metabolizada pela glicólise, origina glicose 1-fosfato para a síntese de glicogênio. O grande aporte de glicose contribui para a inibição da degradação do glicogênio, pois o açúcar promove a conversão da glicogênio fosforilase *a* na forma *b*, inativa. A síntese de glicogênio processa-se intensamente, uma vez que a glicogênio sintase está na forma desfosforilada, ativa. O fígado encaminha quase metade da glicose que recebe para a formação do polímero, cuja concentração final é, entretanto, limitada. Satisfeita a reserva de glicogênio, o remanescente é dirigido para a síntese de ácidos graxos.

No período pós-prandial, a gliconeogênese é inibida por insulina. Ela age, sobretudo, suprimindo a expressão dos genes de enzimas-chave da gliconeogênese, a fosfoenolpiruvato carboxiquinase, a frutose 1,6-bisfosfatase e a glicose 6-fosfatase, por ativação da via da PI3K. Adicionalmente, a insulina promove a desfosforilação da 6-fosfofruto-2-quinase/frutose 2,6-bisfosfatase fazendo prevalecer a atividade de quinase sobre a de fosfatase. Resultam níveis altos de frutose 2,6-bisfosfato, o efetador alostérico negativo da frutose 1,6-bisfosfatase, concorrendo para a inoperância da gliconeogênese.

A via glicolítica funciona em grande velocidade, pois tem suas enzimas reguladoras, além da glicocquinase, na forma ativa — a fosfofrutoquinase 1 é ativada alostericamente por frutose 2,6-bisfosfato e o produto da reação por ela catalisada, a frutose 1,6-bisfosfato, estimula a piruvato quinase, cuja forma desfosforilada, ativa, predomina. Esta situação prevalece enquanto houver consumo de frutose 6-fosfato pela glicólise. O acúmulo deste intermediário da via leva ao bloqueio da glicocquinase, por ficar retida no núcleo, formando um complexo inativo com a proteína reguladora.

O complexo piruvato desidrogenase encontra-se desfosforilado devido ao aumento do teor de piruvato, originário de glicose, que é o efetador alostérico negativo das piruvato desidrogenase quinases, PDK 4 principalmente, e por causa da insulina. O hormônio induz a transcrição das piruvato desidrogenase fosfatases e reprime a das quinases. Por consequência, a forma assumida pelo complexo é a ativa.

O aumento de atividade das três enzimas-chave — fosfofrutoquinase 1, piruvato quinase e piruvato desidrogenase — determina grande produção de acetil-CoA a partir de glicose. A piruvato carboxilase é ativada pela acetil-CoA, desviando parte do piruvato para produção de oxaloacetato. Os esqueletos de carbono de vários aminoácidos vêm enriquecer a concentração de intermediários do ciclo de Krebs, capazes de se transformar em oxaloacetato. Esse substancial aumento dos dois substratos da citrato sintase — acetil-CoA e oxaloacetato — faz acelerar o ciclo de Krebs e, portanto, a produção de NADH e FADH<sub>2</sub>. Dispondo de tantas coenzimas reduzidas, a cadeia de transporte de elétrons e a fosforilação oxidativa ficam estimuladas, levando a grande produção de ATP. A alta atividade destes processos mantém-se enquanto a concentração de ADP permitir. À medida que a concentração de ADP diminui, a fosforilação oxidativa decresce e o controle respiratório determina também menor velocidade da cadeia de transporte de elétrons, com consequente elevação do nível de NADH.

A concentração intramitocondrial aumentada de NADH exerce efeito inibitório sobre o ciclo de Krebs, especialmente por efeito alostérico sobre a isocitrato desidrogenase e o complexo  $\alpha$ -cetogluturato desidrogenase. O resultado destas inibições é o *acúmulo de citrato*, que continua a ser produzido pela citrato sintase, mas não pode mais ser oxidado pelo ciclo de Krebs. O aumento da concentração mitocondrial de citrato promove seu transporte para o citosol, onde estimula a acetil-CoA carboxilase. Esta enzima e a citrato liase são ativadas por desfosforilação, além de serem induzidas, graças à influência da insulina. A acetil-CoA carboxilase transforma a acetil-CoA citosólica, produzida pela citrato liase a partir de citrato, em malonil-CoA. Malonil-CoA, além de ser substrato da síntese de ácidos graxos, inibe alostericamente a carnitina-acil transferase I, impedindo que os ácidos graxos recém-sintetizados sejam transportados para a mitocôndria e oxidados.

A síntese de ácidos graxos, por usar NADPH como poder redutor, faz cair a razão NADPH/NADP<sup>+</sup> citoplasmática, desbloqueando as desidrogenases da via das pentoses-fosfato, que são competitivamente inibidas pela coenzima reduzida. A atividade da via é ainda mais favorecida pela indução da síntese de glicose 6-fosfato desidrogenase por insulina. A via das pentoses-fosfato gera NADPH, também formado na conversão de malato citosólico a piruvato, catalisada pela enzima málica, cuja concentração está aumentada por insulina. A glicose 6-fosfato é direcionada para a via das pentoses-fosfato já que não pode ser metabolizada pela glicólise, que está bloqueada pelo controle alostérico vigente nessa situação. Realmente, as altas concentrações de ATP e de citrato inibem a fosfofrutoquinase 1; caem os níveis de frutose 1,6-bisfosfato, o efetivador alostérico positivo da piruvato quinase, que tem sua atividade prejudicada.

Estabelece-se, portanto, um equilíbrio dinâmico, em que a produção de NADPH, acetil-CoA extramitocondrial, malonil-CoA e ATP é contrabalançada pelo consumo destes compostos na síntese de ácidos graxos e triacilgliceróis. Conforme a razão ATP/ADP diminui, em virtude da utilização de ATP nestas e em outras sínteses, a glicólise é reativada, a glicose 6-fosfato origina piruvato, que origina acetil-CoA e oxaloacetato, formam-se coenzimas reduzidas no ciclo de Krebs e, finalmente, ATP na fosforilação oxidativa. Isto acontece até os níveis de ATP e citrato aumentem e voltem a inibir a glicólise: a glicose 6-fosfato passa a ser utilizada pela via das pentoses-fosfato. Deve-se notar que o funcionamento alternado das duas vias permite manter o fluxo dos carbonos da glicose para formar ácidos graxos e produzir NADPH.

A insulina favorece a entrada de aminoácidos nos tecidos e a síntese de proteínas, de modo que apenas os aminoácidos excedentes são oxidados e transformados em intermediários do ciclo de Krebs. A preferência dada à utilização de aminoácidos para a síntese proteica é resultado dos valores de  $K_M$  das duas categorias de enzima que têm os aminoácidos como substratos. As aminoacil-tRNA sintetases, que catalisam a ligação de aminoácidos aos tRNAs, encaminhando-os para a síntese de proteínas, têm valores de  $K_M$  muito menores do que as outras enzimas que metabolizam aminoácidos. Este fato é particularmente importante quando se consideram os aminoácidos essenciais.

Os produtos das sínteses hepáticas, com exceção do glicogênio, são destinados à exportação: os ácidos graxos, triacilgliceróis, fosfolípidios, colesterol e apoproteínas formam as lipoproteínas, que são liberadas na circulação.

### **No período absorptivo todas as células podem receber glicose**

Em condição de hiperglicemia, como a que ocorre no período absorptivo, todos os transportadores de glicose estão atuantes, inclusive os que dependem de insulina para serem mobilizados para a membrana plasmática, como GLUT 4, que medeia a entrada de glicose no tecido adiposo e em músculos esqueléticos e cardíaco. Ou seja, todas as células tornam-se permeáveis à glicose.

Nos músculos esqueléticos, a glicose é polimerizada a glicogênio e no tecido adiposo, origina ácidos graxos e triacilgliceróis. Estas biossínteses sofrem regulação semelhante à das mesmas vias ocorrendo no fígado. Nos adipócitos, a glicose forma glicerol 3-fosfato, utilizado na esterificação dos ácidos graxos. Estes são também obtidos das lipoproteínas plasmáticas por ação da lipase lipoproteica, cuja concentração está aumentada por ação da insulina.

O acesso das lipases do tecido adiposo à gota de lípidios está bloqueado por desfosforilação das perilipinas promovida por insulina, de modo que os ácidos graxos produzidos no próprio adipócito, no fígado e os provenientes da dieta são depositados como triacilgliceróis.

Tendo em vista que os seres humanos, habitualmente, alimentam-se 3 vezes/dia e que a absorção dos nutrientes ingeridos leva de 4 a 5 h, o estado absorptivo ou pós-prandial vigora durante a maior parte do período diurno. Está demonstrado que a hiperglicemia pós-prandial é um fator de risco importante para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares em indivíduos diabéticos. Assim sendo, a manutenção da homeostase de glicose no período absorptivo tornou-se objeto de grande interesse, visando ao maior entendimento da fisiopatologia do diabetes e à descoberta de alvos terapêuticos potenciais.

## 21.2 Período pós-absortivo

### No período pós-absortivo prevalecem os efeitos do glucagon

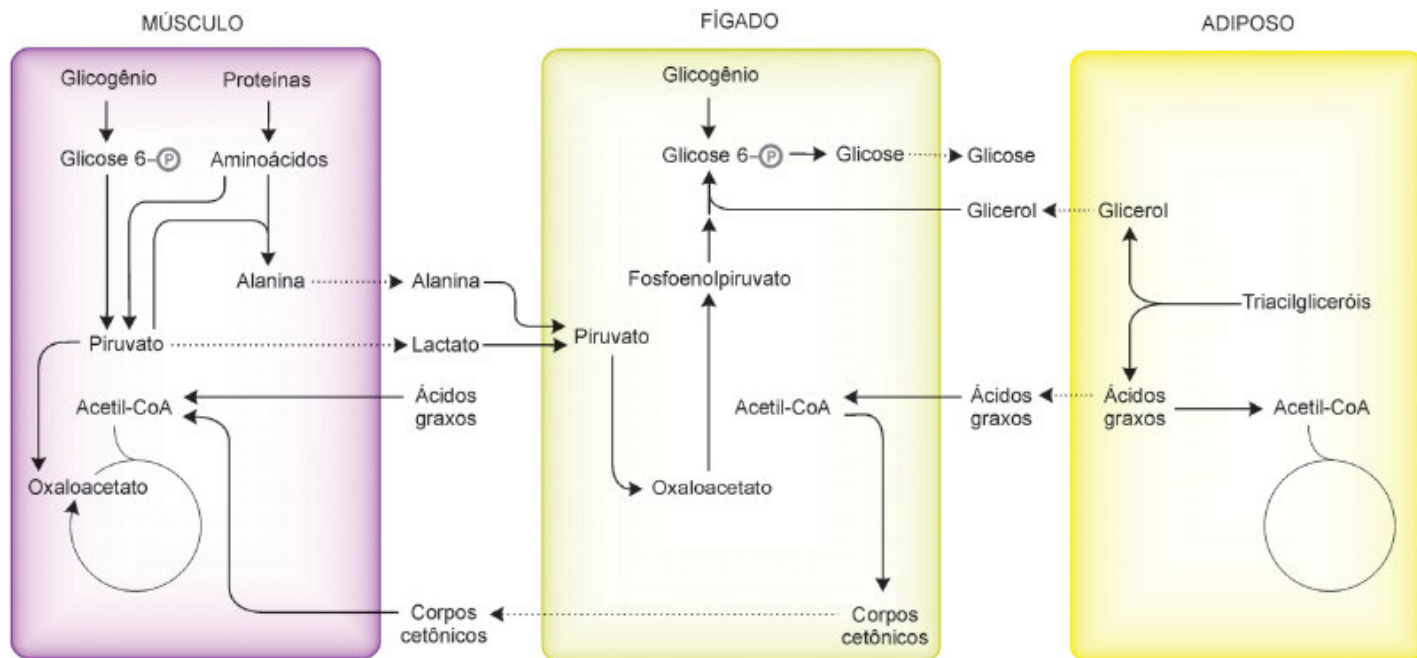
A intensa remoção da glicose circulante pelos tecidos, permitida pela alta razão insulina/glucagon prevalente no período absorptivo, reduz gradativamente a glicemia, até ser atingido o valor basal — em torno de 90 mg/100 mL (5 mM) — cerca de 4 horas após uma refeição. À medida que a glicemia aproxima-se desse valor, há uma inversão no hormônio secretado pelo pâncreas, passando a haver predomínio de glucagon. Inicia-se, assim, outro período, chamado *pós-absortivo*, durante o qual a glicemia será mantida principalmente pela degradação do glicogênio hepático, com contribuição crescente da gliconeogênese. Este período tem duração média de 12 horas, incluindo, portanto, o jejum noturno.

Durante o período pós-absortivo, o decréscimo da concentração plasmática de glicose é acompanhado por uma *diminuição da razão insulina/glucagon* — a via da fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K), de transdução de sinal da insulina, é interrompida e a via da proteína quinase dependente de cAMP (PKA), de sinalização do glucagon, é iniciada. Nas células-alvo desses hormônios, a ativação da PKA e a desativação da proteína quinase B (PKB) e da fosfoproteína fosfatase-1 (PP-1) fazem predominar a forma fosforilada das proteínas-substrato. Muda também o resultado do controle da expressão gênica: enzimas reprimidas no período absorptivo passam a ser induzidas. Até nova ingestão de alimentos, o sentido do metabolismo é invertido, passando a ser predominantemente degradativo.

O consumo de glicose passa a ser possível apenas pelos tecidos insulino-independentes, como cérebro, hemácias e medula renal, que oxidam apenas glicose. A captação de glicose pelos tecidos que dependem de insulina, como músculos e tecido adiposo, é drasticamente reduzida devido à queda na concentração de GLUT 4 na superfície celular. A economia de glicose é considerável, já que os dois tecidos em conjunto respondem por grande porcentagem da massa corporal, e a glicose fica disponível para as células que a recebem por meio de transportadores independentes da insulina e que exibem baixos valores de  $K_M$  para o açúcar.

No fígado (Figura 21.3), inicia-se a degradação de glicogênio, graças à fosforilação e à ativação da glicogênio fosforilase, resultando na produção de glicose 6-fosfato. Entretanto, quantidades cada vez menores de glicose 6-fosfato são degradadas pela via glicolítica, em virtude da desativação de suas enzimas reguladoras. O glucagon estimula a PKA, que fosforila a 6-fosfofruto-2-quinase/frutose 2,6-bisfosfatase, inibindo a primeira atividade e estimulando a segunda; caem os níveis de frutose 2,6-bisfosfato, o principal ativador da fosfofrutoquinase 1. A piruvato quinase também é bloqueada por fosforilação catalisada pela PKA. Adicionalmente, o glucagon favorece a inibição da glicoquinase pela proteína reguladora e reprime a síntese de glicoquinase, fosfofrutoquinase 1 e piruvato quinase. O resultado é a interrupção da glicólise. A outra via de utilização da glicose 6-fosfato, a via das pentoses-fosfato, também tem sua atividade reduzida, por inibição de suas desidrogenases por NADPH. Com efeito, a relação citosólica NADPH/NADP<sup>+</sup> eleva-se, pois a síntese de ácidos graxos está restringida pela escassez de substratos e por inativação da acetil-CoA carboxilase e da citrato liase. A primeira enzima é fosforilada pela PKA e pela AMPK e a segunda pela glicogênio sintase quinase-3 (GSK-3), ativas na ausência de insulina. Assim sendo, dos destinos da glicose 6-fosfato derivada da degradação de glicogênio, somente sua conversão a glicose é possível. A glicose, liberada pelo hepatócito, mantém a glicemia. A reserva hepática de glicogênio, entretanto, é insuficiente para a manutenção da glicemia normal mesmo durante o jejum noturno, quando há uma produção crescente de glicose pela gliconeogênese.





**Figura 21.3** Período pós-absortivo/jejum: esquema das principais adaptações metabólicas induzidas pela baixa razão insulina/glucagon. No fígado, notar a não ocorrência do ciclo de Krebs devido ao consumo de oxaloacetato pela gliconeogênese, e o consequente desvio da acetil-CoA para formar corpos cetônicos; a inibição da piruvato desidrogenase impede que o piruvato seja oxidado a acetil-CoA e preservado para originar oxaloacetato. No músculo, esta enzima também está inativa e o piruvato não se transforma em acetil-CoA; pode ser convertido em oxaloacetato, que mantém o funcionamento do ciclo de Krebs, em alanina, por transaminação com aminoácidos, ou em lactato. Alanina, glutamina (não mostrada na figura) e lactato são exportados do músculo.

Diversos mecanismos concorrem para ativar a gliconeogênese nos hepatócitos. A frutose 2,6-bisfosfato, que inibe a frutose 1,6-bisfosfatase, não está sendo produzida pela 6-fosfofruto-2-quinase/frutose 2,6-bisfosfatase, que exibe apenas a atividade de fosfatase por estar fosforilada pela PKA. A acetil-CoA derivada da degradação de ácidos graxos (ver a seguir) atua como efetor alostérico positivo da piruvato desidrogenase quinase 4 (PDK 4) e da piruvato carboxilase, inibindo a oxidação de piruvato pela piruvato desidrogenase no primeiro caso e, no segundo, estimulando a carboxilação de piruvato a oxaloacetato, que origina glicose. À medida que aumenta a duração do jejum, a gliconeogênese torna-se mais intensa, devido ao aumento da concentração das enzimas: piruvato carboxilase, fosfoenolpiruvato carboxiquinase e glicose 6-fosfatase, induzido por glucagon e cortisol. A gliconeogênese renal está igualmente estimulada.

A estimulação da degradação dos triacilgliceróis armazenados no tecido adiposo pela PKA eleva o nível de ácidos graxos circulantes. Os ácidos graxos são essenciais para a manutenção das funções vitais de tecidos capazes de oxidá-los, como músculos esqueléticos e cardíaco, fígado, tecido adiposo etc. Nesta fase, a atividade hepática está canalizada para exportação de glicose, inicialmente proveniente do glicogênio e a seguir, da gliconeogênese. Não há oxidação de glicose ou de aminoácidos no fígado que possa prover ATP para sustentar a gliconeogênese e outros processos hepáticos — o combustível utilizado são os ácidos graxos. É esta também a fonte de energia do tecido muscular.

As altas razões acetil-CoA/CoA e NADH/NAD<sup>+</sup> mitocondriais resultantes da oxidação de ácidos graxos estimulam alostericamente a piruvato desidrogenase quinase (PDK 4), que também é induzida nesta situação; ela fosforila e inibe o complexo piruvato desidrogenase. Nas células musculares, o bloqueio do complexo, ao impedir a oxidação aeróbia da glicose obtida da degradação de glicogênio, termina por favorecer a oxidação de ácidos graxos: o piruvato, impossibilitado de formar acetil-CoA, pode originar oxaloacetato para sustentar a oxidação da acetil-CoA derivada de ácidos graxos pelo ciclo de Krebs. No fígado, a piruvato desidrogenase está igualmente inativada, mas o oxaloacetato tem outro destino, a síntese de glicose.

## 21.3 Jejum

### No jejum, intensificam-se os processos degradativos

O organismo humano tem uma capacidade notável de sobreviver sem ingerir alimentos por longos períodos, da ordem de 2 meses no caso de indivíduos saudáveis e até 1 ano, para obesos. Os estudos de Cahill, Owen e colaboradores, nas décadas de 1960 e 1970, foram decisivos para um maior entendimento das adaptações metabólicas ao jejum prolongado, em especial as que ocorrem no cérebro. Até então, acreditava-se ser a glicose o único substrato utilizado pelo cérebro, e os corpos cetônicos eram associados somente com a ocorrência de doenças, como o diabetes. Aqueles autores demonstraram, pela primeira vez, o papel essencial do consumo de corpos cetônicos pelo cérebro na sobrevivência ao jejum prolongado.

Adicionalmente, evidenciaram a correlação existente entre a excreção de nitrogênio e a síntese de glicose, além da importância da atuação dos rins durante o jejum. Os resultados obtidos contribuíram para entender as necessidades nutricionais dos seres humanos, o planejamento de dietas adequadas para a redução do peso corpóreo e as síndromes de desnutrição crônica, como *kwashiorkor* e marasmo (Seção 18.3), que afetam uma parcela significativa das crianças de países em desenvolvimento.

No jejum, o glucagon atua praticamente sem o antagonismo da insulina e coadjuvado pelo cortisol, adaptando o organismo a sobreviver sem a ingestão de nutrientes.

Além de 12 horas de jejum, quando a gliconeogênese é responsável por 50% da glicose circulante, sua importância como via produtora de glicose suplanta a da glicogenólise. O glicogênio hepático está praticamente esgotado com 24 horas de jejum e, após este tempo, a gliconeogênese é a única via capaz de manter a glicemia.

O principal substrato da síntese de glicose são os aminoácidos provenientes da degradação contínua de proteínas que, no jejum têm sua síntese prejudicada e sua degradação estimulada, pois há níveis baixos de insulina e altos de cortisol. A maior contribuição de aminoácidos para a gliconeogênese é dada pelas proteínas dos músculos esqueléticos (Figura 21.3), que são tecidos com grande concentração proteica; porém, as consequências da degradação de enzimas, que têm meias-vidas muito curtas, são muito mais amplas e sistêmicas, já que afetam todas as vias metabólicas. Na musculatura esquelética, o resultado líquido da descompensação entre síntese e degradação é o aumento da concentração de aminoácidos livres. A maioria dos aminoácidos é parcialmente metabolizada, originando intermediários passíveis de serem convertidos a alanina e glutamina. Nas fibras musculares, a transaminase específica para os aminoácidos ramificados (isoleucina, leucina e valina) é particularmente ativa. A atuação desta enzima, e das demais transaminases, resulta na transferência do grupo amino dos aminoácidos ramificados e de outros aminoácidos para piruvato e  $\alpha$ -cetogluturato, formando alanina e glutamina; piruvato e  $\alpha$ -cetogluturato são provenientes da degradação de glicogênio e de diversos aminoácidos do músculo. O bloqueio do complexo piruvato desidrogenase, fosforilado pela isoenzima muscular da piruvato desidrogenase quinase 4 (PDK 4) impede a oxidação de piruvato a acetil-CoA, preservando este composto para a formação de alanina. A alanina e a glutamina produzidas são liberadas na circulação, constituindo a forma de transporte do nitrogênio dos aminoácidos derivados da proteólise muscular. A alanina é captada principalmente pelo fígado, onde o seu  $\alpha$ -cetoácido, o piruvato, forma glicose e o grupo amino, ureia. A glutamina é utilizada como substrato pela gliconeogênese renal; enquanto o seu esqueleto de carbono origina glicose, o nitrogênio é convertido em íons  $\text{NH}_4^+$ , cuja excreção na urina contribui para a manutenção do equilíbrio ácido-base. Assim, a gliconeogênese hepática e a renal estão associadas com a produção de ureia e de amônia, respectivamente. Como a eliminação do nitrogênio derivado dos aminoácidos utilizados para a síntese de glicose não é acompanhada de ingestão, estabelece-se um *balanço nitrogenado negativo*.

A intensa degradação de ácidos graxos, mobilizados das reservas lipídicas, não acompanhada de degradação proporcional de carboidratos, leva ao acúmulo de acetil-CoA no fígado: a deficiência de oxaloacetato, continuamente retirado pela gliconeogênese, restringe a oxidação de acetil-CoA pelo ciclo de Krebs. A acetil-CoA acumulada condensa-se, formando os *corpos cetônicos* (Figura 21.3). Nesta situação, o fígado obtém energia da oxidação de ácidos graxos a acetil-CoA; os tecidos muscular e adiposo, não engajados na gliconeogênese, dispõem de oxaloacetato suficiente para oxidar a acetil-CoA proveniente de ácidos graxos e corpos cetônicos a  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ . O consumo de ácidos graxos e corpos cetônicos por estes tecidos coopera para a economia de glicose, que passa a ser utilizada praticamente apenas pelo cérebro e hemácias.

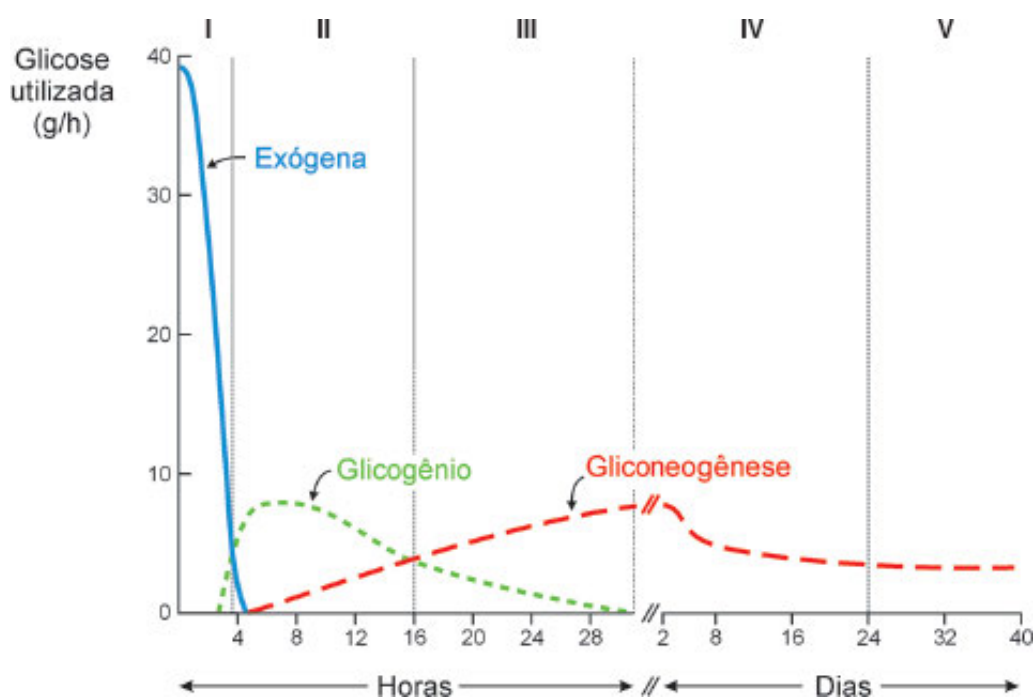
Se o jejum prolongar-se por algumas semanas, estes processos são, naturalmente, intensificados. Instala-se uma situação permanente de relação insulina/glucagon muito baixa que determina um metabolismo fortemente degradativo.

A maior parte da reserva energética está sob a forma de triacilgliceróis (Tabela 21.3). Os ácidos graxos não originam glicose, e o glicerol presente nesta reserva, embora seja gliconeogênico, contribui com uma parcela pouco significativa para o total de glicose necessário à manutenção da glicemia. A grande fonte potencial de glicose são os aminoácidos. Um indivíduo adulto tem na sua massa muscular cerca de 6 kg de proteína e não pode perder mais de 50% deste total sem risco de vida. Como cerca de 200 g de proteína devem ser degradados para produzir os 120 g diários de glicose consumidos pelo cérebro, o conteúdo proteico proveria glicose por 2 semanas apenas. No entanto, indivíduos saudáveis chegam a sobreviver a 1 a 2 meses de jejum. Uma adaptação decisiva para permitir esta longa sobrevivência é o desenvolvimento, pelo cérebro, da capacidade de oxidar corpos cetônicos, além de glicose. A utilização desta nova fonte permite grande economia de glicose: após 2 a 3 dias de jejum diminui a intensidade da gliconeogênese e, conseqüentemente, a espoliação proteica, refletida na queda da excreção de nitrogênio urinário. Depois de 5 semanas de jejum, verifica-se a produção de apenas 5 g de glicose a mais do que a derivada da renovação de proteínas endógenas. Nesta fase, os corpos cetônicos perfazem cerca de 60% do suprimento energético do cérebro.

A enorme produção de corpos cetônicos pelo fígado ultrapassa muito sua captação pelos tecidos extra-hepáticos. Como estes compostos têm caráter ácido, o poder tamponante do plasma é sobrepujado e instala-se uma acidose, a *cetoacidose*, com significativa redução do nível de bicarbonato plasmático (Tabela 21.3).

A Figura 21.4 mostra os resultados do trabalho de Cahill e colaboradores sobre os processos utilizados para manter a

homeostase de glicose no jejum prolongado. A homeostase da glicose foi dividida em cinco fases, segundo a procedência predominante da glicose plasmática a partir da ingestão de uma refeição — ver também a Tabela 21.4. Na Fase I, a glicose é provida pelos carboidratos dos alimentos. Uma vez esgotado este suprimento, inicia-se a Fase II, durante a qual a glicemia é mantida pela glicogenólise hepática. À medida que diminui a reserva de glicôgênio do fígado, a gliconeogênese toma-se cada vez mais importante, até que, após 16 h (12 h, segundo estudos mais recentes), contribui com 50% da glicose plasmática. Inicia-se a Fase III, na qual esta via é a fonte principal de glicose. Estas mudanças ocorrem dentro de mais ou menos 24 horas de jejum. Vários dias de jejum levam à Fase IV, na qual se inicia uma menor dependência da gliconeogênese: notar, na Figura 21.4, a queda no consumo de glicose que ocorre com 2 a 3 dias de jejum. Isto acontece porque os corpos cetônicos acumularam-se em níveis suficientemente altos para induzir sua entrada e sua oxidação no cérebro, onde passam a substituir parte da glicose anteriormente consumida para obter energia. A Fase V ocorre depois de algumas semanas de jejum e caracteriza-se por dependência ainda menor da gliconeogênese. As necessidades energéticas da maioria dos tecidos nesta fase são satisfeitas, em grande parte por oxidação de ácidos graxos ou de corpos cetônicos. Enquanto as concentrações de corpos cetônicos forem elevadas, a proteólise será menos intensa, preservando as proteínas musculares. Esta situação permanece até praticamente toda a gordura ser consumida. Depois disto, as proteínas musculares têm de ser utilizadas e, antes que se esgotem, advém a morte.



**Figura 21.4** As cinco fases da homeostase da glicose em seres humanos. A figura mostra a quantidade de glicose utilizada e as suas origens — exógena ou da dieta, glicogênio hepático e gliconeogênese hepática e renal — ao longo do tempo, após a ingestão de uma refeição (tempo zero). Ver também a Tabela 21.4. Adaptada de Ruderman NB, Aoki TT and Cahill GF Jr in Hanson RW, Mehlmán MA (editors): *Gluconeogenesis: Its Regulation in Mammalian Species*, p. 515. John Wiley & Sons, 1976.

**Tabela 21.4** As cinco fases da homeostase de glicose: origem da glicose sanguínea, tecidos e órgãos que a utilizam e principais combustíveis para o cérebro nas diferentes fases.<sup>1</sup>

	Fases				
	I	II	III	IV	V
Origem da glicose sanguínea	Exógena	Glicogênio hepático; gliconeogênese hepática	Gliconeogênese hepática; glicogênio hepático	Gliconeogênese hepática e renal	Gliconeogênese hepática e renal
Tecidos/órgãos que usam glicose	Todos	Todos, exceto o fígado; músculo e adiposo em velocidades baixas	Todos, exceto o fígado; músculo e adiposo em velocidades intermediárias entre as Fases II e IV	Cérebro, hemácias, medula renal; pequenas quantidades pelo músculo	Cérebro, em velocidades baixas, hemácias, medula renal
Principal combustível do cérebro	Glicose	Glicose	Glicose	Glicose, corpos cetônicos	Corpos cetônicos, glicose

<sup>1</sup> Adaptada de Ruderman NB et al., 1976.

### A produção deficiente de insulina ou a resistência à sua ação ocasiona o diabetes

O diabetes *mellitus* é uma doença metabólica complexa que se apresenta sob formas diferentes, que têm em comum a hiperglicemia. Pode ser provocada por graus variáveis de deficiência de insulina e de redução da sensibilidade das células-alvo ao hormônio. Há dois tipos principais de diabetes.

O *diabetes tipo 1 (insulinodependente ou juvenil)* é uma doença autoimune na qual as células  $\beta$  das ilhotas do pâncreas, produtoras de insulina, são destruídas progressivamente. É uma doença sob controle poligênico. A probabilidade de uma pessoa desenvolver diabetes tipo 1 é tanto maior quanto maior o grau de parentesco com uma pessoa com a doença. Manifesta-se mais frequentemente em crianças e adolescentes.

O *diabetes tipo 2 (insulinoindependente ou da maturidade)*, a forma mais comum do diabetes, caracteriza-se por resistência à insulina e por secreção deficiente de insulina, sendo que um distúrbio pode predominar sobre o outro. A resistência à insulina é uma condição na qual os tecidos deixam de responder ao hormônio, havendo a supressão dos seus efeitos mais marcantes, que são o estímulo da entrada de glicose nos tecidos, principalmente músculos e adiposo, e a inibição da produção de glicose pelo fígado. A hiperglicemia resultante estimula o pâncreas a secretar mais insulina, no sentido de normalizar a concentração de glicose sanguínea; todavia, mesmo na presença de altas concentrações do hormônio circulante, a glicemia permanece elevada. Em muitos casos, a estimulação crônica das células  $\beta$  do pâncreas leva à sua falência e à secreção deficiente do hormônio.

No final da década de 1980, verificou-se que certos distúrbios metabólicos acometiam concomitantemente indivíduos adultos: hiperglicemia, obesidade, dislipemia aterogênica (níveis plasmáticos aumentados de triacilgliceróis e LDL-colesterol e níveis reduzidos de HDL-colesterol) e hipertensão arterial. Na época, esta condição foi denominada *Síndrome X* e posteriormente, *Síndrome Metabólica*; a causa subjacente de sua instalação é a resistência à insulina. Indivíduos afetados pela síndrome, em relação à população não afetada, têm um risco cinco vezes maior de desenvolver diabetes tipo 2 e um risco duas vezes maior para doenças cardiovasculares. A importância do diagnóstico da Síndrome Metabólica é a identificação precoce de pacientes com essa predisposição, possibilitando o início do tratamento para prevenir o desenvolvimento daquelas complicações. A Síndrome Metabólica tem alta incidência no mundo; nos Estados Unidos, por exemplo, afeta 25% dos adultos maiores de 20 anos e 40% dos maiores de 60 anos.

Historicamente, o diabetes tipo 2 era considerado uma doença característica de pessoas mais velhas, mas, com o aumento da incidência de obesidade em crianças, adolescentes e adultos jovens, passou a incidir também nestas populações. O diabetes tipo 2 pode evoluir para as mesmas complicações clínicas que o diabetes tipo 1, tais como doenças cardiovasculares — a principal causa de morte entre os diabéticos —, neuropatias, nefropatias, retinopatias, catarata etc.

### No diabetes, o organismo comporta-se como no jejum

Um quadro metabólico muito semelhante ao descrito para o jejum prolongado é encontrado nos casos de diabetes tipo 1 (insulinodependente) não tratado. A deficiência na produção de insulina impede o aproveitamento de glicose pelos tecidos insulinodependentes e aumenta a produção de glicose pelo fígado, levando à hiperglicemia. Como deixa de haver inibição da síntese de glucagon por insulina, resulta uma hiper glucagonemia, agravando a hiperglicemia. Fica imposta ao organismo uma razão insulina/glucagon permanentemente baixa, mimetizando uma situação de carência nutricional, apesar dos altos níveis plasmáticos de glicose (Tabela 21.3). Desta forma, prevalece o metabolismo degradativo: gliconeogênese acentuada, levando a intensa proteólise; lipólise acelerada, com alta produção de corpos cetônicos, que pode ocasionar cetoacidose grave, e balanço nitrogenado negativo. Todas estas alterações metabólicas são derivadas da carência celular de glicose e aminoácidos. Entretanto, a hiperglicemia também tem consequências. Os níveis glicêmicos altos mantêm as células em hiperosmolaridade e acarretam uma sobrecarga renal. A eliminação urinária elevada de glicose é acompanhada da perda de grandes volumes líquidos, levando à depleção de eletrólitos.

O controle estrito da glicemia é recomendado para todos os pacientes com diabetes, tendo em vista que a hiperglicemia está fortemente associada a muitas das complicações do diabetes. A alta concentração de glicose circulante provoca a formação de proteínas glicadas no sangue e nos tecidos. Nas hemácias, a glicose liga-se à hemoglobina, em uma reação não catalisada e irreversível, que depende da concentração de glicose e do tempo de vida das hemácias, em média, de 120 dias. O monitoramento do grau e da duração da hiperglicemia costuma ser feito medindo o teor de hemoglobina glicada ( $HbA_{1c}$ ). Este dado reflete o valor médio da concentração de glicose ao longo dos 2 a 3 meses precedentes: indivíduos diabéticos podem apresentar concentrações de  $HbA_{1c}$  até três vezes maiores que indivíduos normais. Avaliações do teor de hemoglobina glicada constituem o procedimento padrão para avaliar a eficácia da abordagem terapêutica adotada para o tratamento da doença, adicionalmente a medidas pontuais da glicemia.

No início da década de 1920, acreditava-se que o quadro descrito para o diabetes tipo 1 poderia ser revertido com a administração do hormônio deficitário. Todavia, passadas algumas décadas, verificou-se que injeções periódicas de

insulina não eram capazes de reproduzir o controle extremamente sofisticado do metabolismo, resultando em uma expectativa de vida reduzida, devido à instalação dos processos degenerativos inerentes à doença. Inúmeras estratégias terapêuticas foram desenvolvidas desde então, na tentativa de mimetizar os padrões fisiológicos de secreção de insulina, tornando possível o controle eficiente da glicemia.

As insulinas bovina e suína foram substituídas por insulina humana recombinante e, a partir de meados da década de 1990, tornaram-se disponíveis os *análogos de insulina*, resultantes de alterações na sequência de aminoácidos da cadeia β da insulina humana. Os análogos de insulina podem ser de ação rápida, intermediária ou lenta, permitindo ajustar os níveis de glicose na situação pós-prandial e nos períodos de jejum. Adicionalmente, estão disponíveis novos sistemas de infusão contínua de insulina (“bomba de insulina”) que respondem com maior precisão a variações da glicemia do que injeções do hormônio. Uma nova forma de administração de insulina, não invasiva e mais bem aceita pelos pacientes, está disponível desde 2006: é a insulina em pó, absorvida por inalação (*insulina inalável*), empregada como alternativa para as insulinas subcutâneas de ação rápida. Porém, os efeitos a longo prazo sobre a função pulmonar não são conhecidos.

Os pacientes com diabetes tipo 1 necessitam de terapia insulínica permanente, a não ser que recebam transplante de pâncreas inteiro ou de ilhotas de Langerhans, uma abordagem terapêutica utilizada ainda em escala reduzida e experimental.

O controle do diabetes tipo 2 é conseguido por uma combinação de abordagens terapêuticas: regime alimentar, atividade física, administração de antidiabéticos orais e, ainda, insulina. Com efeito, devido aos benefícios advindos do controle rígido da glicemia, o uso de insulina, ou de análogos de insulina, passou a ser mais comum e precocemente empregado. Os antidiabéticos (ou hipoglicemiantes) orais são agentes farmacológicos que determinam redução da glicemia, por atuações diversas, tais como: reduzir a produção de glicose pelo fígado, promover a tomada do açúcar pelas células, estimular a secreção de insulina do pâncreas, retardar a digestão e, portanto, a absorção de carboidratos etc. O mecanismo de ação destes agentes, embora alguns sejam empregados há décadas, ainda é controverso. É o que acontece com a *metformina*, o fármaco mais utilizado para o tratamento do diabetes tipo 2: a hipótese aceita de que ela inibiria a gliconeogênese hepática por ativação da proteína quinase dependente de AMP (AMPK) tem sido questionada.

Uma nova abordagem terapêutica para reduzir a hiperglicemia do diabetes envolve a participação dos rins: inibidores do transportador de glicose impedem a reabsorção renal de glicose que, então, é excretada na urina em vez de retornar à circulação e elevar a glicemia.

## Bibliografia

- Cahill GF Jr: Fuel metabolism in starvation. *Annu Rev Nutr* **26**: 1-22, 2006.
- Chao EC, Henry RR: SGLT2 inhibition — a novel strategy for diabetes treatment. *Nat Rev Drug Discov* **9** (7): 551-559, 2010.
- Madiraju AK *et al.*: Metformin suppresses gluconeogenesis by inhibiting mitochondrial glycerophosphate dehydrogenase. *Nature* **510** (7506): 542-546, 2014.
- Miller RA *et al.*: Biguanides suppress hepatic glucagon signalling by decreasing production of cyclic AMP. *Nature* **494**: 256-260, 2013.
- Owen OE: Ketone bodies as a fuel for the brain during starvation. *Biochem Molec Biol Ed* **33** (4): 246-251, 2005.
- Reaven GM: Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* **37**: 1595-1607, 1988.
- Sacks DB: Hemoglobin A1c in diabetes: panacea or pointless? *Diabetes* **62**: 41-43, 2013.
- Smyth S, Heron A: Diabetes and obesity: the twin epidemics. *Nature Med* **12** (1), 75-80, 2005.
- Taylor R *et al.*: Direct assessment of liver glycogen storage by <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectroscopy and regulation of glucose homeostasis after a mixed meal in normal subjects. *J Clin Invest* **97**: 126-132, 1996.
- Young VR, Scrimshaw NS: The physiology of starvation. *Sci Am* **225** (4): 14-21, 1971.