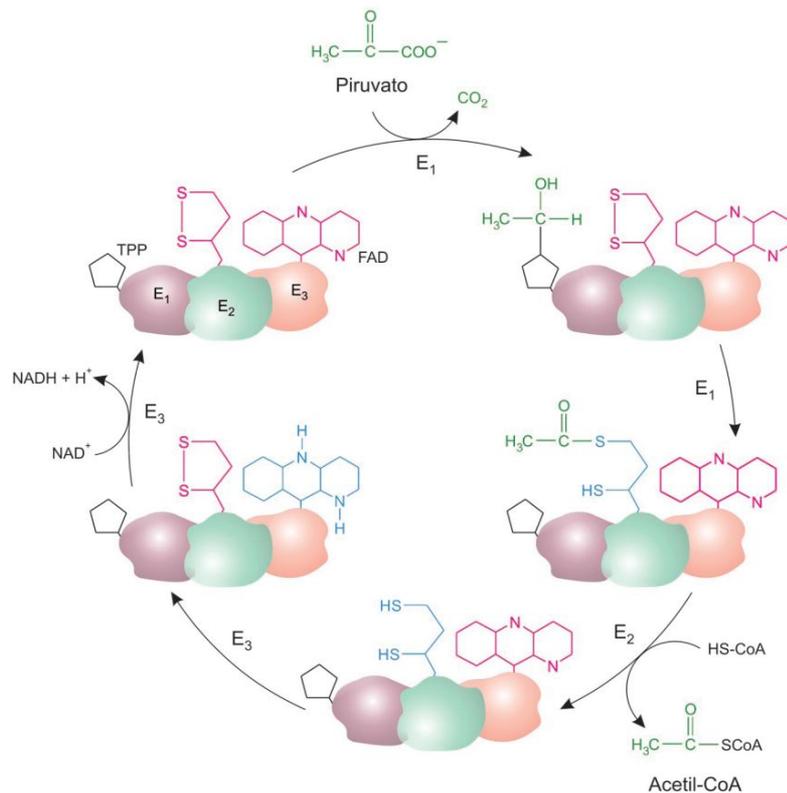
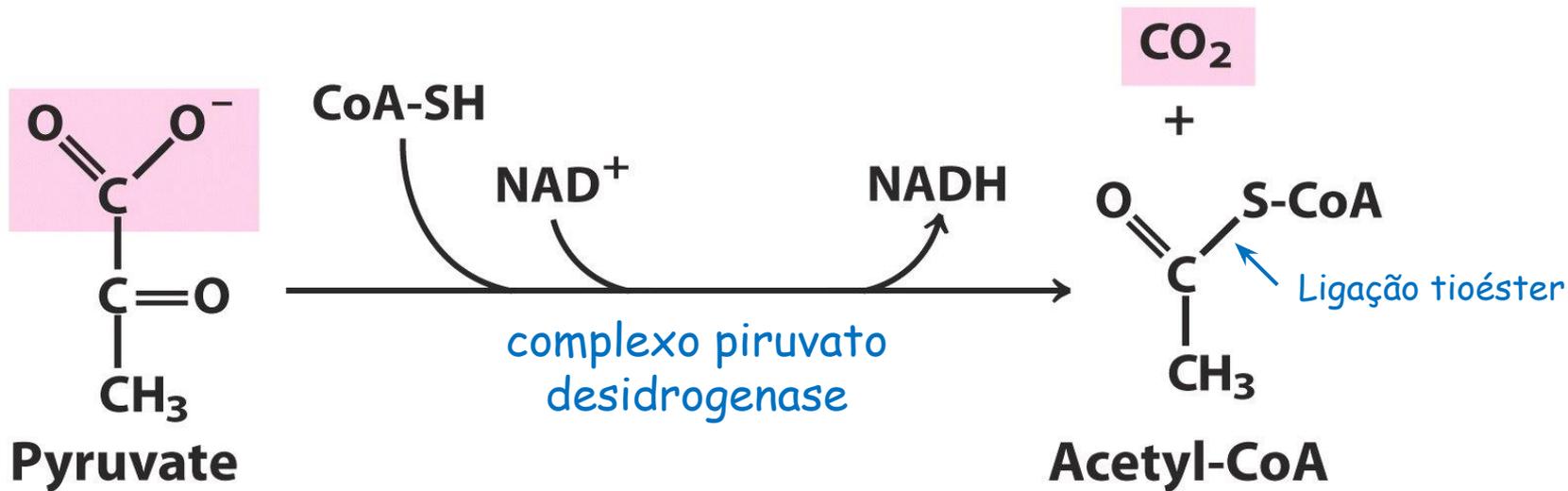


**Mecanismos regulatórios do complexo
piruvato desidrogenase e ciclo de Krebs**

REGULAÇÃO DO COMPLEXO PIRUVATO DESIDROGENASE



- E1 = Piruvato desidrogenase
- E2 = Diidrolipoil transacetilase
- E3 = Diidrolipoil desidrogenase

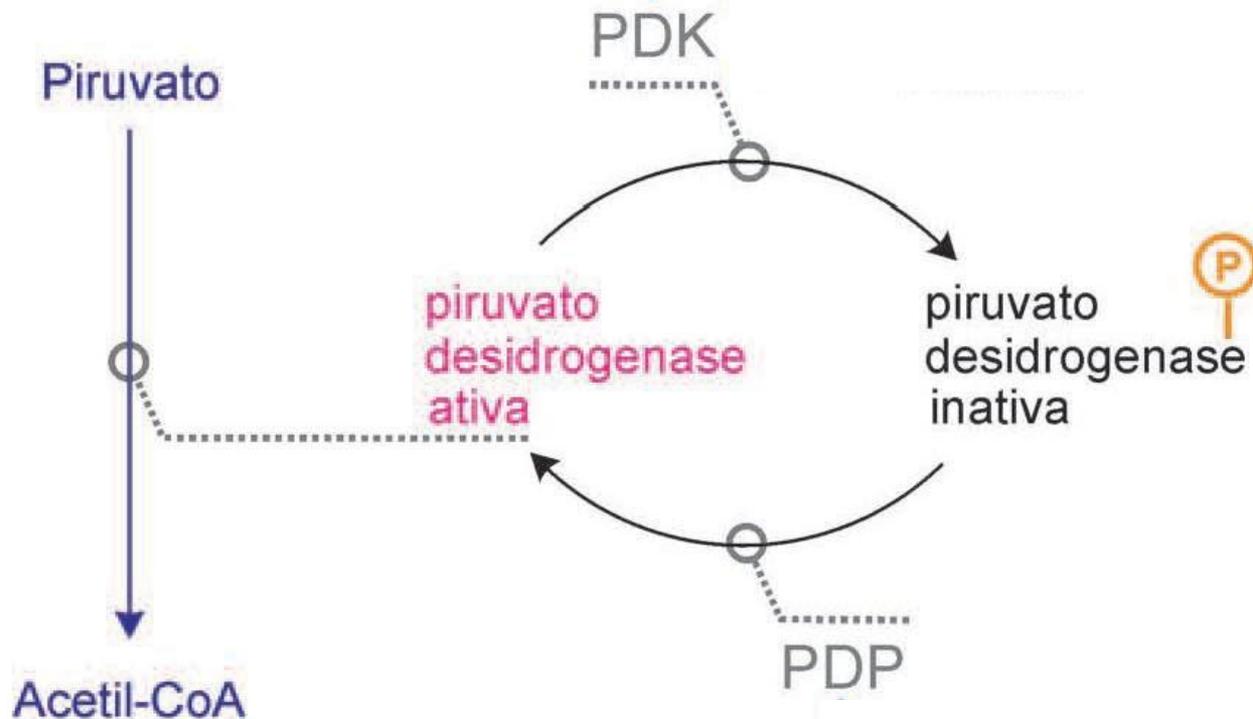
Regulação do complexo piruvato desidrogenase

- O complexo piruvato desidrogenase de mamíferos contém, além das três enzimas que catalisam a reação de oxidação do piruvato à acetil-CoA, duas enzimas reguladoras específicas: **piruvato desidrogenase quinase (PDK)** e **piruvato desidrogenase fosfatase (PDP)**.
- Como o próprio nome sugere, a PDK e a PDP tem como substrato o próprio complexo piruvato desidrogenase, logo....

A atividade do complexo piruvato desidrogenase será determinada pelas atividades relativas de PDK e PDP!

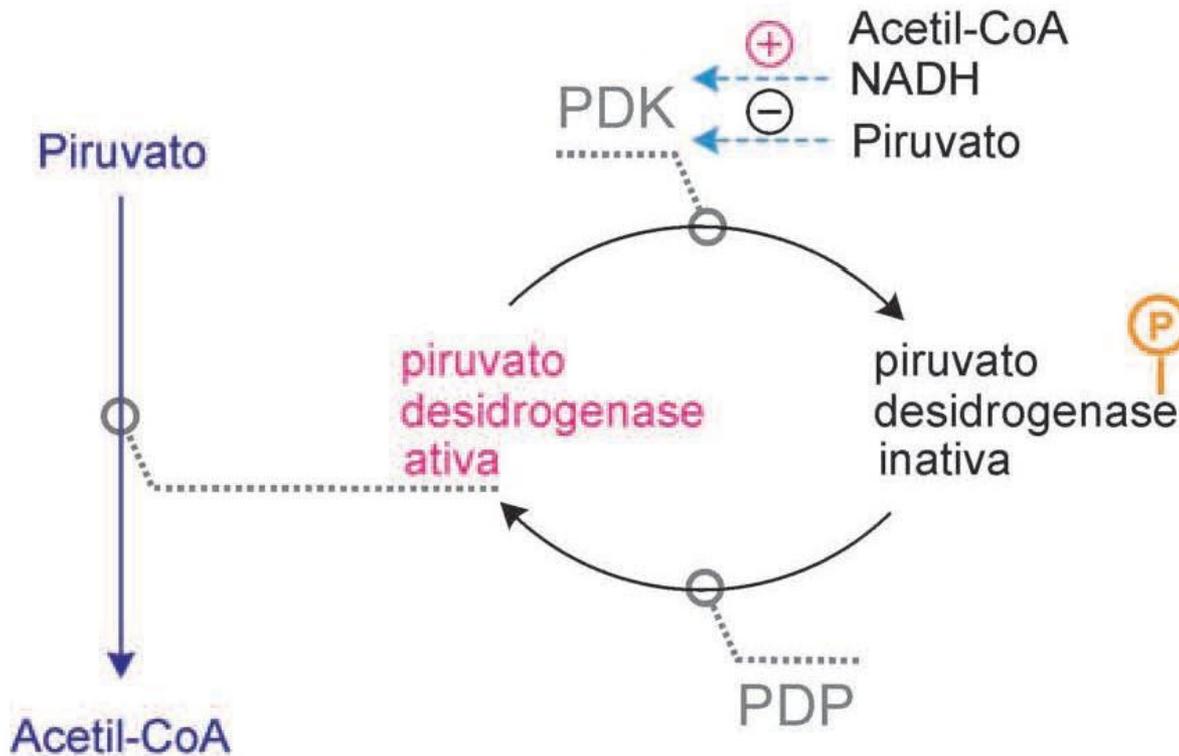
Regulação do complexo piruvato desidrogenase

- O complexo piruvato desidrogenase terá sua atividade inibida quando fosforilado pela enzima PDK. Ao contrário, quando o complexo for desfosforilado pela enzima PDP sua atividade será estimulada.



Regulação do complexo piruvato desidrogenase

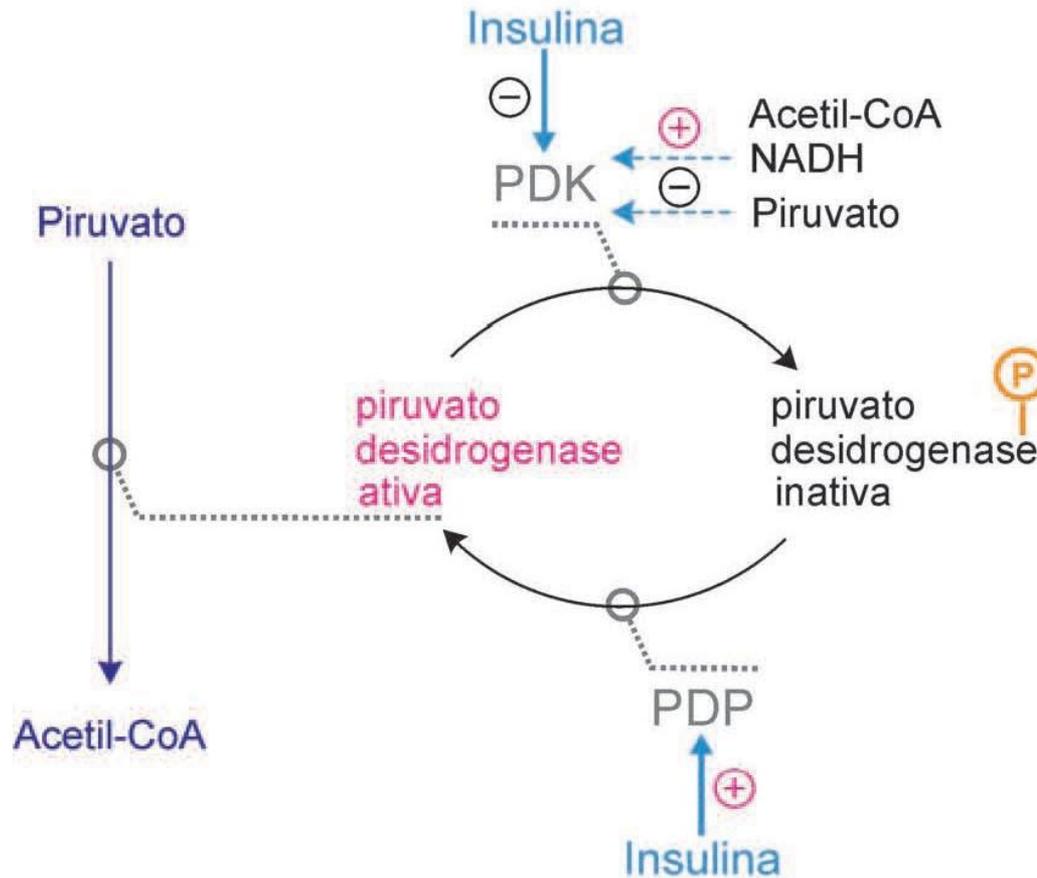
- As atividades de PDK e PDP são moduladas alostericamente pelos próprios produtos da reação catalisada pelo complexo piruvato desidrogenase, **NADH** e **Acetil-CoA**.



- Além disso o próprio substrato, **piruvato**, atua como efetor alostérico positivo da enzima.

Regulação do complexo piruvato desidrogenase

- A atividade do complexo piruvato desidrogenase também será modulada indiretamente pela insulina. De fato, a insulina inibe a síntese de PDK ao mesmo tempo em que estimula a síntese de PDP.





Mas em que situações o complexo
piruvato desidrogenase estará inibido?

E quando estará ativado?

Mas em que situações o complexo piruvato desidrogenase estará inibido? E quando estará ativado?

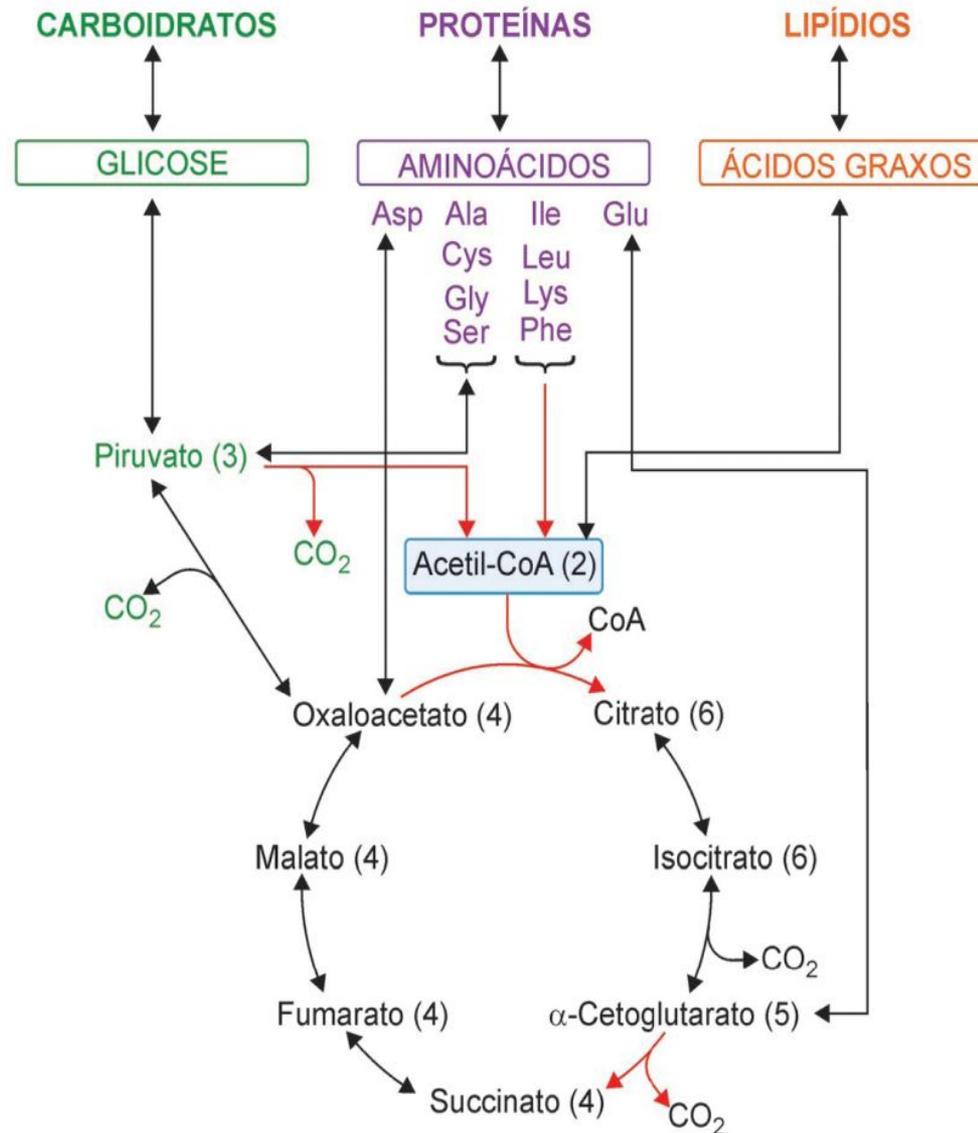
- Como dito anteriormente, a atividade do complexo piruvato desidrogenase depende das concentrações relativas de seus próprios produtos, **acetil-CoA** e **NADH**, e também da concentração de seu substrato, **piruvato**.
- Assim, o complexo piruvato desidrogenase estará inibido em situações em que haja aumento de NADH e acetil-CoA dentro das mitocôndrias. Logo, em situações onde haja aumento da concentração de piruvato, o complexo estará ativado.



Quando ocorre aumento de acetil-CoA e NADH nas mitocôndrias?

Quando ocorre aumento de piruvato nas mitocôndrias?

Quando ocorre aumento de acetil-CoA e NADH nas mitocôndrias?



Quando ocorre aumento de acetil-CoA e NADH nas mitocôndrias?

- A **oxidação de ácidos graxos e proteínas** durante o **jejum** ou nas **atividades físicas vigorosas** leva ao aumento das concentrações de acetil-CoA e NADH mitocondriais e **inibe a atividade do complexo piruvato desidrogenase**.
- Com a inibição do complexo piruvato desidrogenase o piruvato obtido pela oxidação da glicose ou de alguns aminoácidos não pode ser convertido em Acetil-CoA e oxidado pelo Ciclo de Krebs.
- O piruvato é então convertido em oxaloacetato pela enzima **piruvato carboxilase** cuja atividade encontra-se estimulada pela alta concentração de acetil-CoA, seu modulador alostérico positivo.

Quando ocorre aumento de acetil-CoA e NADH nas mitocôndrias?

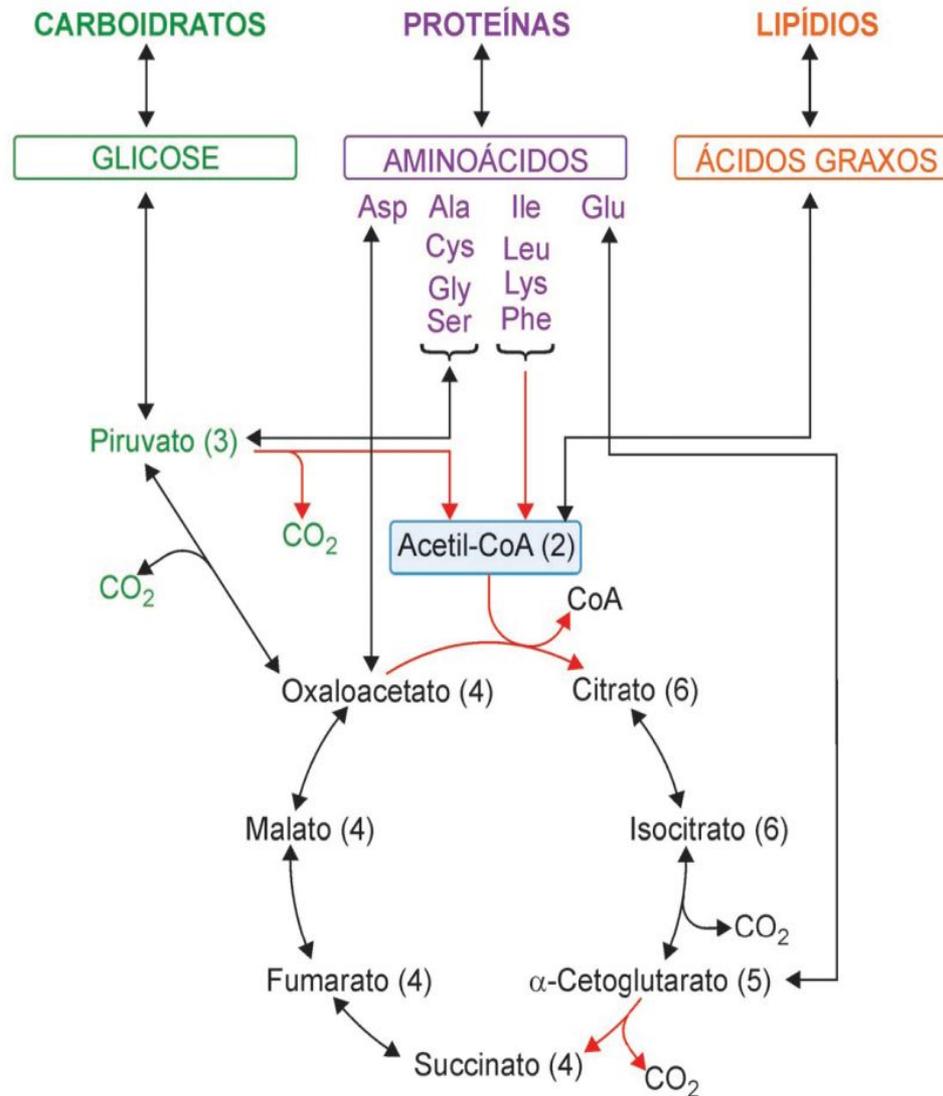
- O aumento de oxaloacetato permite com que maior número de moléculas de acetil-CoA (provenientes da degradação de ácidos graxos e proteínas) possam ser oxidadas pelo ciclo de Krebs levando a produção de energia.
- No fígado, o piruvato excedente (incapaz de ser utilizado pelo ciclo de Krebs já que o complexo piruvato desidrogenase está inibido) é convertido em oxaloacetato através da ação da piruvato carboxilase que, como dito anteriormente, está ativada nesta situação. O oxaloacetato produzido é então convertido em fosfoenolpiruvato (reação catalisada pela fosfoenolpiruvato carboxiquinase) e utilizado pela gliconeogênese.

Quando ocorre aumento de acetil-CoA e NADH nas mitocôndrias?

A inibição da piruvato desidrogenase "economiza" o uso de glicose pelos músculos e demais células que podem utilizar outros nutrientes (como proteínas e ácidos graxos) como fonte de energia, disponibilizando a glicose para os tecidos que dela dependem (cérebro, hemácias, etc).

O uso de piruvato (glicose) é economizado pelas células que deixam de oxidar seus carbonos (na forma de Acetil-CoA) no ciclo de Krebs. O piruvato é convertido em oxaloacetato cujos carbonos não são oxidados pelo ciclo de Krebs já que este metabólito é reciclado ao final das reações. Assim não é necessário consumo contínuo de glicose pelas células.

Quando ocorre aumento de piruvato nas mitocôndrias?



Quando ocorre aumento de piruvato nas mitocôndrias?

- Um aumento de piruvato nas mitocôndrias reflete um aumento da disponibilidade de glicose no sangue como o que ocorre após a ingestão de uma refeição.
- A glicose abundante é captada pelas células e oxidada à piruvato pela via glicolítica. Como resultado, aumentam as concentrações de piruvato mitocondriais.
- Piruvato inibe alostericamente a atividade de PDK. Adicionalmente, o aumento da insulina induz a síntese de PDP e inibição da síntese de PDK levando a estimulação da atividade do complexo piruvato desidrogenase.
- O piruvato abundante é então convertido a acetil-CoA e oxidado pelo ciclo de Krebs.



No estado diabético, a regulação do complexo piruvato desidrogenase assemelha-se à do jejum, por que a repressão da PDK e a indução de PDP 1 e 2 estão comprometidas devido a falta de insulina ou resistência a sua ação.

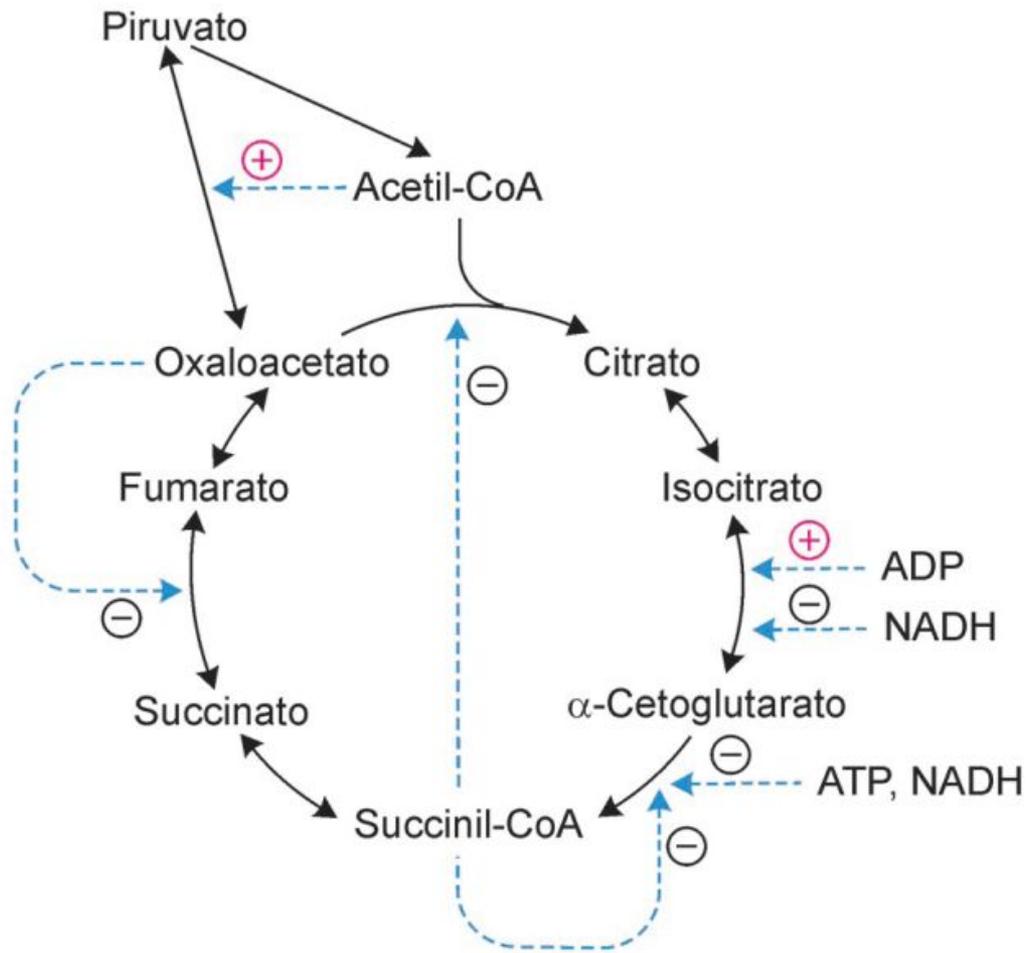
Dessa maneira o metabolismo é regulado como se tivesse que lidar com uma falta de glicose no sangue. Nesse caso, o fígado mantém o complexo piruvato desidrogenase inibido e desvia o piruvato no sentido de conversão a oxaloacetato e, posteriormente, a fosfoenolpiruvato, intermediário da gliconeogênese que nesta situação, está estimulada.

Resultado final: Diminuição de captação e utilização de glicose pelos tecidos em geral + aumento da gliconeogênese = aumento da glicemia (que já se encontra alta!)

REGULAÇÃO DO CICLO DE KREBS

Pontos de regulação do ciclo de Krebs

1. A velocidade do funcionamento do ciclo de Krebs depende das concentrações relativas de **Acetil-CoA** e **Oxaloacetato**, os dois reagentes da primeira reação do ciclo.
2. As razões ATP/ADP, NADH/NAD⁺ são importantes moduladores do funcionamento do ciclo de Krebs não somente porque o ciclo inclui reações de óxido redução que requerem NADH mas, também, porque **NADH, ATP e ADP são efetadores alostéricos de enzimas do ciclo.**
3. O funcionamento do ciclo de Krebs depende da disponibilidade de coenzimas na forma oxidada (**NAD⁺, FAD, GDP**).



Pontos de regulação do ciclo de Krebs. O ciclo de Krebs tem seu funcionamento modulado pelas razões NAD^+/NADH , ATP/ADP e, também, pelas concentrações relativas de acetil-CoA e oxaloacetato.

1. A velocidade do funcionamento do ciclo de Krebs depende das concentrações relativas de Acetil-CoA e Oxaloacetato, os dois reagentes da primeira reação do ciclo.

- Quando as células necessitam de energia (encontram-se com uma relação ATP/ADP baixa) os nutrientes (glicose, ácidos graxos, proteínas) são oxidados a fim de fornecerem a energia necessária para a produção de ATP. Nessa situação as vias oxidativas estão estimuladas.
- Uma vez estimuladas pela baixa relação ATP/ADP, as vias oxidativas geram coenzimas reduzidas e acetil-CoA, este último, intermediário comum da oxidação de carboidratos, proteínas e lipídios.
- Resultado: Aumento da produção de coenzimas reduzidas e **Acetil-CoA**.

- A grande quantidade de acetil-CoA necessita ser completamente oxidada pelas reações do ciclo de Krebs.
- Contudo, para isso, quanto maiores as quantidades de oxaloacetato disponíveis maior o número de moléculas de acetil-CoA que poderão ser oxidadas a cada volta do ciclo de Krebs. De fato, não adiantaria nada oxidarmos os nutrientes rapidamente e gerarmos grandes quantidades de acetil-CoA se não pudéssmos oxidá-la de maneira eficiente e rápida!
- Dessa maneira, o próprio aumento das concentrações de acetil-CoA levam ao aumento de sua oxidação pelo ciclo de Krebs! De fato, a **acetil-CoA é modulador alostérico positivo da piruvato carboxilase** enzima que converte piruvato à oxaloacetato.

- Assim, o aumento da concentração de acetil-CoA (resultante da intensa oxidação de nutrientes) é acompanhado por um aumento nas concentrações de oxaloacetato. Agora, maior número de moléculas de acetil-CoA podem reagir com o oxaloacetato na primeira reação do ciclo de Krebs.

Resultado: Número maior de moléculas de acetil-CoA sendo oxidadas a cada volta do ciclo de Krebs, aumenta quantidade de GTP e coenzimas reduzidas formadas por intervalo de tempo! Maior número de coenzimas reduzidas direcionadas a cadeia transporte de elétrons, maior produção de ATP pela fosforilação oxidativa.

2. As razões ATP/ADP, NADH/NAD⁺ são importantes moduladores do funcionamento do ciclo de Krebs não somente porque o ciclo inclui reações de óxido redução que requerem NADH mas, também, porque NADH, ATP e ADP são efetadores alostéricos de enzimas do ciclo.

- Como dito anteriormente, na situação estudada ocorre aumento nas concentrações intracelulares de acetil-CoA, em consequência à intensa oxidação de nutrientes. Esse aumento da acetil-CoA é compensado por um aumento dos níveis de oxaloacetato permitindo, dessa maneira, que maior número de moléculas de acetil-CoA sejam oxidadas pelo ciclo de Krebs por intervalo de tempo.
- Nessa situação também observamos que essa maior disponibilidade de substratos da primeira reação do ciclo é acompanhada por uma maior capacidade do ciclo de Krebs de metabolizar os intermediários formados durante a oxidação da acetil-CoA.

- Em conjunto com o aumento da oferta de substratos (acetil-CoA e oxaloacetato) para o ciclo de Krebs ocorre, também, a estimulação da atividade de enzimas do ciclo como é o caso da **isocitrato desidrogenase** e **α -cetoglutatarato desidrogenase**.
- O aumento da demanda energética, sinalizado pelo aumento da concentração de ADP, estimula a atividade da isocitrato desidrogenase (ADP é modulador alostérico positivo da enzima). A diminuição na concentração de ATP induz o aumento da atividade da α -cetoglutatarato desidrogenase que é inibida alostericamente por este.

3. O funcionamento do ciclo de Krebs depende da disponibilidade de coenzimas na forma oxidada (NAD^+ , FAD , GDP).

- A contínua atividade do ciclo de Krebs depende do constante fornecimento de coenzimas na forma oxidada. Para isso, o ciclo de Krebs depende do funcionamento da cadeia de transporte de elétrons onde, de fato, as coenzimas reduzidas geradas no ciclo de Krebs são re-oxidadas podendo voltar a participar das reações desta via.
- Dessa maneira, o funcionamento do ciclo de Krebs não é autônomo. O ciclo de Krebs permanece ativo apenas quando a cadeia transportadora de elétrons e a fosforilação oxidativa estão em funcionamento!

- Na situação de necessidade energética, os níveis elevados de ADP estimulam o funcionamento da cadeia de transporte de elétrons e da fosforilação oxidativa permitindo o fornecimento contínuo de coenzimas oxidadas para o ciclo de Krebs.

Por fim...

- A intensa atividade das vias oxidativas acompanhada pela estimulação do ciclo de Krebs gera grandes quantidades de coenzimas reduzidas e uma pequena quantidade de energia (ATP ou GTP) através de reações de fosforilação no nível do substrato. As coenzimas são rapidamente oxidadas pela cadeia de transporte de elétrons fornecendo energia para a síntese de ATP pela ATP sintase. Todo esse processo leva ao aumento da quantidade de energia da célula.
- Satisfeita a demanda energética da célula, aumenta a concentração de ATP, diminui a da ADP. A inibição da fosforilação oxidativa e da cadeia de transporte de elétrons interrompe o fornecimento de coenzimas oxidadas ao ciclo de Krebs.

- O aumento da concentração de NADH inibe a atividade da isocitrato desidrogenase e, também, da α -cetoglutarato desidrogenase, esta última também inibida pelo aumento do ATP intracelular.
- Como consequência da inibição do ciclo de Krebs, mais especificamente da isocitrato desidrogenase, ocorre o **acúmulo de citrato**.
- O citrato é transportado para o citosol onde inibe a fosfofrutoquinase 1 contribuindo para a parada de funcionamento da via glicolítica que, nessa situação, também tem sua atividade inibida pelo ATP (que inibe fosfofrutoquinase 1 e piruvato quinase).
- Além da glicólise, outras vias oxidativas são inibidas com a interrupção do funcionamento de Krebs. Metabolismo passa agora a armazenar a energia através da síntese de ácidos graxos, glicogênio e a sintetizar outras macromoléculas.