

Ricardo Vieira

**Fundamentos de
Bioquímica**

TEXTOS DIDÁTICOS

**Belém-Pará
2003**

Apresentação

A **bioquímica** é, sem dúvida, uma das ciências mais fascinantes porque desmonta o ser vivo em seus componentes básicos e tenta explicar o funcionamento ordenado das reações químicas que tornam possível a vida, freqüentemente adjetivada como milagre ou fenômeno. Entretanto, o processo químico muito bem organizado que estabelece toda a existência da vida em nosso planeta, tem sido desvendado, continuamente, por cientistas do mundo inteiro. Muito já se sabe, porém o desconhecido é a essência do conhecimento humano e a luta para desvendá-lo advém da natureza desbravadora da humanidade, que não se furta com explicações empíricas e procura a razão dos fatos ao invés de eternizá-los mitos.

Os capítulos que se seguem representam a organização de informações básicas para o aprendizado de Bioquímica Humana, resultado do conteúdo das aulas que ministro há pouco mais de uma década. Como tal, possuem um caráter estritamente didático, não dispensando, de forma alguma, a consulta às referências bibliográficas sugeridas ao final de cada capítulo e outras, existentes na literatura especializada.

Entretanto, não se tratam de “apostilas” repletas de dicas e “macetes” que tornam o ensino estereotipado. Pelo contrário, é um trabalho realizado com carinho e atenção para facilitar o aprendizado em bioquímica nos cursos de Farmácia, Medicina, Biologia, Biomedicina, Nutrição, Enfermagem, Odontologia e áreas afins.

O formato eletrônico em arquivos PDF é uma alternativa econômica e prática de acesso aos meus textos originais, contornando dificuldades editoriais próprias de nossa região. Acima de tudo, este E-book (livro eletrônico) corresponde a um protótipo para uma futura publicação em formato tradicional e, como todo material didático, estes textos estão em constante atualização, sendo a sua opinião (informando falhas, sugerindo mudanças etc.) de extrema valia para a realização de um trabalho cada vez mais completo, possibilitando um retorno positivo para o processo ensino-aprendizagem.

Prof. Ricardo Vieira

Universidade Federal do Pará
Centro de Ciências Biológicas
Laboratório de Genética Humana e Médica
Av. Augusto Corrêa nº 1 – Guamá
Belém - Pará - CEP: 66.075-900
Fone/Fax: (091) 211-1929

E-mail: jrvieira@ufpa.br

HomePage: <http://www.fundamentosdebioquimica.hpg.com.br>

**Belém-Pará
2003**

*À Georgete,
minha companheira e cúmplice.*

*A meus pais,
Benedito e Scila Vieira, meus mestres.*

*A meus alunos,
meus inspiradores.*

Capítulo 1

O que estuda a Bioquímica?

O estudo da Bioquímica infere um conceito nato de que existe uma *química da vida*, ou então que *há vida pela química*. Antes que um conceito filosófico ou religioso, a vida, aqui, deve ser tratada como o resultado da maximização de fatores físicos e químicos presentes em um sistema aberto extremamente frágil: a célula. Neste microscópico tubo de ensaio estão os componentes necessários para que o ser vivo complete o clássico ciclo da vida, ou seja, *nascer, crescer, reproduzir e morrer*, tudo resultado de um processo natural de desenvolvimento de reações químicas típicas com reagentes, produtos e catalisadores que, quanto melhor as condições ótimas de reação, melhor a eficácia com que serão executadas.

Do ponto de vista químico, os seres vivos são constituídos de elementos bastante simples e comuns em todo o universo: carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio (bases dos compostos orgânicos), além de uma infinidade de outros elementos presentes em quantidades relativamente menores, mas de funções imprescindíveis ao funcionamento celular (p.ex.: ferro, enxofre, cálcio, sódio, potássio, cloro, cobalto, magnésio etc.)

O agrupamento desses elementos, em moléculas com funções distintas, foi um passo longo e decisivo para a afirmação do processo de vida em nosso planeta. O processo de obtenção de energia através da glicose na ausência de oxigênio, por exemplo, é um processo tão organizado que ele é exatamente o mesmo em todos os seres vivos, diferindo somente na forma como o produto final é processado, sendo que a maioria dos seres vivos prossegue com o metabolismo aeróbio, porém todos os seres vivos, sem exceção, realizam o metabolismo anaeróbio de degradação da glicose.

Existe uma relação direta entre a produção de oxigênio pelas cianofíceas e o surgimento dos seres multicelulares levando a incrível diversidade de espécies dos dias atu-

ais. Sobre este aspecto, veja o que dizem Alberts, B. *et al.* (1997).

"Evidências geológicas sugerem que houve mais de um bilhão de anos de intervalo entre o aparecimento das cianobactérias (primeiros organismos a liberar oxigênio como parte do seu metabolismo) e o período em que grandes concentrações de oxigênio começaram a se acumular na atmosfera. Esse intervalo tão grande deveu-se, sobretudo, à grande quantidade de ferro solúvel existente nos oceanos, que reagia com o oxigênio do ar para formar enormes depósitos de óxido de ferro."

Certamente, este processo lento de liberação de oxigênio como um dejetado indesejável dos primeiros habitantes de nosso planeta, foi responsável pelo surgimento de um outro organismo adaptado em consumir este oxigênio como comburente de moléculas orgânicas liberando, assim, a energia térmica tão necessária para a manutenção da vida.

Mas, descrever o processo complexo que é a vida não é tarefa tão simples quanto possa parecer. Na verdade desde que o universo surgiu há cerca de 20 bilhões de anos, a vida na Terra tem apresentado mecanismos ímpares de reprodução e desenvolvimento que muitas vezes são únicos na natureza e desafiam os conceitos bioquímicos como por exemplo os seres que habitam as fossas abissais vulcânicas do Pacífico, que sobrevivem à temperaturas superiores a 120°C; ou os vírus, que não possuem estrutura celular sendo formados, basicamente, apenas por proteínas e ácidos nucleicos.

Um fato comum a todos os seres vivos, porém, é a presença de macromoléculas exclusivas dos seres vivos (carboidratos, lipídios, proteínas, vitaminas e ácidos nucleicos) denominadas de *biomoléculas*. Desta forma, a *química da vida* está atrelada a composição básica de todo ser vivo, uma vez que todos possuem pelo menos dois tipos de biomoléculas, como no caso dos vírus.

Lavoisier e Priestly (final do século XVIII), Pasteur, Liebig, Berzelius e Bernard (século XIX) foram pioneiros na pesquisa de *qual seria a composição dos seres vivos*, sendo

o termo **bioquímica** introduzido em 1903 pelo químico alemão Carl Neuberg. Inicialmente, esta nova ciência era denominada *química fisiológica* ou então *química biológica*, tendo a Alemanha, em 1877, publicado a primeira revista oficial desta nova disciplina (*Zeitschrift für Physiologische Chemie*) e, em 1906, a revista norte-americana *Journal of Biological Chemistry* consagrou-se como importante divulgadora das novas descobertas no campo da bioquímica, sendo editada até hoje.

Após 1920, os Estados Unidos tiveram uma participação decisiva para o crescimento desta nova ciência com a descoberta, isolamento, síntese e descrição do mecanismo de regulação biológica de incontáveis compostos bioquímicos com a utilização de isótopos radiativos como marcadores. Desde 1950, a bioquímica têm-se tornado, cada vez mais, uma das ciências que mais crescem no campo do conhecimento humano tendo papel decisivo na elucidação do mecanismo fisiológico e patológico de regulação de vários compostos bioquímicos de fundamental importância para a saúde do ser humano. Atualmente, os métodos de diagnóstico e tratamento da maioria das doenças, são estudados a partir de uma base bioquímica, revelando as causas, as seqüências e maneiras de se evitar o início ou a propagação das mais diversas patologias.

Neste capítulo, serão apresentadas as principais moléculas envolvidas no processo da vida, introduzindo o estudo dos fundamentos de bioquímicas que será efetuado nos capítulos posteriores.

A Natureza das Biomoléculas

As **biomoléculas** possuem características químicas comuns às demais moléculas da natureza. Porém, quando associadas em um sistema biológico, possuem uma dinâmica própria de regulação e síntese, que proporcionam as características de cada ser vivo. O ambiente ideal para que ocorram estas reações é a célula, com uma série de organelas especializadas nas mais variadas funções bioquímicas.

A princípio, os seres vivos dos cinco reinos da natureza (*Animalia, Plantae, Fungi,*

Monera e Protista) possuem mecanismos próprios de organização celular, de acordo com sua relação com o meio ambiente (as plantas são autótrofas, por exemplo) ou entre si (os *Moneras* e *Protistas* são unicelulares), ainda havendo distinção quanto à organização das organelas celulares (os moneras são procariotas, e portanto, ao contrário dos demais, não possuem nenhuma estrutura intracelular de membrana). Apesar das diferenças, contudo, todos os seres vivos apresentam uma dinâmica bioquímica celular muitíssimo parecida, evidenciando o sucesso evolutivo dos processos experimentados nos bilhões de anos de aperfeiçoamento. As vias metabólicas celulares constituem um emaranhado de reações químicas que se superpõem, mas, maravilhosamente, não se atropelam e sim se completam formando um complexo e preciso ciclo químico de consumo de reagentes (em bioquímica denominado de *substratos*) e formação de produtos, como em uma reação química qualquer. A forma de regulação destas reações levam a uma intrincada mecânica metabólica tendo ao centro a degradação (catabolismo) e síntese (anabolismo) de biomoléculas,

Os vírus traduzem um capítulo à parte no estudo da bioquímica por apresentarem mecanismos únicos de reprodução e desenvolvimento. Possuem apenas dois tipos de biomoléculas, proteínas e ácido nucléico (DNA ou RNA), necessitando do ambiente celular para seu desenvolvimento, podendo permanecer cristalizados por milhares de anos em estado de inércia quando fora do meio biológico. Alguns vírus mais complexos, possuem carboidratos e lipídios em sua composição oriundos da membrana do hospedeiro durante o processo lítico.

Água

É o composto químico mais abundante (de 60 a 85% do peso total da maioria dos tecidos) sendo o solvente adequado para os compostos minerais e bioquímicos (Figura 1-1). Apesar de não ser uma biomolécula verdadeira (existe em grande quantidade livre na natureza, independente, até, da existência organismos vivos - existe água na lua e livre no vácuo do espaço), graças à sua polaridade, a água consegue dissolver a maioria das biomoléculas (exceção às gorduras) criando uma capa de solva-

tação ao redor delas, induzida por pontes de hidrogênio. Entretanto, a água também participa ativamente em reações bioquímicas (p. ex.: hidrólise, condensação) o que a torna um dos componentes químicos mais importantes para a vida. De fato, o simples achado de água na forma líquida permite a inferência de existência de formas de vida (pelo menos como nós a concebemos) seja no mais árido e quente deserto, nos gélidos e secos pólos da Terra ou nas mais profundas, escuras e ferventes fossas abissais do Pacífico (e, quem sabe, em outros planetas do nosso sistema solar).

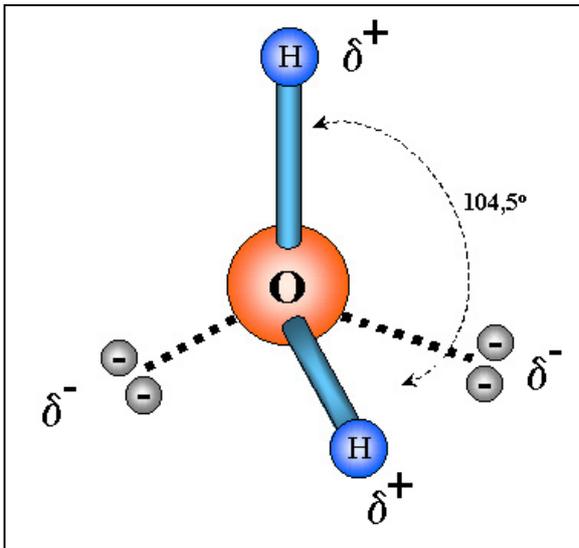


Figura 1-1: A molécula da água possui polaridade devido à diferença de carga entre os átomos de hidrogênio e o de oxigênio que, por ser mais eletronegativo, favorece a criação de uma nuvem eletrônica em torno de seu núcleo, induzindo a uma carga formal positiva para os átomos de hidrogênio. Esta polaridade permite o surgimento de pontes de hidrogênio o que torna a água um soluto perfeito para a maioria das biomoléculas. (Adaptado de Lehninger, A.L. et al., 1995).

Em organismos multicelulares, a água distribui-se em dois ambientes: líquido intracelular (LIC) e líquido extracelular (LEC) que, por sua vez, compõe-se do líquido intravascular (plasma sanguíneo) e líquido intersticial nos seres mais complexos, como é o caso do ser humano, objeto central de nosso estudo. O sangue é o mais importante compartimento líquido do organismo e serve de base para o estudo do metabolismo de vários compostos bioquímicos. Frequentemente, os valores médios da concentração das biomoléculas em um indivíduo, para efeito de estudos

metabólicos, baseiam-se na composição plasmática (a parte líquida do sangue).

O sangue exerce um importante papel no estudo da bioquímica, uma vez que possui funções-chaves na manutenção dos processos fisiológicos. É indispensável pelo transporte de nutrientes, metabólitos, produtos de excreção, gases respiratórios, hormônios e de células e moléculas de defesa. Em animais de grande porte, é indispensável como dissipador do calor produzido pela alta taxa metabólica celular, impedindo que as células entrem em colapso químico em virtude do aumento da temperatura ambiente. A capacidade de coagulação é uma importante propriedade sanguínea que garante o fluxo constante do sangue nos vasos, evitando perdas por hemorragia.

A maioria dos seres multicelulares possui sangue ou algum tipo de líquido com função correlata (p.ex.: a hemolinfa de insetos), sendo que mamíferos e aves possuem um sistema de manutenção da temperatura corpórea extremamente eficaz ("sangue quente"), o que não permite modificações bruscas na temperatura de reação bioquímica. Os demais animais de "sangue frio" não conseguem evitar as trocas de temperatura com o meio ambiente e a temperatura interna varia consideravelmente, levando a um metabolismo energético diversificado dos de "sangue quente". Entretanto, vários peixes velozes (p.ex.: tubarão, salmão) possuem mecanismos particulares de aquecimento constante do sangue para manter uma temperatura constante para suas altas atividades metabólicas de predadores, o que os torna verdadeiros peixes de "sangue quente".

A água, ainda, é importante na manutenção do equilíbrio químico celular mantendo as concentrações de H^+ e demais eletrólitos dentro de faixas estreitas evitando variações letais de pH e osmolaridade. É claro que esta manutenção só é possível graças a um complexo processo bioquímico e fisiológico envolvendo hormônios (p.ex.: aldosterona, cortisol), órgãos especializados (p.ex.: rins, pulmões, adrenais) e um sistema fisiológico de tampões bioquímicos (p.ex.: Hb/HbO_2 ; H_2CO_3/HCO_3^-).

Em organismos marinhos, a água é a responsável pelo fornecimento do oxigênio e dispersão de excrementos, como o CO_2 e compostos nitrogenados, que favorecem a matéria

prima para o fitoplâncton produz carboidratos, aminoácidos (e outros nutrientes) e o O_2 , essenciais para a manutenção do equilíbrio ecológico da Terra.

Proteínas

São as biomoléculas mais abundantes, possuindo inúmeras funções, dentre elas a indispensável função catalisadora exercida pelas enzimas, sem a qual não seria possível a maioria das reações celulares (apesar de algumas moléculas de RNA possuírem ação catalítica idêntica a enzimas).

São formadas por aminoácidos ligados por ligações químicas extremamente fortes entre seus grupamentos funcionais amino (NH_2) e ácido carboxílico ($COOH$), as ligações peptídicas (Figura 1-2).

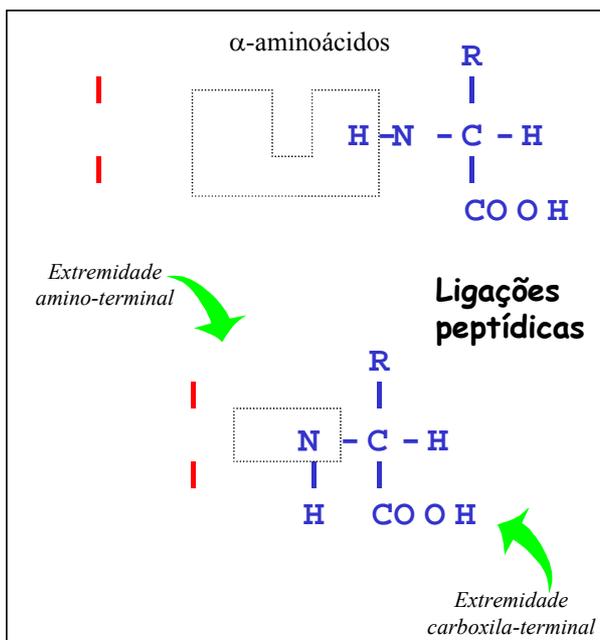


Figura 1-2: A ligação peptídica entre dois aminoácidos é extremamente rígida e não gira, porém pode doar ou receber prótons quando em meio básico ou ácido.

Outras ligações ocorrem entre o restante da cadeia carbonada dos aminoácidos, como ligações covalentes entre os grupamentos $-SH$ de dois aminoácidos cisteína, formando uma ponte dissulfeto, pontes de hidrogênio entre grupamentos polares da cadeia carbonada, ou até ligações fracas do tipo de van der Waals, mas que garantem uma incrível estabilidade e conformação tridimensional única às proteínas, relacionada diretamente com sua função (Figura 1-3).

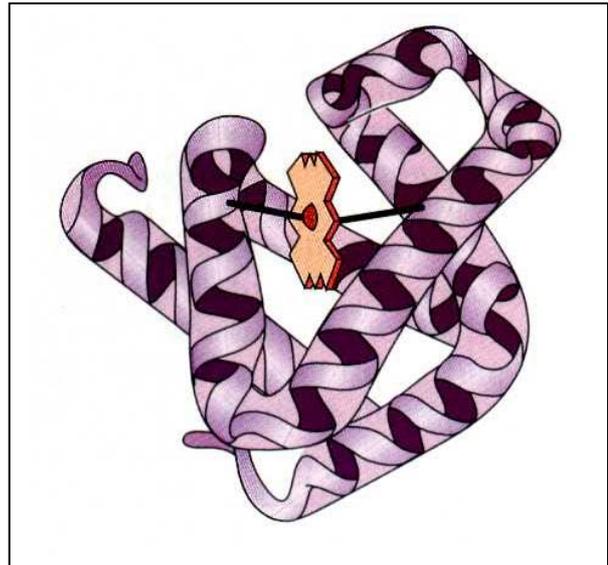


Figura 1-3: A estrutura tridimensional da mioglobina, proteína especializada em liberar o O_2 que transporta, somente em baixa pO_2 o que traduz sua importância no metabolismo muscular. (Adaptado de Campbel, M.K., 1995)

De fato, essa propriedade de assumir formas variadas proporciona um papel importante na estereoquímica celular, onde as reações são quase todas enzimáticas e ocorrem com uma especificidade da enzima ao substrato garantida pela forma tridimensional final das proteínas. Quaisquer modificações nesta estrutura modificará a afinidade da enzima pelo substrato e isso será utilizado pela célula para regular a ação enzimática.

As proteínas normalmente abastecem e suprem as necessidades corpóreas de aminoácidos e do nitrogênio neles contido. Toda proteína presente na dieta de seres humanos é digerida e entra na circulação como aminoácidos individualizados ou mesmo como dipeptídeos (compostos por dois aminoácidos), indo ao fígado que inicia seu processo metabólico.

Os animais são capazes de sintetizar somente 10 dos 20 aminoácidos necessários para a síntese protéica (os aminoácidos denominados **não-essenciais**: glicina, alanina, serina, prolina, cisteína, ácido aspártico, ácido glutâmico, asparagina, glutamina e tirosina), e os outros 10 são incapazes de serem sintetizados e devem estar presente na alimentação (os **aminoácidos essenciais**: treonina, lisina, metionina, arginina, valina, fenilalanina, leucina, triptofano, isoleucina e histidina).

Alguns aminoácidos podem ser sintetizados no organismo mas a uma taxa que o torna essencial na alimentação, como é o caso da *arginina* que é utilizada quase que integralmente na síntese da uréia e da *histidina* que é produzida em quantidade insuficiente para a síntese protéica, porém tornam-se quase que desnecessários na dieta de adultos, quando o crescimento (e, portanto, a fase de maior síntese de proteínas estruturais) chega ao fim. Em contrapartida, os aminoácidos ditos não-essenciais cisteína e tirosina são sintetizados a partir dos aminoácidos essenciais metionina e fenilalanina, o que os torna, de certa maneira, dependentes da presença desses aminoácidos essenciais.

No fígado, os aminoácidos absorvidos no processo digestivo são convertidos nas proteínas plasmáticas: 1) albumina (função de transporte); 2) α 1-globulina (glicoproteínas e lipoproteínas de alta densidade); 3) α 2-globulinas (haptoglobinas, transportadoras de hemoglobina que saem das hemácias); 4) β -globulinas (transferrina, lipoproteínas de baixa densidade) e 5) fatores da coagulação sanguínea (fibrinogênio e protrombina). No plasma sanguíneo encontra-se, ainda, uma infinidade de proteínas produzidas em outros locais do organismo, como é o caso das γ -globulinas (os anticorpos) que são sintetizadas por linfócitos e outras proteínas teciduais.

Alguns aminoácidos são convertidos, no fígado, em bases nitrogenadas (para a síntese de ácidos nucléicos) e outros produtos nitrogenados. Em vários tecidos, possuem funções das mais diversas, como base de síntese de hormônios e neurotransmissores.

A parte nitrogenada dos aminoácidos metabolizada no fígado de mamíferos, anfíbios adultos, e tartarugas é convertida em uréia e excretada pelos rins. Aves, répteis, insetos e invertebrados terrestres excretam o nitrogênio protéico como ácido úrico, enquanto que peixes, invertebrados aquáticos, anfíbios na forma larvária excretam na forma de amônia (crocodilos sintetizam, também, amônia e tartarugas uréia a partir do nitrogênio protéico).

A cadeia carbonada dos aminoácidos é convertida em intermediários do metabolismo energético celular, porém esta função corres-

ponde a uma pequena fração do poderio biológico das proteínas que são, sem dúvida nenhuma, as biomoléculas de maior número de funções em um organismo vivo. A função energética é prioridade de duas outras moléculas: os carboidratos e os lipídios.

Carboidratos

São os principais substratos energéticos da célula, através da degradação da glicose por via anaeróbia e aeróbia (Figura 1-4). Popularmente são chamados de açúcares em virtude do seu mais conhecido representante, a sacarose, formada por um molécula de glicose e outra de frutose com sabor doce característico. O amido (um polímero linear ou ramificado de glicose), entretanto, é a forma de carboidrato mais comum na alimentação, representando cerca de 90% dos carboidratos da dieta. Em mamíferos, a lactose (formada por glicose e galactose) é importante fonte energética presente no leite, apesar da maioria dos mamíferos utilizarem o leite como única fonte de alimento somente em seus primeiros períodos de vida (em ratos alguns dias, em humanos cerca de um ano).

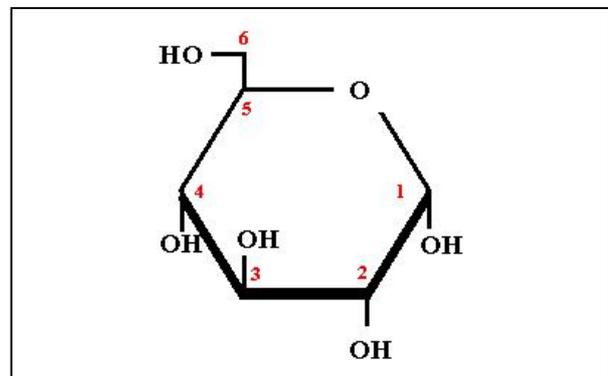


Figura 1-4: A molécula de glicose (uma hexose - carboidrato de seis carbonos) em sua forma cíclica.

De qualquer forma, os carboidratos são as principais biomoléculas energéticas, uma vez o metabolismo glicolítico anaeróbio é via comum de **todos** os seres vivos (à exceção dos vírus por não terem estrutura celular, sendo considerados por muitos autores como formas intermediárias entre seres vivos e partículas químicas de transmissão de infecções, assim como os **prions**, estes compostos apenas de proteínas).

Há a necessidade de ingestão mínima de cerca de 50 - 100 g de carboidratos por dia para garantir o suprimento de glicose sanguínea (glicemia) que, por sua vez, nutrirá os tecidos, permanecendo a glicemia normal em torno de 70 - 110 mg/dl. A **hipoglicemia** caracteriza-se por vários sinais e sintomas como tonturas, fraqueza muscular, suor frio, irritabilidade, fome, palpitação, dor de cabeça, sonolência, convulsão, podendo atingir o coma e a morte. A **hiperglicemia** quase sempre é um achado patológico laboratorial, sendo difícil a percepção de sinais e sintomas clínico diretos, sendo observada, principalmente, em patologias específicas como o diabetes mellitus, caracterizada pela ausência ou produção insuficiente de insulina (ou de seus receptores celulares).

As principais fontes de carboidratos são os vegetais produtores de amido como reserva energética (p.ex.: milho, mandioca, beterraba, arroz e todos os cereais), seguido dos produtores de sacarose (cana-de-açúcar, beterraba). As frutas contêm grande quantidade de frutose, além de outros carboidratos; o leite e seus derivados, contêm a lactose.

Os alimentos de origem animal (fora o leite e seus derivados) contêm muito pouco teor de carboidratos, reservando-se ao fígado e aos músculos as principais fontes em virtude de serem sede da síntese de glicogênio (polímero de glicose bem mais ramificado que o amido, sintetizado, também por fungos e alguns protozoários). Entretanto, após o abate do animal, as reservas de glicogênio rapidamente se esgotam em virtude da continuidade do metabolismo celular mesmo após a morte fisiológica. Assim sendo, a quantidade de glicogênio presente na alimentação humana é quase inexistente, estando presente, portanto, somente na dieta de animais carnívoros que devoram suas presas imediatamente após o abate.

Os carboidratos podem ser convertidos em gorduras quando há a ingestão de quantidades excessivas às necessidades energéticas podendo levar a patologias associadas ao excesso de alimentação (obesidade, aterosclerose coronária etc.). Uma má-higiene dentária proporciona a utilização dos carboidratos pelos microorganismos presentes na boca o que

aumenta a incidência de cáries dentárias em virtude da destruição da dentina pelo ácido lático ou etanol (produto final do metabolismo anaeróbio de bactérias e fungos). Da mesma forma, uma ingestão aumentada de carboidratos pode proporcionar distúrbios intestinais com as bactérias produzindo grande quantidade de gases, com comprometimentos patológicos diversos.

A carência de carboidratos na alimentação, por sua vez induz ao consumo aumentado das gorduras e proteínas musculares para a produção de energia, características o que é comumente utilizado em dietas de programas de redução de peso corpóreo. Deve-se levar em consideração, entretanto, que a utilização em excesso de lipídios (principalmente) e proteínas para a produção de energia, poderá trazer inconvenientes fisiológicos, com a produção de detritos metabólicos danosos ao organismo quando em grande quantidade, como é o caso dos corpos cetônicos que induzem a queda do pH e da destruição da camada miélica dos neurônios.

Lipídios

A gorduras, como são conhecidas popularmente, são a principal fonte de armazenamento energético, podendo manter alguns tipos de células vivas por vários anos (p.ex.: sementes oleaginosas).

Os lipídios fornecem significativa quantidade de energia (quase o dobro dos carboidratos), porém não é esta a sua função primária na alimentação, uma vez que a absorção intestinal dos lipídios se dá pela linfa e não pela corrente sanguínea como os demais nutrientes. Desta forma, os lipídios energéticos (ácidos graxos na forma de triglicerídeos - Figura 1-5) são captados pelo tecido adiposo lá ficando armazenado até que haja necessidade energética (como no caso de dietas hipoglicídicas ou no paciente diabético o qual não consegue produzir energia através da glicose, uma vez que ela não penetra na célula). Por esta razão, os ácidos graxos não são tão bem aproveitados para o metabolismo energético como a glicose que, apesar de menos calórica, é bem mais rapidamente degradada pelas células.

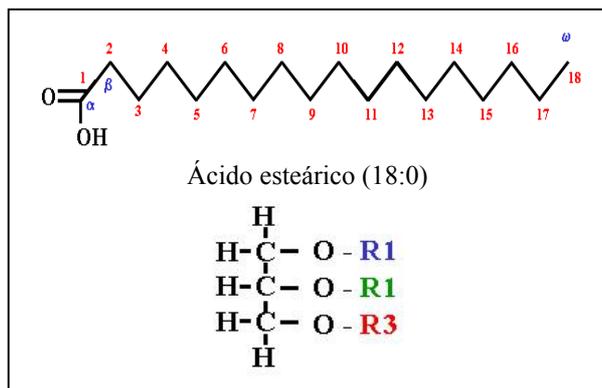


Figura 1-5: Os lipídios energéticos. O ácido esteárico possui 18 carbonos sem nenhuma dupla ligação (saturado); o carbono 1 é denominado alfa (α) e contém o grupamento funcional (COOH); o segundo denomina-se β e o último carbono (18) é denominado ômega-1 (ω), sendo o carbono 17 denominado ω -2, o 16 de ω -3 e assim sucessivamente.

Além de conferir um sabor característico aos alimentos e de proporcionar uma sensação de saciedade, a dieta lipídica veicula as vitaminas lipossolúveis e supre o organismo dos ácidos graxos essenciais poli-insaturados que o ser humano é incapaz de sintetizar, como o ácido linoléico (ω -6); linoléico (ω -6 e 9); aracdônico (20:4).

Os ácidos graxos saturados (presente nas moléculas de triglicerídeos) fornecem energia quando as fontes de carboidratos se esgotam, sendo bem mais calóricos que os insaturados. O excesso da utilização dos lipídios para o metabolismo energético fornece uma quantidade de um composto energético alternativo, os **corpos cetônicos**, que suprem músculos e neurônios na falta de glicose (neurônios só consomem glicose e corpos cetônicos como combustível energético), porém trazem complicações clínicas quando produzidas em excesso (como a degeneração da bainha miélica de proteção dos neurônios e a queda do pH plasmático).

O **colesterol** (Figura 1-6) é encontrado exclusivamente em gorduras animais, sendo a gema do ovo a principal fonte, mas não possui função energética e acumula-se nos vasos sanguíneos quando a ingestão diária supera a quantidade de 1g. Atualmente, o Ministério de Saúde tem proibido a divulgação do rótulo “**não contém colesterol**” que comumente eram colocados em frascos de óleos vegetais,

o que corresponde a uma redundância, uma vez que **nenhum óleo de origem vegetal contém colesterol**, mas leva as pessoas a relacionarem a ausência de colesterol com uma melhor qualidade do óleo, o que não é verdade (a qualidade de um óleo vegetal está em uma maior quantidade de ácidos graxos poli-insaturados, menos calóricos).

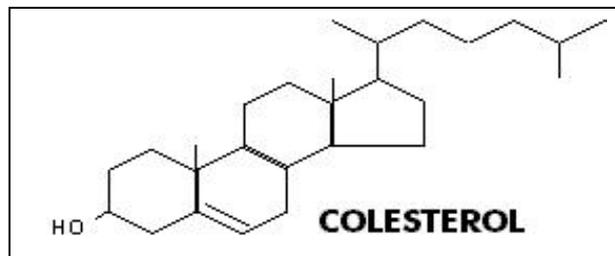


Figura 1-6: A molécula de colesterol está presente exclusivamente em gorduras animais. Quimicamente, é um álcool de cadeia longa, mas que é classificado como lipídio em virtude de sua insolubilidade na água.

O excesso de lipídios da alimentação induz a uma rápida deposição dos triglicerídeos nos adipócitos e a saturação do fígado na degradação do colesterol. A não realização de exercícios físicos para compensar uma ingestão aumentada de lipídios, pode refletir-se em sobrepeso e até a obesidade, principalmente quando a alimentação ocorre em períodos de baixa atividade física (como à noite, antes do sono).

Ácidos Nucléicos

Os ácidos desoxirribonucléico (DNA) (Figura 1-7) e ribonucléico (RNA) são as moléculas informacionais, através das quais são sintetizadas todas as proteínas do organismo. O processo de replicação (síntese do DNA) é realizado de forma extremamente cuidadosa para que não resulte em erros na seqüência de DNA do genoma das células filhas e, conseqüentemente, erros na produção de proteínas, uma vez que durante o ciclo de vida de uma célula, há a síntese de RNAm (mensageiro) a partir de um molde da molécula de DNA. Este processo (transcrição) está intimamente atrelado à síntese de proteínas (tradução), onde o RNAm é processado de maneira tal a se encaixar nos RNA dos ribossomos (RNAr) e favorecer a adição de aminoácidos que chegam transportados pelos RNA transportadores (RNAt).

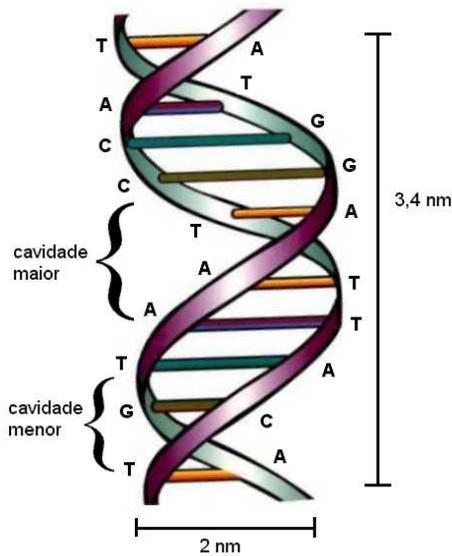


Figura 1-7: A descoberta da estrutura de dupla hélice em espiral da molécula de DNA em 1953 por Watson e Crick, trouxe informações importantíssimas para desvendar o papel dos ácidos nucleicos para o metabolismo de todos os seres vivos.

Tanto o RNAr quanto o RNAt (assim como os RNAm), são sintetizados a partir de uma ou mais seqüências de nucleotídeos de DNA (unidade de polimerização dos ácidos nucleicos, formados por uma pentose, uma base nitrogenada e um grupamento fosfato). Estas seqüências que codificam uma informação (proteínas ou moléculas de RNA) são denominadas de **genes**, as unidades básicas das características genéticas.

O cromossomo é formado por uma única molécula de DNA superenovelada e que possui um tamanho enorme, perto das proporções microscópicas da célula. Se uníssemos todos os 23 pares de cromossomos do ser humano, por exemplo, teríamos uma molécula de cerca de 1,5m (imagine tudo isso enovelado dentro do núcleo celular!). Entretanto, apenas cerca de 95% de todo esse DNA corresponde a genes (regiões codificadoras de informação). A grande maioria do DNA constitui-se de regiões que não codificam nenhuma informação (síntese de proteínas ou RNA), mas possui função de espaçamento entre os genes (possibilitando um enovelamento ordenado do cromossomo) além de conter regiões de controle da expressão gênica e zonas de DNA repetitivo (utilizadas na

identificação individual tal como uma "impressão digital de DNA").

Dentro das seqüências codificadoras dos genes (os **éxons**) existem outras que não codificam absolutamente nada (os **íntrons**), mas que podem possuir funções de regulação da expressão do gene bem como informações que são utilizadas no estudo da evolução molecular que permite relacionar a caracterização de espécies, gêneros e grupos filogenéticos bem definidos, estabelecendo os caminhos evolutivos que as espécies atuais devem ter percorrido, o que faz de seu estudo uma poderosa ferramenta da paleontologia, antropologia ou qualquer ramo da biologia evolutiva.

A tecnologia da manipulação da molécula de DNA (p.ex.: síntese *in vitro*, reações de hibridização) tem sido utilizada com grandes vantagens no diagnóstico de doenças metabólicas de cunho genético e doenças infecciosas (pela identificação de DNA de microorganismos em amostras biológicas). Entretanto, os custos e da mão-de-obra altamente qualificada para sua execução, ainda restringem a maioria das técnicas à laboratórios de pesquisa. Contudo, há um futuro bastante promissor para esta próxima década na popularização dos métodos diagnósticos por biologia molecular.

Vitaminas

Fazem parte de um grupo de biomoléculas não sintetizadas pelo ser humano e que precisam estar presentes em pequeníssimas concentrações na célula para que ocorram várias reações celulares indispensáveis para a vida, (a maioria funcionando como co-fatores enzimáticos), o que garante o elo indispensável entre os animais e vegetais na cadeia alimentar, uma vez que são produzidas por vegetais, bactérias, fungos e animais, tornando-se indispensáveis na alimentação.

Quimicamente, as vitaminas são difíceis de serem classificadas, uma vez que pertencem às mais variadas classes químicas (p.ex.: a vitamina A é um terpeno, a B1 é uma amina, a C um ácido carboxílico). De uma maneira geral, classificamos as vitaminas, quanto às características de solubilidade, como **hidrossolúveis** (B1, B2, B6, B12, C, biotina, ácido fólico, ácido pantotênico) e **lipossolúveis** (A, D, E, e K).

São requeridas na dieta em quantidades mínimas, sendo chamadas de **oligoelementos** (do grego *oligos*= pouco) juntamente com alguns minerais. A maioria delas possui baixa resistência ao calor o que faz com seja necessário ingerir os alimentos que as contêm crus, pois a cocção destruiria as vitaminas (as vitaminas lipossolúveis são as menos termolábeis).

Entretanto, apesar do conceito geral de que vitaminas são indispensáveis na dieta, nem sempre isso é verdade. Algumas não são necessárias na dieta de todos os animais, em virtude de serem sintetizadas no organismo (p.ex.: somente os primatas, alguns roedores e pássaros não sintetizam a vitamina C). Outras são sintetizadas por microrganismos da flora intestinal normal, sendo absorvidas independente da ingestão de fontes alimentícias (Vitamina B12 e K). A vitamina K pode ser obtida pela conversão de um derivado do colesterol após a ação da radiação ultravioleta solar e é considerada por alguns autores mais um hormônio do que uma vitamina.

Outra característica marcante das vitaminas é o fato de que a sua ausência específica na alimentação causa uma doença carencial própria (p.ex.: o escorbuto na carência de vitamina C; o béri-béri na carência de B1). Contudo, esta propriedade não é evidenciada muito facilmente, pois em um estado de desnutrição, há a culminância de várias carências vitamínicas levando a um quadro sintomatológico complexo e não apenas o aparecimento de uma doença carencial específica.

A maioria das vitaminas são cofatores de reações enzimáticas (o que justifica em si sua necessidade em pequena quantidade, já que as reações enzimáticas são recicláveis) e a sua inexistência na célula torna inviável o processo de vida. Interessantemente, a administração de vitaminas em dosagens acima das necessidades diárias são utilizadas na terapêutica para corrigir sintomas que nem sempre tem correlação direta com sua ação biológica (p. ex.: a vitamina B6 é utilizada no tratamento de enjôos). Esta conduta terapêutica só pode ser realizada sob prescrição médica, uma vez que altas dosagens de vitaminas podem ser tóxicas e só são possíveis com a administração de vitaminas na forma de medicamen-

tos (somente a vitamina C pode atingir níveis de hipervitaminose por ingestão das fontes alimentares).

O uso indiscriminado de vitaminas como medicamento por pessoas leigas que acreditam serem "elementos milagrosos e energéticas" é uma preocupação constante dos profissionais de saúde, atualmente, uma vez que trata-se de moléculas altamente especializadas e sua ação tóxica pode trazer a lesões graves para o sistema biológico se não for administrada com perícia e precaução.

Minerais

São compostos de origem inorgânica necessários para uma série de funções bioquímicas importantes como, por exemplo, cofatores de reações enzimáticas (Mg^{++} , K^+), fatores da coagulação (Ca^{++}), regulação do equilíbrio hidro-eletrolítico e ácido básico (Na^+ , K^+ , Cl^-), elementos estruturais (Ca^{++} , P^{3-} , F^-), transporte (Fe^{++}) e muitas outras funções.

As necessidades de minerais para as funções fisiológicas podem ser divididas, arbitrariamente, em dois grupos: os **macrominerais** necessários em quantidades acima de 100 mg/dia (*cálcio, fósforo, sódio, potássio, cloretos, magnésio*) e **microminerais** necessários em quantidades abaixo de 100 mg/dia (*cobalto, iodo, ferro, flúor, crômio*).

De maneira diferente aos demais nutrientes, os minerais possuem um processo de absorção intestinal incompleto, ou seja enquanto todos os carboidratos, lipídios e proteínas ingeridos devem ser absorvidos (senão haverá proliferação bacteriana e, conseqüentemente, distúrbios digestivos) os minerais possuem um limiar próprio para cada um deles (p.ex.: o Na^+ é de cerca de 180 mEq/l) acima do qual não há a passagem do mineral para a veia porta-hepática (que comunica o intestino e o fígado) e o excesso é excretado pelas fezes.

Desta maneira, há um controle digestivo importante da concentração plasmática dos minerais. Contudo, quaisquer distúrbios digestivos (p.ex.: parasitários, inflamatórios, medicamentos) podem alterar a absorção dos minerais levando a sua depleção e também de água, uma vez que haverá distúrbio no balanço hidro-

eletrolítico, levando a diarreias e a consequente desidratação, que muitas vezes é fatal.

A célula: o tubo de ensaio da vida

É a unidade morfo-fisiológica dos seres vivos, possuindo estruturas como as **mitocôndrias** (em todos os seres vivos, com exceção dos procariontes) e **glioxisomas** (vegetais e uns poucos protistas) que são a sede da produção de energia da célula (Figura 1-8).

Nas células das folhas dos vegetais existem os **cloroplastos**, estruturas semelhantes às mitocôndrias responsáveis pela fotossíntese (Figura 1-9). Existe uma semelhança estrutural muito grande entre mitocôndrias e cloroplastos, apesar das funções diametralmente opostas (produção de energia a partir de biomoléculas e captação de energia para a produção de biomoléculas, respectivamente). Acredita-se que tais organelas eram organismos independentes, em um passado evolutivo muito distante, mas que criaram uma relação simbiótica com algumas células primitivas gerando as atuais células vegetais e animais atuais.

De fato, a existência de DNA completamente diferente do núcleo, qualifica essas organelas como candidatas às primeiras estruturas vivas auto-suficientes, no sentido energético, a surgirem na história da vida na Terra.

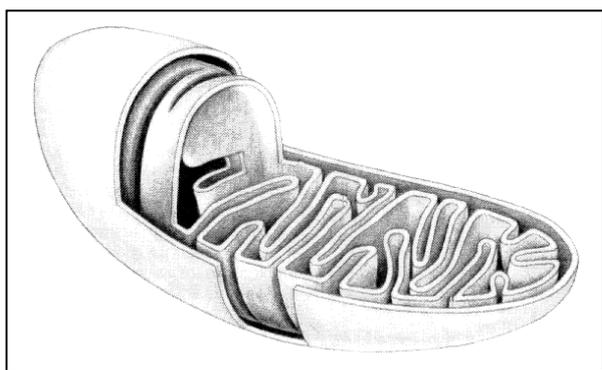


Figura 1-8: A mitocôndria é a sede das reações energéticas em eucariotas.

Os **ribossomos** são formados por RNAr e são a sede da síntese protéica, liberando-as para o **retículo endoplasmático** e, posteriormente, **aparelho de Golgi** onde as proteínas poderão ser liberadas para o uso

celular ou extracelular. Os **peroxisomas** são importantes para desdobrar os radicais livres formados pelo oxigênio evitando assim o envelhecimento e a morte celular. Os **lisossomas**, por sua vez, contêm enzimas hidrolíticas que degradam alimentos ou a própria célula (apoptose = *morte celular programada*) sendo importante para determinar o tempo de vida útil de uma célula.

As células **eucariotas** possuem um **núcleo** organizado que regula as atividades de reprodução e síntese protéicas (através do DNA). A maioria das reações bioquímicas ocorrem no **citossol**, que mantém relação com o meio externo e com as organelas através de um sistema de **membranas** lipídico-protéico, idêntico à membrana plasmática.

Os **procariontes** não possuem sistema de membrana intracelular organizado, não possuindo as organelas que apresentam esta estrutura (p.ex.: núcleo, mitocôndrias). Possuem (assim como os vegetais) uma **parede celular** extremamente resistente formada de polissacarídes.

Compreender os mecanismos que levam à interação das biomoléculas com o sistema celular, seja na síntese, metabolismo ou degradação, é função da Bioquímica. Utilizando-se de conceitos interdisciplinares (Biologia, Histologia, Fisiologia etc.), a Bioquímica procura explicar o funcionamento da célula a partir de um ângulo molecular, possibilitando, inclusive, a manipulação *in vitro* de condições exclusivas das células vivas, podendo recriar o processo da *química da vida* com o advento da *engenharia genética*. Estamos vivendo tempos de mudanças extremamente importantes no pensar científico acerca de questões vitais para a perpetuação de nossa espécie - ameaçada de extinção pela superpopulação e destruição descontrolada do ecossistema. A compreensão dos mecanismos básicos de manutenção da vida no ambiente celular, é indispensável para o profissional da área de saúde e ciências biológicas para que possa se posicionar em assuntos vitais e, inclusive, éticos dentro do exercício de sua profissão.

Na Figura 1-9 representa as principais organelas de uma célula eucariota.

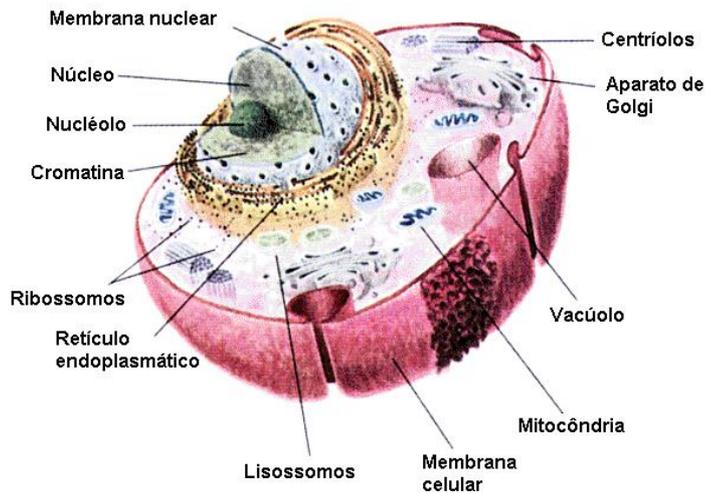


Figura 1-9 - Representação esquemática de uma célula eucariota.

Curiosidades

O estudo da bioquímica já rendeu 63 ganhadores do **Prêmio Nobel de Química e Medicina**, a mais importante premiação científica, instituída desde 1901. Dentre eles, está um dos únicos cientistas que ganhou duas vezes o prêmio Nobel: é Frederick Sanger que em 1958 descobriu a estrutura da insulina e em 1980 desenvolveu técnicas de seqüenciamento de DNA. Linus Pauling também ganhou dois prêmios: em 1954 por seus estudos com ligações químicas de biomoléculas e em 1962 o prêmio Nobel da Paz. Neste seleto clube de ganhadores de mais de um prêmio Nobel consta, ainda, Marie S. Curie em 1911 ganhou o Nobel de Química e em 1903 o de Física.

A seguir, a listagem completa dos ganhadores do Prêmio Nobel de Química e Medicina com estudos bioquímicos.

- 2000 - MEDICINA: Arvid Carlsson, Paul Greengard e Eric R Kandel pelos estudos na transdução de sinais no sistema nervoso.
- 1999 - MEDICINA: Günter Blobel por descobrir que proteínas possuem sinais que regem sua localização e transporte celular.
- 1998 - MEDICINA: Robert F. Furchgott, Louis J. Ignarro e Ferid Umrud pela descoberta da síntese de ácido nítrico no organismo e sua função no sistema cardiovascular.
- 1997 - MEDICINA: Stanley B. Prusiner pela descoberta dos *prions*, novo modelo biológico de infecção de origem protéica.
- 1997 - QUÍMICA: Paul B. Boyer e Jonh E. Walker pela elucidação do mecanismo enzimático da síntese do ATP e Jens C. Skou pela descoberta da enzima responsável pela síntese do ATP.
- 1994 - MEDICINA: Alfred G. Gilman e Martin Rodbell pela descoberta das proteínas-G.
- 1993 - Richard J. Roberts e Phylip A. Sharp pela descoberta de *split-genes*.
- 1993 - QUÍMICA: Kary B. Mullins pela invenção do método da PCR (*Polymerase Chain Reaction* - Reação em Cadeia da Polimerase) para a síntese *in vitro* de DNA e Michael Smith pelo estudo em proteínas mutagênicas.
- 1992 - MEDICINA: Edmond H. Fisher e Edwin G. Krebs pela descoberta da fosforilação reversível de proteínas.
- 1991 - MEDICINA: Erwin Neher e Bert Sakmann pela descoberta das proteínas canais de íons celulares.
- 1989 - QUÍMICA: Sidney Altman e Thomas Cech pela descoberta de RNA com propriedade catalítica.
- 1988 - QUÍMICA: Johann Deisenhofer, Robert Huber e Harmut Chel pela determinação da estrutura tri-dimensional do centro da reação fotossintética.
- 1985 - MEDICINA: Michael S. Brown e Joseph L. Goldstein pela descoberta da regulação do metabolismo do colesterol.
- 1984 - MEDICINA: Niels K. Jerne, Georges J. F. Köhler e César Milstein pela descoberta do controle do sistema imune.
- 1982 - MEDICINA: Sune K. Bergström, Bengt I. Samuelsson e Jonh R. Vane pela descoberta das prostaglandinas.
- 1982 - QUÍMICA: Aaron Klug pelo desenvolvimento de técnicas de microscopia eletrônica por cristalografia para elucidar interações proteínas/ácidos nucléicos.
- 1980 - QUÍMICA: Paul Berg pelos estudos de DNA recombinante e Walter Gilbert e Frederik Sanger por seus estudos de seqüenciamento de DNA.
- 1978 - MEDICINA: Werner Arber, Daniel Nathans e Hamilton O. Smith pela descoberta das enzimas de restrição.
- 1978 - QUÍMICA: Peter D. Mitchel pela formulação da teoria quimiosmótica para a síntese do ATP.
- 1977 - Roger Guillemin, Andrew V. Schally e Rosalyn Yalow pela descoberta da produção de hormônios peptídeos cerebrais.
- 1975 - QUÍMICA: Jonh Warcup Conforth e Vladimir Prelog pelo estudo da estereoquímica de reações enzimáticas.
- 1972 - MEDICINA: Gerald M. Edelman e Rodney R. Porter pela descoberta da estrutura protéica dos anticorpos.
- 1972 - QUÍMICA: Christian B. Anfinsen, Stanford Moore e William H. Stein pelos estudos na enzima ribonuclease.
- 1971 - MEDICINA: Earl W. Jr. Sutherland pela descoberta do mecanismo de ação dos hormônios.
- 1971 - QUÍMICA: Gerhard Herzberg pelo estudo da estrutura eletrônica e geométrica dos radicais livres.
- 1970 - QUÍMICA: Luis F. Leloir por estudos na biossíntese de carboidratos
- 1968 - MEDICINA: Robert W. Holley, Har Gobind Khorana e Marshall W. Nirenberg pela interpretação do código genético e a síntese protéica.
- 1964 - QUÍMICA: Dorothy Crowfoot Hodgkin pela criação de técnicas de Raios-X para estabelecer a estrutura de compostos bioquímicos.
- 1964 - MEDICINA: Konrad Bloch e Feodor Lynen pela descoberta do mecanismo e regulação do metabolismo do colesterol e ácidos graxos.
- 1962 - MEDICINA: Francis Harry Compton Crick, James Dewey Watson e Maurice Hugh Frederick Wilks pela descoberta da estrutura do DNA.
- 1962 - QUÍMICA: Max Ferdinand Perutz e John Cowdery Kendrew pelo estudo da estrutura de proteínas globulares.
- 1961 - QUÍMICA: Melvin Calvin pelo esclarecimento da fotossíntese.
- 1958 - QUÍMICA: Frederick Sanger pela determinação da estrutura da insulina
- 1959 - MEDICINA: Severo Ochoa e Arthur Kornberg pela descoberta da biossíntese de DNA e RNA.
- 1957 - QUÍMICA: Alexander R. Todd pelo trabalho com nucleotídeos e co-enzimas.
- 1955 - MEDICINA: Axel Hugo Theodor Theorell pela descoberta da natureza oxidativa de enzimas.
- 1955 - QUÍMICA: Vincent Du Vigneaud pela síntese de hormônios polipeptídeos.
- 1953 - MEDICINA: Hans Adolf Krebs e Fritz Albert Lipmann pela descoberta do ciclo do ácido cítrico e do papel da coenzima-A.

- 1954 - QUÍMICA: Linus Carl Pauling pelo estudo nas ligações químicas de biomoléculas.
- 1950 - MEDICINA: Edward Calvin Kendal, Tadeus Reichstein e Philip Showalter pela descoberta dos hormônios da córtex adrenal.
- 1943 - MEDICINA: Henrik Carl Dam e Edward Adelbert Doisy pela descoberta da Vitamina K.
- 1948 - QUÍMICA: Arne Wilhelm Kaurin Tiselius pela pesquisa em eletroforese de proteínas plasmáticas.
- 1947 - QUÍMICA: Robert Robinson pelo estudo de bioquímica vegetal.
- 1947 - MEDICINA: Carls Ferdinand Cori, Gerty Theresa Cori e Bernardo Alberto Houssay pela pesquisa no metabolismo do glicogênio e da glicose.
- 1946 - QUÍMICA: James Batcheller Sumner, Jonh Howard Northrop e Wendell Meredith Stanley pelos estudos em enzimas.
- 1939 - QUÍMICA: Adolf Friedrich Johann Buternandt pelo estudo dos hormônios sexuais e Leopold Ruzicka pelo estudo de terpenos e polimetilenos.
- 1938 - QUÍMICA: Richard Khun pela pesquisa com carotenóides e vitaminas.
- 1937 - MEDICINA: Albert Szent-Györgyi Von Nagyrapolot pela descoberta do metabolismo energético celular.
- 1936 - MEDICINA: Hallert Dale e Otto Loewi pela descoberta da transmissão química do impulso nervoso.
- 1937 - QUÍMICA: Walter Norman Haworth e Paul Karrern pelo trabalho com carboidratos, carotenóides, vitaminas A, B2 e C.
- 1931 - MEDICINA: Otto Heinrich Warburg pela descoberta da natureza da ação das enzimas respiratórias.
- 1930 - QUÍMICA: Hans Fisher pela pesquisa dos grupamentos metálicos da hemoglobina e clorofila.
- 1929 - QUÍMICA: Arthur Harden, Hans Karl August Von Euler-Chelpin pelo estudo das enzimas fermentadoras de açúcar.
- 1929 - MEDICINA: Christiaan Eijkman e Frederick Gowland Hopkins pelo estudo com vitaminas.
- 1928 - QUÍMICA: Adolf Otto Reinhold Windaus pelo estudo de vitaminas.
- 1927 QUÍMICA: Heinrich Otto Wieland pelo estudo da constituição dos ácidos biliares.
- 1923 - MEDICINA: Frederick Grant e John James Richard Macleod pela descoberta da insulina.
- 1922 - MEDICINA: Archibald Vivian Hill e Otto Fritz Meyerhof por estudos do metabolismo muscular
- 1915 - QUÍMICA: Richard Martin Willstätter pela pesquisa com clorofila.
- 1910 - MEDICINA: Albrecht Kossel por seu trabalho em bioquímica celular com proteínas e substâncias nucleicas.
- 1907 QUÍMICA: Eduard Buchner pela descoberta da fermentação celular.
- 1902 - QUÍMICA: Hermann Emil Fisher pela pesquisa em síntese de carboidratos e purinas.
- 1901 - QUÍMICA: Jacobus Henricus Van't Hoff pela lei de pressão osmótica.

Para testar seus conhecimentos

1. O que estuda a Bioquímica?
2. Qual a composição química dos seres vivos? Que são biomoléculas?
3. Quais as funções das biomoléculas?
4. Quantos aminoácidos são *verdadeiramente essenciais* e *não-essenciais*? Justifique sua resposta.
5. Qual o destino dos aminoácidos no metabolismo hepático?
6. Organize um quadro com as formas de excreção do nitrogênio protéico nas diversas classes de animais.
7. Comente sobre a importância da lactose como fonte de energia em mamíferos?
8. O que é hiper e hipoglicemia?
9. Porque há redução do peso corpóreo quando restringe-se o consumo de carboidrato?
10. Porque um paciente diabético assemelha-se a um paciente em jejum prolongado, no que diz respeito ao metabolismo energético?
11. Quais dos ganhadores (ou seus trabalhos) do Prêmio Nobel de Química e Medicina que trabalharam com modelos bioquímicos, você já tinha ouvido falar? Qual a molécula que mais prêmios deu a seus pesquisadores?

Para navegar na Internet

HomePage do Prof. Ricardo Vieira:

<http://www.fundamentosdebioquimica.hpg.com.br>

The World Wide Web Virtual Library: Biosciences:

<http://golgi.harvard.edu/biopages/all.html>

Revista Brasileira de Análises Clínicas:

<http://www.terravista.pt/aguualto/1207/boyle.html>

AllChemistry Web- Química e Ciências afins:

<http://allchemistry.iq.usp.br/>

The Nobel Prize Oficial Site:

<http://www.nobel.se/>

A Brief History of Biochemistry:

<http://www.wvc.edu/academics/departments/chemistry/courses/chem431/lectures/introlect.html>

Biomania:

<http://www.biomania.com.br/mapasite/map.htm>

Biochemistry On-Line:

<http://www.biochemist.com/home.htm>

Bioquímica y Biología Molecular en la Red:

<http://www.yi.com/home/PerdigueroEusebio/bioquimica.html>

Science: <http://intl.sciencemag.org/>

Nature: <http://www.nature.com/>

Capítulo 2

Bioquímica dos Alimentos

A evolução das espécies sempre se apoiou em novas maneiras de se obter energia das mais variadas fontes para assim melhor aproveitar as matérias primas que a natureza oferece aos seres vivos. Seres mais sofisticados na forma de obter energia, têm-se mostrado superiores nesta escala evolutiva e seus descendentes impõem-se na pirâmide evolutiva.

Um grupo numeroso de seres vivos especializou-se em captar a energia luminosa e convertê-la em energia química para sintetizar algumas moléculas energéticas: são os **autótrofos**. As matérias-primas bases para essa síntese de alimentos eram compostos abundantes na atmosfera primitiva, como o gás carbônico (CO_2), amônia (NH_3), água (H_2O). Com a ajuda de energia proveniente das radiações luminosas do sol, por **fotossíntese**, começou-se a acumular um composto até então escasso na atmosfera: o **oxigênio** (O_2) que era expelido pelos organismos fotossintéticos como dejeito metabólico.

Acontece que os compostos alimentares são sintetizados em tamanha quantidade que esses seres se viram obrigados a armazenar parte de dele e excretar o excesso junto com oxigênio (sem dúvida, um “lixo de luxo” deste processo metabólico). Entretanto, o aparecimento de oxigênio livre na atmosfera demorou cerca de um bilhão de anos desde o aparecimento dos primeiros organismos fotossintéticos, as cianobactérias, como pode observar nos registros geológicos.

Somente após esse longo período outro grupo de seres vivos, especializou-se em obter a energia necessária para suas reações orgânicas alimentando-se dos nutrientes produzidos pelos organismos autótrofos e o O_2 da atmosfera: são os **heterótrofos**. As formas primitivas eram, entretanto, unicelulares, sendo necessário mais um bilhão de anos para a organização em seres multicelulares mais complexos (Figura 2-1).

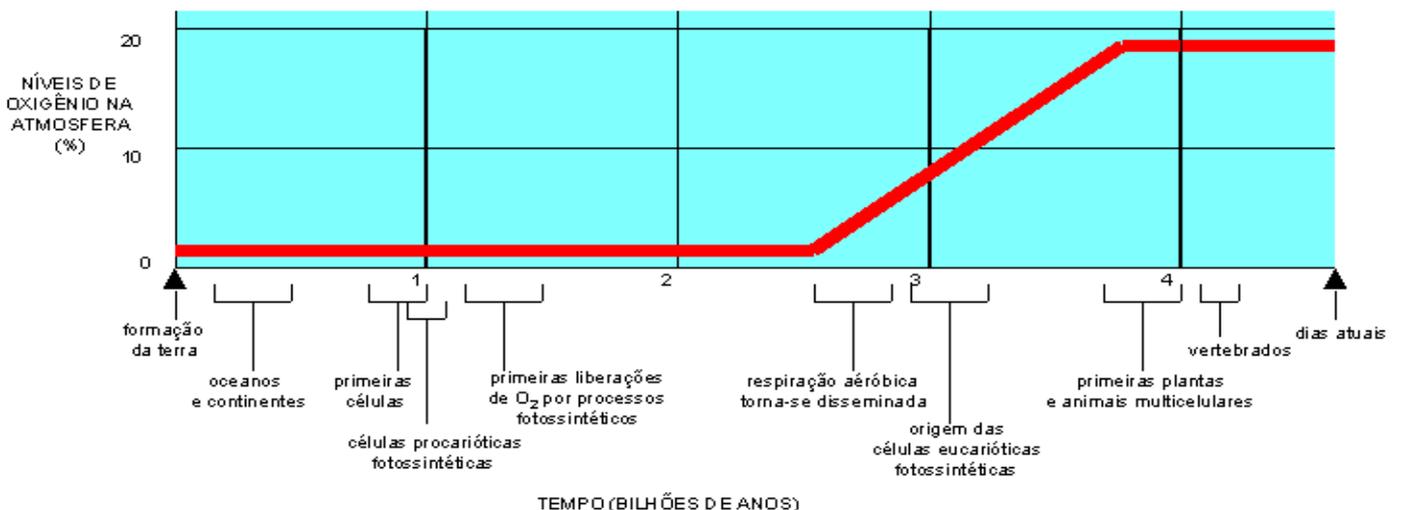


Figura 2-1 - A idade da terra é estimada em cerca de 4,5 bilhões de anos, sendo proposto que por volta do primeiro bilhão tenha surgido as primeiras células fotossintéticas autótrofas. No entanto, o O_2 atmosférico necessário para o surgimento dos autótrofos só torna-se disponível cerca de 2 bilhões de anos depois, devido à absorção do oxigênio produzido pelo ferro da superfície da terra, fato comprovado pela existência de enormes depósitos de óxido de ferro nos sedimentos mais antigos do planeta. Os seres multicelulares demoraram cerca de 3 bilhões para surgirem, o que mostra a dificuldade da organização celular parcialmente possibilitada pelo metabolismo aeróbio. (Adaptado de *Biologia Molecular da Célula* - Albert B. et al., p.16, 1997.)

Desta forma, começa-se a desenhar a complexa rede de relacionamento ecológico entre **produtores** e **consumidores**, havendo total harmonia entre eles, uma vez que os compostos nitrogenados produtos da degradação dos heterótrofos eliminados para o meio (amônia, uréia, nitritos, nitratos) juntamente com o CO_2 produto das oxidações biológicas, passam a ser a principal fonte de matéria-prima para a fotossíntese.

Uma série de organismos especializou-se em reciclar os dejetos metabólicos desses organismos (p.ex.: fezes e urina), assim como os seus corpos após a sua morte: os **decompositores**)

Forma-se, então, um elo importante entre os seres vivos, construindo a complexa teia alimentar que faz com que a Terra funcione como um gigantesco ser vivo e prossiga, lentamente, seus passos evolutivos.

O relacionamento entre consumidores e produtores está ligado à disponibilização de carbono e oxigênio para os processos metabólicos, enquanto que os decompositores fornecem, principalmente, o nitrogênio reciclado dos tecidos mortos e dejetos, apesar de o ciclo dos nitrogênio, carbono e oxigênio ser comum para todos os seres vivos, de certa forma (Figura 2-2).

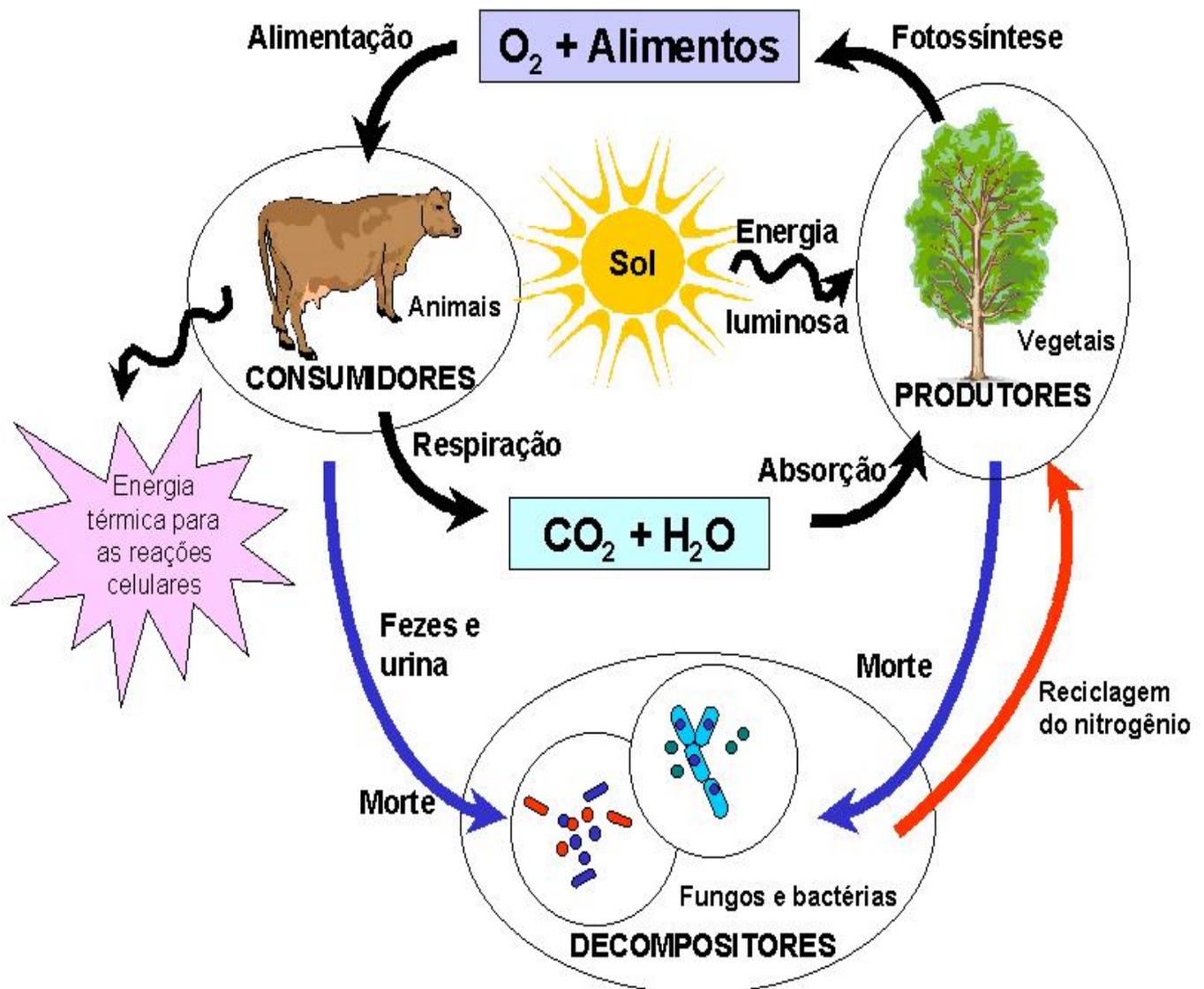


Figura 2-2: O ciclo do carbono entre produtores (vegetal), consumidores (animal) e decompositores (fungos e bactérias). Consumidores e produtores trocam entre si, principalmente, carbono e oxigênio enquanto que os decompositores reciclam o nitrogênio.

O ser humano, objeto de nosso estudo, posiciona-se no topo desta teia alimentar, chegando a mudar o ecossistema em prol de sua sobrevivência, na procura da matéria-prima para suas reações metabólicas. A despeito da discussão ecológica, o conhecimento da estrutura e funcionamento do corpo humano é necessário para poder adaptar-se melhor às adversidades impostas pela evolução e, como tem feito, impor sua soberania entre as espécies, sob o preço, infelizmente, da devastação do ambiente e a extinção de várias espécies.

Desta forma, o ato de obter substratos para as reações orgânicas básicas que ocorrem no interior das células do organismo, em suma, constitui o ato da alimentação. Basicamente, os nutrientes de origem alimentar são fornecidos pelos **carboidratos** (açúcares), **lipídios** (gorduras) e **proteínas** e possuem função primordial a produção de energia celular. Entretanto, essa concepção, puramente energética, pode cometer alguns equívocos uma vez que muitas outras moléculas são requeridas para o funcionamento celular ou mesmo para proporcionar a absorção adequada dos nutrientes e não estão envolvidas diretamente no processo de produção de energia.

Assim sendo **água**, **eletrólitos** e **vitaminas**, que não possuem uma função energética direta, são alimentos indispensáveis para o ser humano; precisam estar presentes na dieta para suprir as necessidades diárias do organismo nas reações orgânicas uma vez que não são sintetizados pelo organismo (a água produzida nas reações orgânicas supre apenas cerca de 5% das necessidades diárias do ser humano).

De maneira semelhante, as **fibras vegetais**, que não possuem digestão intestinal não sendo absorvidas, são indispensáveis na alimentação por manter a forma do bolo fecal, facilitando a absorção dos demais alimentos. Somente algumas bactérias e protozoários, presentes no sistema digestivo de ruminantes e cupins, conseguem digerir as fibras vegetais (feitas, principalmente, de celulose) sendo, nestes animais, a principal fonte energética.

O conceito clássico de alimento varia de acordo com o ponto de vista, como, por exemplo: *“A matéria prima para a fabricação dos materiais de renovação do organismo”*

(Vioult & Juliet); *“Substâncias, em geral naturais e complexas, que associadas às de outros alimentos em proporções convenientes, são capazes de assegurar o ciclo regular da vida de um indivíduo e persistência da espécie a qual ele pertence”* (Randon & Simonnet); *“As matérias, qualquer que seja a natureza, que servem habitualmente ou podem servir à nutrição”* (Littré); *“Substâncias necessárias à manutenção dos fenômenos do organismo sadio e à reparação de partes que se faz constantemente”* (Claude Bernard); *“Substância que, incorporada ou não ao organismo, nele exerce função de nutrição”* (Escudero).

Entretanto, o termo alimento possui significado bastante complexo que ultrapassa os limites da bioquímica devendo ser estudado com um caráter multidisciplinar, uma vez que envolve a química, biologia, agronomia, veterinária, nutrição, além das ciências da saúde. Desta forma, a abordagem a ser realizada neste capítulo, diz respeito ao estudo da composição química dos alimentos e da forma como é apresentado para o metabolismo humano. Dentro deste ponto de vista, a digestão dos alimentos será abordada neste capítulo por se tratar de uma fase fisiológica adaptada às propriedades dos alimentos. Nos capítulos correspondentes aos estudos de cada biomolécula, serão abordadas peculiaridades de cada processo digestivo de interesse para o metabolismo da biomolécula em questão.

Classificação dos alimentos

Do ponto de vista biológico, os alimentos se agrupam em três classes:

a) **Energéticos:** são os que fornecem substratos para a manutenção da temperatura corpórea, liberando energia térmica necessária para as reações bioquímicas. São os carboidratos, lipídios e proteínas. Os carboidratos são os alimentos energéticos por excelência, pois são diretamente produzidos na fotossíntese dos autótrofos e degradados em todos os organismos vivos, sem exceção, a partir de enzimas específicas. Os lipídios e as proteínas, apesar de possuírem poder energético superior ou igual aos carboidratos (Tabela 2-1), têm funções outras no organismo, possuindo digestão e absorção len-

tas, sendo utilizados secundariamente como produtores de energia.

Tabela 2-1: Calor de combustão e energia disponíveis nas fontes de alimentos mais importantes.

	Calor de Combustão <i>in vitro</i> (bomba calorimétrica) em kcal/g	Oxidação humana (<i>in vivo</i>) em kcal/g
Proteínas	5,4	4,1 ^(*)
Lipídios	9,3	9,3
Carboidratos	4,1	4,1
Etanol	7,1	7,1

(*) Oxidação das proteínas corrigidas pela perda dos aminoácidos excretados na urina.

Fonte: Harper, 1994, p. 608.

A capacidade energética dos alimentos dá-se devido ao alto calor de combustão das ligações C-C (cerca de 54 kcal). No capítulo 3 sobre Bioenergética, serão abordados temas relativos ao poder calórico das biomoléculas.

b) Plásticos ou estruturais: atuam no crescimento, desenvolvimento e reparação de tecidos lesados, mantendo a forma ou protegendo o corpo. Novamente, proteínas, lipídios e carboidratos são os principais representantes, estando presentes na membrana celular e região intersticial. Em vegetais, o carboidrato **celulose** (um polímero de glicose) representa o principal composto da parede celular que garante a forma da célula vegetal, mesmo em períodos de excesso ou escassez de água. O depósito cumulativo de celulose em algumas árvores apresenta resistência comparada aos metais resistentes como o ferro. A **quitina** é um polímero muitíssimo parecido com a celulose (a exceção de um grupamento -OH substituído por um NH₂ no C2) e que confere extrema resistência ao exoesqueleto dos artrópodes. A água e os sais minerais representam os componentes da alimentação que não são exclusivos de organismos vivos, mais possuem funções estruturais importantíssimas.

c) Reguladores: aceleram os processos orgânicos, sendo indispensáveis ao ser humano. São as vitaminas, água, sais minerais e fibras vegetais. Favorecem a dinâmica celular como catalisadores (vitaminas) ou propor-

cionando a concentração exata dos substratos (água), bem como agentes estabilizadores de várias enzimas ou mesmo regulando a quantidade de água intracelular ou a excitabilidade da membrana (minerais). Apesar de não serem digeridas ou absorvidas, as fibras vegetais desempenham função importante no processo digestivo, como será visto ainda neste capítulo.

Necessidade de alimentos

O organismo requer nutrientes suficientes para proporcionar energia livre correspondente às necessidades diárias. A manutenção do peso corporal constante é o melhor indicador de que existe energia suficiente na dieta e cada grupo alimentar fornece energia própria à sua composição química, com as necessidades individuais de energia dependendo de vários fatores próprios do alimento e outros fatores inerentes de quem se alimenta.

A ingestão dos nutrientes deve ser feita de forma balanceada de modo a permitir a absorção sem carências ou excessos, pois caso isso não seja observado, sobrevêm a desnutrição e a obesidade, respectivamente, que são distúrbios patológicos oriundos da alimentação inadequada seja qualitativa ou quantitativamente.

A **desnutrição** constitui-se um grave distúrbio alimentício inerente a ingestão de quantidades insuficientes para manter o metabolismo basal. As substâncias de reserva são rapidamente esgotadas e os subprodutos metabólicos acarretam vários distúrbios que podem deixar seqüelas graves, apesar de, na maioria dos casos, o restabelecimento da dieta normal, promove a volta às condições de normalidade metabólica do indivíduo.

São comuns doenças nutricionais em crianças (principalmente por um fator social, típico de países do terceiro mundo) e em adultos em processo de emagrecimento espontâneo realizado por meio de dietas que levam em consideração simplesmente a privação da alimentação calórica.

Na ocorrência de desnutrição calórica associada a carência de proteínas, estabelecem-se as síndromes de má-nutrição conhecidas como **kwashiakor** e **marasmo**.

O **kwashiakor** é caracterizado por edema (devido a baixa quantidade de proteínas no sangue o que leva à retenção de água nos tecidos), lesões na pele, despigmentação do cabelo, anorexia, hepatomegalia. É consequência ingestão inadequada de proteínas, mesmo com quantidade suficiente de calorias. O **marasmo** caracteriza-se pela ausência de edema, para no crescimento e perda muscular extrema e é resultante de uma deficiência calórica prolongada com uma alimentação protéica adequada. Frequentemente, uma síndrome desnutricional resultante da combinação dessas duas doenças leva o indivíduo à morte.

A **obesidade**, por outro lado, corresponde a uma doença dos maus hábitos alimentares, onde o excesso de lipídios e carboidratos (que se convertem em lipídios no fígado, como veremos em capítulos posteriores) leva a um acúmulo de lipídios nos adipócitos acima dos níveis normais de massa corpórea para o indivíduo. Este acúmulo promove a duplicação do número de adipócitos favorecendo o aumento da massa corpórea além nos limites normais para o indivíduo. Isso se dá devido ao tipo de tecido adiposo existente nas primeiras fases da vida, o tecido adiposo **multilocular** ou vermelho, que desaparece rapidamente podendo permanecer, entretanto, até a adolescência.

Já no início da maturação sexual, entretanto, há somente o tecido adiposo do tipo **unilocular** ou amarelo, que não mais se duplica, mas aumenta de tamanho até 100 vezes levando a um aumento no volume do tecido adiposo sem, no entanto, o aumento no número de células.

Um fato interessante é observado quando um pré-adolescente obeso é submetido a dieta hipocalórica e perde uma quantidade significativa de massa corporal em um curto período. Nestes casos, é observado o esvaziamento progressivo das reservas de lipídios dos adipócitos, sendo este estímulo desencadeante do processo de divisão celular o que faz com que haja um número maior de adipócitos após o término da dieta, apesar de conterem menos lipídios do que anteriormente. Entretanto, esse número duplicado de adipócitos permite uma maior absorção de lipídios quando o indivíduo retorna às condições alimentícias normais anterior à dieta, fazendo com que aumente a

massa corporal mais rapidamente do que o tempo que levou para perdê-la, e em quantidade, frequentemente, superior àquela observada antes da dieta.

Em adultos, o aumento da massa gordurosa se dá pelo aumento do volume dos adipócitos, o que torna o esvaziamento brusco, no caso das dietas exageradas, um fator de flacidez para o tecido adiposo que fica propício a ser repostado em seu volume quando termina a dieta.

Desta forma, para o controle da obesidade (exceto para as formas geneticamente determinadas) o controle da massa corporal só é possível por um programa de reeducação alimentar aliado a incorporação de hábitos de atividades físicas para “queimar” o excesso de alimentos calóricos ingeridos diariamente.

Na figura 3-1 está apresentada a fórmula de cálculo do índice de massa corporal (IMC) e as faixas de limite inferior e superior do peso ideal para um indivíduo, levando em consideração sua altura e peso.

$$\text{IMC} = \frac{\text{peso (kg)}}{[\text{altura (m)}]^2}$$

$\leq 18,5 = \text{subpeso}$ $18,5 - 24,9 = \text{normal}$
 $25 - 29,9 = \text{sobrepeso}$ $>30,0 - 39,9 = \text{obeso}$
 $\geq 40 = \text{obeso grave (obesidade mórbida)}$

Limite inferior de peso: $20 \times [\text{altura (m)}]^2$
Limite superior de peso: $25 \times [\text{altura (m)}]^2$

Figura 2-3 - Fórmula de cálculo de índice de massa corpórea (IMC) e limites de peso a partir do peso e altura de um indivíduo.

(Fonte: *software* Biobrás para consultas médicas - <http://www.biobras.com.br>)

Alguns tipos de **câncer** estão intimamente relacionados com o tipo de dieta, como o câncer de esôfago, estômago, intestino grosso, mama, pulmão e próstata. Aparecem, geralmente, entre os 70 e 80 anos sendo que 15% têm sobrevida de 5 anos.

Outros fatores ambientais e genéticos influenciam na gênese desses tipos de câncer, porém é observado que em países onde a incidência de um tipo de câncer é baixa observa-se que os imigrantes para países onde a incidência do câncer é alta, passam a ter um aumento na incidência da doença, o que sugere a rela-

ção do surgimento da doença com fatores culturais do país, como é o caso dos tipos de alimentação.

A **cárie dentária** é um exemplo típico de doença causada pelo acúmulo de alimentos na cavidade bucal, nos espaços interdentários, que possibilita às bactérias e fungos da flora oral e àquelas presente na alimentação, proliferarem e produzir produtos abrasivos (p.ex.: ácido láctico, etanol, aminas) que destroem progressivamente a dentina dando origem à cárie. As proteínas são utilizadas pelas bactérias para produzir uma matriz viscosa que se fixa aos dentes (placa bacteriana) que permite a proliferação de microorganismos para a produção dos produtos abrasivos.

Muitas outras doenças estão relacionadas a distúrbios alimentares, dentre elas destacam-se:

- **Úlceras:** relacionada com fatores alimentares, genéticos e psicológicos.
- **Obstrução pilórica:** por contração de uma úlcera, processo tumoral ou anomalia congênita e é caracterizada por vômitos, distensão abdominal e acidose metabólica por perda de ácido clorídrico;
- **Síndrome de Zollinger-Ellison:** úlcera péptica causada por um tumor pancreático;
- **Anorexia:** distúrbio nervoso que induz a fobia de ganhar peso.
- **Bulimia:** relacionada com compulsão para comer forçando o paciente a estimular o vômito para poder comer mais.
- **Anemia perniciosa:** acloridria e atrofia gástrica promovem a incapacidade de secretar o fator intrínseco de absorção da vitamina B12, fato comum em indivíduos anorexígenos.
- **Síndromes de má-absorção:** devido a lesões na mucosa gastrointestinal que pode ser causada por microorganismos presentes nos alimentos;
- **Esteatorréia:** falha na digestão ou absorção dos lipídios;
- **Diarréia:** produção excessiva de matéria fecal por excesso de água nas fezes.

Balanceamento de alimentos

Para manter o equilíbrio do peso corpóreo, uma dieta balanceada deve conter alimentos de origem animal e vegetal composta dos vários tipos de biomoléculas, disposto de forma balanceada para suprir as necessidades energéticas do indivíduo.

Os carboidratos e lipídios são primariamente calóricos, devendo ser distribuído com parcimônia na alimentação. As proteínas possuem **alto valor biológico** quando possuem grande variedade de aminoácidos. As vitaminas e minerais são requisitadas em pequenas quantidades diárias. A água tem um volume diário de acordo com a perda por evaporação, urina e fezes. Os alimentos disponíveis para o ser humano são agrupados, de forma didática, em cinco grupos:

- **Grupo I - Leite e derivados:** ricos em proteínas de alto valor biológico, grande quantidade de cálcio, vitaminas A, D, E e do complexo B.
- **Grupo II - Carnes, ovos, peixes e mariscos** - ricos em proteínas de alto valor biológico, ferro, vitamina A e do complexo B.
- **Grupo III- Gorduras e óleos.**
- **Grupo IV - Cereais e derivados, legumes secos e produtos açucarados :** ricos em carboidratos de carbono, proteínas de origem vegetal (baixo valor biológico), ferro, vitamina B1 e fibras.
- **Grupo V - Hortaliças e frutos:** ricos em vitaminas, minerais e fibras, com quantidades variáveis de carboidratos.

Para distribuir os vários grupos de alimentos dentre as refeições diárias, pode-se estabelecer porções correspondentes a uma xícara de chá (cerca de 200 ml).

- **Grupo I:** 2 a 3 porções
- **Grupo II:** 1 a 2 porções
- **Grupo III:** 2 a 3 porções
- **Grupo IV:** 5 a 7 porções
- **Grupo V:** 5 a 7 porções

A orientação nutricional, entretanto, depende de avaliação clínica de doenças que podem ter complicações com a alimentação de certos grupos de alimentos (p.ex.: hipercolesterolemia, diabetes mellitus).

Necessidades calóricas

A energia gasta por um indivíduo depende, principalmente dos seguintes fatores:

- a) Taxa basal metabólica:** é a quantidade de energia necessária para a manutenção das funções fisiológicas básicas sob condições padronizadas. Para se estabelecer os valores basais, o indivíduo deve estar em repouso, acordado, num ambiente de temperatura adequada e as medidas devem ser feitas pelo menos 12 horas após a última refeição. Esta taxa é proporcional ao peso corpóreo e à área corporal (quanto maior a área corporal, maior a perda de calor); nos homens e nos jovens é maior que nas mulheres e idosos em virtude de suas atividades metabólicas serem diferentes (há uma diminuição média de 2% na taxa basal metabólica por cada 10 anos de vida, com o tecido muscular substituído por gordura e água). Outras atividades metabólicas indicam gasto de energia aumentado, como o caso de atividade mental e doenças (principalmente com febre).
- b) Efeito termogênico:** os alimentos possuem uma taxa de, aproximadamente, 5 a 10% de energia total fornecida que é gasta para ser digerida, o que vai variar de alimento para alimento, dependendo de sua digestibilidade. Desta forma, uma determinada quantidade de um alimento pode ter um rendimento energético final menor do que a mesma quantidade de um outro alimento que possua uma digestibilidade melhor. Outro fator que influencia neste poder termogênico é o metabolismo da biomolécula, o que faz com que uma alimentação supercalórica seja convertida em massa gordurosa que se deposita nos adipócitos e não é, verdadeiramente, convertida em energia, a menos que o indivíduo realize exercícios físicos além de sua quantidade normal.
- c) Atividade física:** é a maior variável, quanto maior a atividade física, maior será a energia gasta pelo indivíduo.
- d) Temperatura ambiente:** quanto a temperatura está abaixo da temperatura corporal,

aumenta-se o gasto energético para que o organismo mantenha-se em temperatura estável (35 - 37°C) o mesmo acontecendo quando a temperatura ambiente está acima da temperatura corporal, sendo que o ser humano resiste bem mais a variações de temperatura para menos do que para mais, uma vez que o calor passa a ser quase insuportável a partir de 35°C em virtude de as trocas calóricas com o meio ambiente se tornarem mais difíceis. Entretanto, há registro de seres humanos que resistem a invernos com temperaturas de até -50°C, o que é compreensível pela existência de moléculas energéticas disponíveis para mantê-lo aquecido, além de aparatos de proteção, é claro.

As atividades metabólicas diárias variam de acordo com a atividade física exercida pelo indivíduo e seu IMC, tendo, portanto, cada indivíduo uma necessidade calórica diferente. Na Tabela 2-2 podem ser observados valores gerais propostos pela Sociedade Europeia de Cardiologia de acordo com o tipo de atividade física diária.

Tabela 2-2: Necessidades calóricas diárias, de acordo com o tipo de atividade física.

ATIVIDADE FÍSICA	NECESSIDADES CALÓRICAS DIÁRIAS
Sedentária/Repouso	30 kcal /Kg de peso desejável (*)
Ligeira/moderada	35 kcal /Kg de peso desejável
Intensa	45-55 kcal /Kg de peso desejável

(*) Peso desejável de acordo com o índice de massa corpórea (IMC).

Fonte: Sociedade Europeia de Cardiologia.

As necessidades de atletas ou de pessoas que praticam atividade física intensa variam grandemente de acordo com o tipo de atividade física (Tabela 2-3). Caso não se observe o nível de energia gasta, o indivíduo corre o risco de perder peso ou ter hipotrofia muscular. Tais atividades físicas, contudo, são amplamente utilizadas em programa de perda de peso associados à dieta correspondente ao peso ideal do indivíduo. Deve-se ter o cuidado de observar o progresso da perda de peso e dosar os exercícios e dieta quando atingido o peso ideal.

Tabela 2-3: Consumo aproximado de energia (em kilocalorias) em cerca de uma hora de atividade esportiva.

Atividade Esportiva	Energia Gasta (kcal/hora)
Bicicleta ergométrica	250
Passeio de bicicleta	290
Caminhada	300
Tênis de mesa	300
Ginástica aeróbica	350
Ciclismo	490
Tênis	500
Voleibol	500
Halterofilismo	500
Handebol	520
Balé	550
Basquetebol	600
Remo	600
Futebol	650
Natação	650
Judô	800
Boxe	800
Corrida de 12 km	900

Fonte: Sociedade Européia de Cardiologia.

Na Tabela 2-4, pode-se observar que as necessidades energéticas variam dentre os sexos. Assim como as mulheres grávidas, as crianças lactentes possuem uma necessidade calórica maiores que os adultos levando-se em consideração as relações de IMC, bem como as necessidades diárias de proteínas variam de cerca de 0,8g/kg de peso corporal/dia em adultos e 2,0g em crianças.

Tabela 2-4: Necessidades calóricas diárias recomendadas para homens e mulheres.

Categoria	Idade (anos)	Peso (Kg)	Energia necessária (kcal)
Homens	23 - 50	70	2.300 - 3.100
Mulheres	23 - 50	55	1.600 - 2.400
Grávidas	-	-	+ 300
Lactentes	-	-	+ 500

Fonte: Harper, 1994, p.608

Observe que a quantidade de energia de um homem adulto de peso e alturas médias, pode atingir cerca de 3.100 kcal, o que corresponde a um aporte energético enorme. Para efeito de comparação, a queima de um grama de gasolina produz 11,5 kcal, o que significa que teríamos que gastar cerca de 269g (cerca de 300 ml) de gasolina diariamente para gerar este calor, o que mostra a "economia" de nossa alimentação diária e quão caro é manter um automóvel para substituir nossas atividades

físicas de deslocamento. Para maiores considerações acerca do poder energético dos alimentos, veja o capítulo 9 sobre Bionergética.

Necessidades de fibras

Um dado importante na alimentação é a presença de *fibras vegetais* mesmo que, classicamente, não sejam consideradas alimento, já que não são absorvidas no trato gastrointestinal não possuindo, portanto, função na bioquímica intracelular. Entende-se por fibras todos os constituintes das paredes celulares dos vegetais que não podem ser digeridos pelas enzimas animais (p.ex.: celulose, hemicelulose, lignina, gomas, pectinas e pentosanos). Nos herbívoros, tais como os ruminantes, as fibras (significativamente a celulose) são as principais fontes de energia, após serem digeridas por microrganismos (bactérias e protozoários) existentes no trato digestivo desses animais.

No homem, dietas com alto conteúdo de fibras exercem efeitos benéficos por auxiliar na retenção de água durante a passagem do alimento através do intestino e ainda produzindo maiores quantidades de fezes macias, facilitando o trânsito intestinal e o processo digestivo como um todo. Uma alta quantidade de fibras na dieta está associada com incidências reduzidas de *diverticuloses*, *câncer de cólon*, *doenças cardiovasculares* e *diabetes mellitus*.

As fibras mais insolúveis, tais como a *celulose* e a *lignina*, encontradas no grão de trigo, são benéficas com respeito à função do cólon, enquanto as fibras mais solúveis encontradas nos legumes e frutas (p.ex.: *gomas* e *pectinas*) diminuem o colesterol plasmático, possivelmente pela ligação com o colesterol e sais biliares da dieta. As fibras solúveis também esvaziam o estômago lentamente e deste modo atenuam o aumento da glicose e, conseqüentemente, a secreção de insulina, sendo este esse efeito benéfico aos diabéticos e às pessoas que estão de regime alimentar porque diminui o efeito da queda brusca no nível de glicose sanguínea, que estimula o apetite. As principais fontes de fibras são os cereais (principalmente o trigo, a aveia e o arroz integral), amêndoa, coco, castanha-do-pará, feijão, espi-

nafre, amora, uva, banana, bagaço de laranja etc.

Um excesso de fibras, entretanto, deve ser evitado pois se ligam com micronutrientes (Zn^{++} e vitaminas lipossolúveis, por exemplo) evitando sua absorção. Desta forma, a ingestão diária está restrita a cerca de 25 – 30g, modificando-se para mais, de acordo com a sua utilização como terapia, devendo-se, sempre, ser observado a reposição vitamínica necessária para evitar doenças carenciais.

Alimentos industrializados

Uma característica da alimentação humana é que há imensa manipulação antes do consumo, com o uso de agrotóxicos, conservantes químicos, extração de gorduras, adição de nutrientes etc.

O processo de industrialização visa, basicamente, conservar as propriedades nutricionais e organolépticas dos alimentos por um período bastante prolongado, o que, frequentemente, promove a perda de vários nutrientes. As vitaminas, por exemplo, são quase que totalmente destruídas pelo calor, outras são fotolábeis e muitas não resistem ao congelamento, o que faz com que seja necessário adicioná-las após durante a industrialização dos alimentos.

Os **aditivos alimentares** são, portanto, substâncias naturais ou sintéticas, adicionadas aos alimentos com o fim de os conservar, processar, intensificar o sabor ou melhorar o aspecto, largamente utilizado pela indústria alimentar e uma constante na dieta humana. Os principais são os conservantes, antioxidantes, corantes, intensificadores de sabor, edulcorantes, reguladores de acidez, emulsionantes, estabilizadores e espessantes. Na Tabela 2-5 encontram-se relacionados as classes de aditivos e seus respectivos conceitos e na Tabela 2-6 os principais aditivos alimentares.

Durante o processo tecnológico, são utilizados compostos químicos que devem ser totalmente eliminados do produto final, ou permanecer como *traços*. São denominados de **coadjuvantes de tecnologia de fabricação** e correspondem a clarificantes, coagulantes, antimicrobianos, floculantes, inibidores enzimáticos, catalisadores, detergentes, resinas etc.

Tabela 2-5: Relação dos aditivos alimentares e seus respectivos conceitos.

Função	Aditivo	Conceito
Tecnologia de fabricação	Agentes de firmeza	mantêm firmes ou crocantes frutas e hortaliças ou fortalecem géis.
	Agentes de corpo	aumentam do volume sem modificar o valor energético.
	Antiespumantes	evitam a formação de espuma.
	Antiumectantes	diminuem as propriedades de absorção de água.
	Emulsificantes	permitem a mistura de fases insolúveis entre si.
	Espessantes	aumentam a viscosidade.
	Espumantes	favorecem a formação ou manutenção de fase gasosa.
	Estabilizantes	mantêm estáveis emulsões.
	Gelificantes	conferem a textura de gel.
	Sequestrantes	formam complexos químicos com íons metálicos, inativando-os.
	Fermentos químicos	aumentam o volume com a liberam gás.
	Glaceantes	dão aparência brilhante.
Conservante	Melhoradores de farinha	melhoram o processo técnico de produção de farinhas.
	Antioxidantes	retardam a oxidação dos alimentos.
	Conservadores	retardam a ação de microorganismos
	Umectantes	protegem contra a desidratação.
Modificação das características sensoriais	Reguladores de acidez	controlam a variação de pH.
	Acidulantes	aumentam a acidez e/ou conferem sabor ácido.
	Edulcorantes	conferem sabor adocicado.
	Estabilizantes de cor	mantêm a coloração.
	Corantes	conferem, intensificam ou restauram a coloração natural.
	Aromatizantes	conferem ou reforçam aromas e/ou sabor.
Realçadores de aroma	ressaltam o sabor e/ou aroma.	

Fonte: Resoluções do MERCOSUL.

Em todos os países, existe uma legislação extremamente exigente que limita a quantidade de aditivos no alimento industrializado

devido à existência de efeitos tóxicos severos devido ao consumo exagerado.

Os **edulcorantes sacarina** (400x mais doce que a sacarose) e o **ciclamato** (30x mais doce que a sacarose) chegaram a ser proibidos em 1970 nos EUA devido a estudos que indicavam propriedades carcinogênicas, sendo readmitidos na década seguinte em níveis seguros de ingestão diária aceitável (IDA). O **aspartame** (180x mais doce que a sacarose), apesar de não apresentar efeitos tóxicos ou mutagênicos, seus metabólitos (ácido aspártico, fenilalanina e metanol) podem apresentar efeitos colaterais quando consumido em excesso. A fenilalanina produzida contra-indica o uso desse adoçante em pacientes com o erro inato do metabolismo conhecido como fenilcetonúria, uma vez que não podem metabolizar esse aminoácido tendo complicações neurológicas severas. Em indivíduos normais, entretanto, a observação da IDA DE 40mg/kg não possui quaisquer efeitos colaterais.

Os **antioxidantes**, em particular, possuem uma função intracelular importante devido a muitos compostos que possuem poder oxidante podem promover alterações irreversíveis em biomoléculas (p.ex.: ácidos graxos, DNA, enzimas) de função essencial à vida o que possibilita o aparecimento de doenças como o câncer, aterosclerose etc. Para tal, as células têm a capacidade de produzir compostos antioxidantes que neutralizam a ação danosa desses produtos tóxicos

Freqüentemente, entretanto, há a necessidade obtê-los de fontes alimentícias para garantir um estado de saturação plasmática que impeça ou retarde o desenvolvimento de certas doenças (não confundir este alimentos, com os antioxidantes utilizados como conservantes de alimentos).

As principais biomoléculas presentes nos alimentos com esta propriedade são:

- **Vitamina C:** frutas e legumes (citrinos, morangos, pimentos etc.).
- **Beta-caroteno (precursor da Vitamina A):** frutas e vegetais de cores fortes (cenouras, abóbora, alperces, legumes de folha verde etc.).
- **Vitamina E:** óleos vegetais, oleaginosas, gérmen de trigo, sementes.
- **Selênio:** peixe e mariscos.

- **Bioflavonóides:** frutas, vinho tinto, chá, café.

Alguns antioxidantes sintéticos como o **BHA** (OH-anisol-butilado), o **BHT** (OH-tolueno butilado), o **TBHQ** (OH-quinona butilada) e os derivados do **ácido gálico** apresentam efeitos tóxicos e mutagênicos quando em doses altas em estudos em *in vivo*, sendo recomendado baixos valores para a IDA.

Conservantes como o **ácido benzóico** e **sulfitos** possuem largo uso na industrialização de alimentos e somente em altas concentrações podem induzir a reações alérgicas ou destruição celular da mucosa intestinal. Da mesma forma, os **aromatizantes** naturais são preferíveis aos sintéticos.

O benefício trazido para a sociedade com o advento da industrialização dos alimentos é inegável, porém o cuidado com o uso indiscriminado de produtos tóxicos, mesmo em baixas quantidades, pode trazer problemas em longo prazo por efeito cumulativo, o que favorece a idéia de manter-se na dieta diária uma grande quantidade de produtos frescos ou de confecção caseira.

Tabela 2-6: Principais funções de aditivos em alimentos

Função	Aditivos	Alimentos
Conservação	ácido propiônico, benzoatos, BHA, BHT, nitrito de sódio, ácido cítrico.	pão, queijos, margarinas, óleos, geléias, pickles, carnes processadas.
Tecnologia de fabricação	alginatos, lecitina, pectina, metilcelulose, goma-guar, citrato de sódio, polissorbato, polifosfatos.	misturas para bolo, balas, molhos para saladas, maionese, leite de coco, sorvetes, queijos processados.
Modificação das características sensoriais	aspartame, sacarina, baunilha, β -caroteno, glutamato de sódio, eritrosina.	sorvetes, iogurtes, balas, pós para gelatinas, refrigerantes, sopas.

Fonte: Toledo, MCF., 1999 In: Fundamentos de Toxicologia, pág.409.

Digestão e absorção

A forma de introduzir o alimento no organismo é por via oral, sendo admitido, em determinadas situações patológicas, a *alimentação parenteral*, por via endovenosa. Este padrão é reservado aos animais de organização celular complexa onde a existência de um tubo digestivo com entrada (boca) e saída (ânus) é bastante freqüente tanto em invertebrados quanto nos vertebrados. Bactérias, fungos e protozoários obtêm os alimentos do meio por difusão direta através de processo seletivo exercido pela membrana celular que possui papel decisivo também na excreção dos produtos inservíveis à célula (p.ex.: CO₂, NH₃ etc.).

Não obstante, os seres unicelulares também possuem certa semelhança a este modelo, uma vez que vários protozoários possuem uma entrada diferenciada. Os processos de fagocitose e pinocitose e os vacúolos digestivos são formas primitivas desses organismos unicelulares realizarem a degradação de alimentos em moléculas mais simples adequadas ao metabolismo intracelular. O fato de os organismos unicelulares liberarem seus catabólitos diretamente para o meio extracelular leva a uma saturação do meio ambiente em que crescem modificando as propriedades químicas do meio podendo torná-lo insuportável para a manutenção da vida. É o que acontece em um meio de cultura de bactérias *in vivo* onde a produção de ácidos (principalmente o láctico) leva à morte das bactérias, caso não haja a renovação do meio de cultura.

Os organismos multicelulares não podem “livrar-se” de seus catabólitos da mesma maneira, uma vez que a morte das células vizinhas compromete a vida o organismo como um todo. Desta forma, surge a organização de um complexo sistema de digestão, transporte de nutrientes e excreção realizados em tubos celulares (veias, artérias, vasos linfáticos, vias respiratórias, tubo digestivo) e órgãos anexos especializados (estômago, fígado, rins, coração, pulmões) trabalhando integrados de maneira a preservar o equilíbrio da composição do meio extracelular dos tecidos (líquido intersticial) e, por conseguinte, do meio intracelular, evitando a morte celular. Em certas condições patológicas onde se perde este eficaz

meio de comunicação celular, há problemas graves para a manutenção da vida, podendo levar à lesões irreversíveis ou até a morte (p.ex.: a produção de corpos cetônicos em excesso pelas células de pacientes diabéticos; a excreção de hidrogênios em demasia durante a fadiga muscular).

O alimento contém os mais variados tipos de compostos macromoleculares que precisam ser processados até um tamanho adequado para a sua absorção e aproveitamento pelo organismo. A maioria dos alimentos sofre um processo enzimático no trato digestivo, sendo que a sede de maior ação digestiva e absorção ocorre no intestino delgado. Aliado a essa ação enzimática, a ação mecânica exercida pelos músculos lisos do estômago e intestino, promove a homogeneização do bolo alimentar, facilitando a ação enzimática. Em capítulos posteriores, serão abordados os aspectos mais específicos deste processo, cabendo, agora, apenas uma abordagem introdutória do assunto.

Na boca ocorre o início do processo digestivo com a amilase salivar (*ptialina* ou $\alpha(1\rightarrow4)$ glicosidase) degradando o amido e o glicogênio, quando presente (uma vez que desaparece rapidamente dos alimentos após o abate dos animais). Este processo é incompleto devido o pouco tempo que o alimento passa na boca e a amilase ser incapaz de quebrar as ligações $\alpha(1\rightarrow6)$ existentes entre as moléculas de glicose. No estômago, a ação do HCl inativa a amilase salivar, havendo o término da digestão no intestino delgado, sob a ação das enzimas do suco pancreático, pela ação da amilase pancreática. Os demais carboidratos serão degradados por enzimas específicas (as *dissacaridasas* e *oligosacaridasas*) presentes no suco entérico liberado pelas células de Brunner e Lieberkühn, no intestino delgado. Na verdade, devemos considerar a digestão na boca apenas como uma possibilidade e não como um fato pois seriam necessários cerca de seis minutos para digerir um grama de amido na boca, o que tornaria a alimentação um processo extremamente lento.

As proteínas começam a ser digeridas no estômago através de um processo químico-corrosivo no estômago pela ação do HCl gástrico e também enzimático pela *pepsina* gástri-

ca e da *renina* (importantes em lactentes por promover a coagulação das proteínas do leite na presença de Ca^{++}). No Intestino delgado, as enzimas proteolíticas do suco pancreático continuam a digestão através de **endopeptidases** (quebram as ligações peptídicas do meio da molécula em ligações específicas: *tripsina*, *quimotripsina* e *elastase*) e **exopectidases** (quebram as extremidades das moléculas: *carboxipeptidases*). No suco entérico, há o término da digestão das proteínas com a ação de uma exopeptidase que quebra a partir da extremidade aminoterninal, a *aminopeptidase*.

Os lipídios são digeridos enzimaticamente no intestino pela lipase pancreática, após um processo de emulsificação pela bile. Uma lipase lingual é secretada pelas células da base da língua porém não faz parte da saliva, sendo deglutida para o estômago onde é inativada, não possuindo, portanto, função digestiva importante. Desta forma, a lipase gástrica descrita por alguns autores também não possui ação digestiva significativa (provavelmente corresponde à própria lipase lingual e não uma enzima produzida pelo estômago). Assim sendo, a ação digestiva do estômago sobre os lipídios resume-se à ação peristáltica sobre o bolo alimentar, formando uma mistura homogênea rica em gorduras. O colesterol não sofre degradação em sua estrutura básica, sendo apenas separado das lipoproteínas que os transportam ou de outros ácidos graxos ao qual estejam esterificados. Somente os tri-acil-gliceróis e os demais lipídios esterificados, sofrerão ação da lipase pancreática, com a liberação dos ácidos graxos constituintes, glicerol e outros compostos que façam parte da composição lipídica.

Os ácidos nucléicos não possuem grande importância na alimentação, uma vez que são bio-sintetizados. No estômago há a separação das nucleoproteínas, havendo a digestão por *ribonucleases* e *desoxirribonucleases* do suco pancreática e de *nucleosidases* e *fosfatases* do suco entérico. O interessante é que há um processo de excreção, como ácido úrico, de parte das bases nitrogenadas adenina e guanina presentes na alimentação, ainda na mucosa intestinal. As demais bases são absorvidas na forma de nucleotídeos e são degradados no fígado em suas formas catabólicas.

Um resumo das ações digestivas pode ser observado na Tabela 2-5.

Para ter uma visão geral do processo de absorção dos nutrientes, observe os itens abaixo:

Carboidratos:

- são absorvidos somente na forma de monossacarídeos;
- glicose, galactose e frutose são absorvidos mediante mecanismos específicos de transporte ativo (contra gradiente de concentração, com gasto de ATP);
- há absorção preferencial de glicose pelas células intestinais;
- são drenados pelo sistema porta hepático;
- após a absorção, o fígado libera parte da glicose para a corrente sanguínea e promove a conversão da glicose em excesso em glicogênio;
- a glicose sanguínea corresponde ao principal carboidrato circulante. Alguns outros monossacarídeos são identificados em quantidades muito pequenas, sendo resultantes de reações tautoméricas espontâneas da molécula da glicose.

Proteínas:

- são absorvidos na forma de dipeptídeos e de aminoácidos;
- os dipeptídeos são absorvidos mais rapidamente que os aminoácidos, devido à existência de mecanismos especiais de transporte;
- na superfície da mucosa intestinal se localiza um grande número de mecanismos específicos de absorção para vinte diferentes aminoácidos;
- são drenados pelo sistema porta hepático;
- fígado procede a síntese das inúmeras proteínas plasmáticas a partir dos aminoácidos absorvidos na alimentação. Os aminoácidos não-essenciais são sintetizados pelo fígado, o que faz com que o excesso da alimentação seja convertido a uréia (pela retirada do grupamento amino) e haja o aproveitamento da cadeia carbonada em processos metabólicos como a neoglicogênese ou o metabolismo energético.

Tabela 2-5: Resumo das ações digestivas dos principais materiais alimentícios.

Material alimentício	Ação digestiva	Produto final
Amido e glicogênio	amilase salivar e pancreática	maltose + glicose
Dissacarídeos	dissacaridases entéricas	monossacarídeos
Monossacarídeos	nenhuma	-
Proteínas	1. ácido clorídrico e pepsina gástrica 2. tripsina, quimotripsina e carboxipeptidases pancreáticas 3. aminopeptidase entérica	1. polipeptídeos grandes 2. polipeptídeos, dipeptídeos e aminoácidos. 3. aminoácidos.
Tri-acilgliceróis (triglicerídeos)	emulsão com bile, hidrólise pela lipase lingual (gástrica) e pancreática (*)	ácidos graxos e glicerol
Colesterol	separação das lipoproteínas de transporte. Sua molécula, porém, não sofre processo digestivo	-
Ácidos nucleicos	nucleases pancreáticas e entéricas	nucleosídeos

(*) A ação da lipase pancreática é a mais importante, com a lipase lingual exercendo sua função apenas no estômago (= lipase gástrica) e com baixa atividade devido ao pH extremamente ácido (<2,0) do suco gástrico.

Ácidos graxos:

- após a digestão, as **micelas** são absorvidas pela mucosa intestinal indo a parte correspondente aos ácidos biliares para a circulação porta hepática;
- os ácidos graxos e os monoglicerídeos são absorvidos pela célula intestinal por difusão;
- os ácidos graxos de cadeia longa (acima de 16 carbonos) são reesterificados (num processo denominado síntese "de novo") para formar novos tri-acil-gliceróis, que se fixam a apolipoproteínas dando origem aos quilomícrons;
- essas lipoproteínas (quilomícrons) são drenados para o **sistema linfático** e transportadas para o duto torácico;
- uma vez que não vão ao fígado, há a deposição dos tri-acil-gliceróis reesterificados nos adipócitos só sendo degradados no processo metabólico energético quando houver a carência de carboidratos ou o aumento da necessidade energética;

- os ácidos graxos de cadeia curta não são reesterificados, ingressando rapidamente na circulação porta, fixando-se à albumina;
- as vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) são absorvidas juntamente com os lipídios, sendo que sua absorção depende de uma absorção lipídica normal. A absorção da vitamina K é modificada pela ingestão e metabolismo do cálcio.

Água e eletrólitos:

- a água tem absorção maior na mucosa do intestino grosso;
- sódio é absorvido por mecanismo de transporte ativo ligado a absorção de aminoácidos, bicarbonato e glicose;
- transporte do cálcio está relacionado com a vitamina D e o hormônio paratireóide, sendo regulado por uma proteína fixadora de cálcio nas células intestinais;
- ferro é absorvido após ser reduzido pelo ácido clorídrico gástrico sendo transportado pelas células da mucosa intestinal antes de se ligarem às proteínas transportadoras plasmáticas. Há um limiar para o transporte na mucosa, sendo que há um limite de saturação pela mucosa intestinal.

Ácidos nucleicos:

- são absorvidos na forma de nucleotídeos a nível intestinal, sendo que grande parte das purinas (adenina e guanina) é convertida em ácido úrico ainda na mucosa intestinal e excretado pelas fezes;
- ácido úrico presente no sangue corresponde ao decorrente da degradação das purinas no fígado. Quando há um defeito hereditário com hiperatividade da síntese de ácido úrico, caracteriza-se uma doença genética muito comum conhecida como *gota*.

EXERCÍCIOS

1. Qual a relação ecológica entre produtores, consumidores e decompositores? O que isso diz respeito ao estudo dos alimentos?
2. Comente sobre a classificação dos alimentos do ponto de vista biológico.
3. Discuta a necessidade diária de alimentos em relação aparecimento de doenças nutricionais.
4. Qual a importância do Índice de Massa Corpórea (IMC) no estudo de patologias nutricionais?
5. Comente sobre doenças além da desnutrição e obesidade que podem estar relacionadas com os alimentos.
6. Conceitue taxa basal metabólica e efeito termogênico dos alimentos.
7. Faça um levantamento de sua alimentação diária média e relacione com sua atividade física e IMC.
8. Qual a importância das fibras na alimentação?
9. Qual a importância do estudo da composição dos alimentos industrializados para a manutenção da saúde humana?
10. Faça um resumo das principais ações de digestão e absorção dos alimentos.

Gastro-Intestinal Research Foundation (GIRF):

<http://homepage.interaccess.com/~ring/girf/girf.html>

Vitaminas e Minerais:

<http://www.cyber-north.com/vitamins/>

Para navegar na Internet

Fundamentos de Bioquímica:

<http://www.fundamentosdebioquimica.hpg.com.br>

Tecnologia de Alimentos:

<http://www.cetec.rmg.br/cetec/alimento/alimento.html>

UNICAMP - Saúde e Vida On Line -

<http://www.nib.unicamp.br/svol>

Sociedade Portuguesa de Cardiologia

<http://www.spc.pt/publico/principal.htm>

Biobrás:

<http://www.biobras.com.br>

Digestive Disease Center:

<http://www.niddk.nih.gov/DigestiveDocs.html>

Dispepsia:

<http://www.geocities.com/HotSprings/5591/>

Am I the Only One Left? (about vitamins):

<http://www.suite29.com/combs>

Diarrhea:

<http://regina.ism.ca/trakker/Medical/TravDiar.htm>

Capítulo 3

Ácidos Nucléicos

No auge dos estudos citológico, em 1889, Johann Frederick Miesher isolou do núcleo celular uma substância de caráter ácido não-protéica e apresentando fósforo em sua composição, ao qual denominou **nucleína**. Este ácido do núcleo (**ácido nucléico**) é que garantia a propriedade de coloração por corantes básicos ao núcleo e que hoje se sabe tratar do ácido **desoxirribonucléico (DNA)** e do **ácido ribonucléico (RNA)**, apesar deste último ter sido isolado, primariamente, no citoplasma nas formas de RNA mensageiro (RNAm), transportador (RNAt) e ribossômico (RNAr).

Com a invenção de um corante específico para DNA, Robert Feugen, em 1920, proporcionou a descoberta que o DNA localiza-se nos cromossomos durante a divisão celular. Os cromossomos já haviam sido descritos como fundamentais para o processo de reprodução celular desde 1879 por Fleming, entretanto nunca relacionados como portadores dos elementos responsáveis pelos caracteres hereditários, os **genes**. Na verdade Mendel, em 1865, estabeleceu os princípios universais da hereditariedade, porém seu trabalho permaneceu obscuro até de Vries, Correns & Tschermnan em 1900 redescobrirem o trabalho de Mendel e relacioná-lo com os achados mais recentes da então recém-criada ciência, a **genética**. O curioso é que em 1859, Charles Darwin (seis anos antes de Mendel) já havia revolucionado o pensamento ocidental com a formulação de seus princípios sobre a evolução, mas provavelmente não deve ter reconhecido nos trabalhos de Mendel o componente essencial para a transmissão dos caracteres selecionados pela natureza e que garantiam a perpetuação da espécie.

De uma maneira geral, até 1952 não havia consenso entre os cientistas sobre a verdadeira natureza química dos genes, com muitos acreditando tratar-se de proteínas altamente especializadas. Isto começou a ser esclarecido após os estudos de Griffith em 1928 que

demonstrou a existência de um "princípio transformante" em cepas de *Diplococcus pneumoniae* responsável pela pneumonia experimental em camundongos (Figura 3-1) e de Avery, MacLeod e McCarty em 1944, que demonstraram que o DNA era este princípio, através de experimentos onde o princípio transformante era destruído pela ação de enzimas que destroem o DNA.

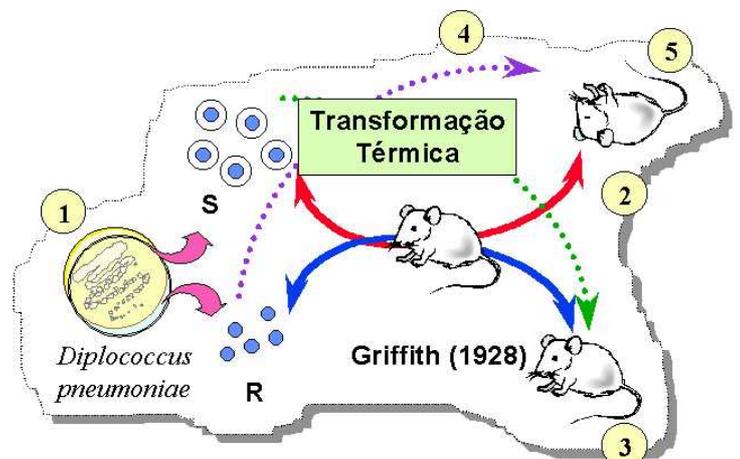


Figura 3-1 - Experimento de Griffith (1928). ① Colônias lisas (S) de *D. pneumoniae* induzem a morte ② de um camundongo por pneumonia, enquanto que colônias rugosas (R) não o fazem ③. Quando submetido ao calor, colônias R tornam-se inertes ④, porém quando misturas a colônias S mortas pelo calor, transformam-se em letais ⑤.

Entretanto, foi somente em 1952 que os experimentos de Alfred Hershey e Martha Chase identificaram o DNA como o responsável pelas características genéticas de bacteriófagos (Figura 3-2), sendo este conceito hoje tido como **quase que universal** para todos os seres vivos, já que H. Fraenkel-Conrat & R. Williams em 1955 identificaram os vírus do tabaco como possuidor somente de RNA (os retrovírus), achado fundamental para impedir que o dogma científico de que o DNA é a única molécula guardiã dos caracteres genéticos dos seres vivos.

Isto torna-se bem mais evidente com os estudos de Stanley Prusiner e colaboradores sobre os **PRIONS** (*Proteinaceous Infecti-*

ous Particle) que são moléculas protéicas que se multiplicam independente de controle genético do DNA ou RNA como os vírus, mas são responsáveis por doenças infecciosas graves, como a observada entre tribos africanas praticantes do canibalismo e da encefalite espongiforme bovina que acometeu o gado europeu do fim deste século conhecido como a doença da "vaca louca".

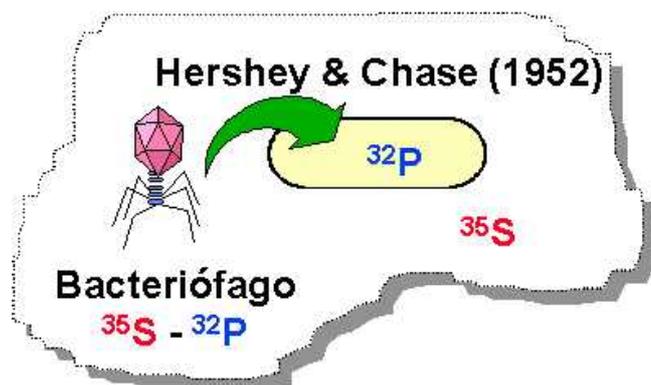


Figura 3-2 - No experimento de Hershey e Chase (1952), vírus bacteriófagos foram cultivados em meio contendo enxofre e fósforo radioativos (^{35}S e ^{32}P), marcando-se as proteínas e o DNA, respectivamente. Após a infecção desses bacteriófagos em bactérias *Escherichia coli* observou-se que o ^{35}S (portanto, as proteínas) não penetrava nas bactérias e somente o ^{32}P (o DNA) penetrava e induzia a replicação do vírus.

As proteínas priônicas são pelo produzidas pelo próprio organismo, mas em uma configuração espacial inerte e que se modificam quando em contato com proteínas idênticas quanto à composição, mas de configuração espacial diferente e que são ingeridas na alimentação principalmente de alimentos oriundos de tecidos da mesma espécie (p.ex.: em rituais canibalescos ou em animais alimentados com ração feita com restos de animais da própria espécie). A interação entre essas proteínas permite a formação de novas proteínas independente de um distúrbio genético, gerando alterações celulares graves, principalmente no tecido nervoso (Figura 3-3). Em 1953, o mundo científico teve seus horizontes redirecionados com a publicação do trabalho de Watson & Crick sobre a estrutura do DNA. Neste artigo extremamente simples, os dois jovens cientistas, ainda estudantes de pós-graduação da Universidade de Cambridge na Inglaterra, propuseram a famosa estrutura de cadeia em dupla hélice para a molécula de DNA, a partir da análise dos re-

sultados de trabalhos de Edwin Chargaff (composição percentual idêntica de Adenina e Timina, Citosina e Guanina no DNA e diferente no RNA), Linus Carl Pauling (estrutura molecular e comprimento de ligação de bases nitrogenadas) e de Rosalind Franklin e Maurice Wilkins (difração de raios-X mostrando a natureza de dupla fita do DNA). O modelo favorece conclusões sobre o mecanismo como o DNA se duplica e, ainda mais, como coordena a síntese protéica a partir da síntese de RNA a partir de um molde de DNA e a combinação de três nucleotídeos (códon) para a decodificação deste código genético nos ribossomos.

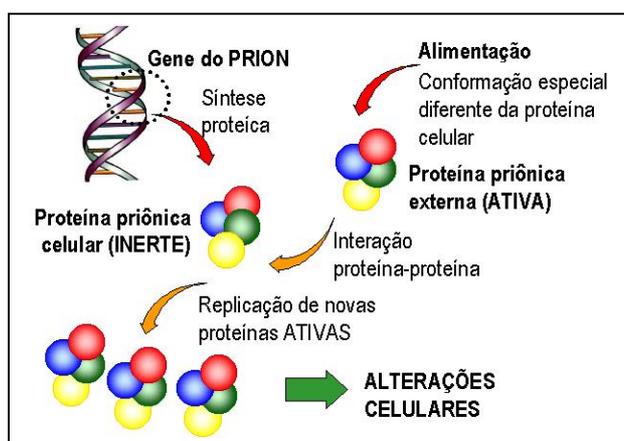


Figura 3-3 - Os PRIONS possuem estrutura primária idêntica, mas terciária diferente em relação às proteínas priônicas celulares. Mecanismos de interação proteína-proteína ainda não totalmente esclarecidos promovem a replicação de novas proteínas com a configuração espacial causadora de danos celulares.

Desde então, um ramo novo do estudo genético deve início, com a era da **biologia molecular** inaugurando técnicas sofisticadas do estudo do DNA que favorecem desde a descoberta da base genética de várias doenças, bem como o seu diagnóstico e o tratamento, como essa terapia gênica e uma ciência nova, a farmacogenética, sendo o caminho mais espetacular vislumbrado para a medicina no século XXI. Apesar dos aspectos éticos que envolvem a pesquisa com o DNA, experimentos com a clonagem de seres vivos já permitem a manipulação dos genes para o melhoramento da agricultura e rebanho, sendo que é apenas uma questão de tempo a manipulação de genes humanos com fins de tratamento das mais variadas doenças.

Nucleotídeos

Todas as células dos seres vivos possuem DNA e RNA, com exceção dos vírus que não são organismos celulares e possuem DNA ou RNA em sua composição, nunca os dois ao mesmo tempo (os PRIONS ainda precisam ter melhor caracterizada sua relação com os seres vivos, mas não possuem ácidos nucleicos em sua composição, sendo somente proteínas)

O DNA difere do RNA em vários aspectos que vão desde a composição molecular, forma estrutural, até a função e mecanismo de síntese, possuindo, entretanto, várias semelhanças que os torna moléculas irmãs e de extrema importância para o estudo da bioquímica celular, por serem responsáveis por todas as características da célula e as moléculas alvo da evolução.

Quimicamente, os ácidos nucleicos são **polímeros de nucleotídeos** unidos por ligações do tipo **fosfo-di-éster**, formando uma molécula polimérica.

Nucleotídeos são as unidades básicas dos ácidos nucleicos e são formados, sempre, por uma molécula de **pentose** a qual se liga a uma molécula de **base nitrogenada** e uma molécula de **fosfato** em pontos específicos e de maneira covalente, adquirindo forma estrutural helicoidal própria e característica do tipo de molécula. Embora façam parte da composição dos ácidos nucleicos, os nucleotídeos são encontrados na forma livre dentro da célula, sendo responsáveis por funções não relacionadas diretamente com a reprodução celular, como é o caso do ATP (Figura 3-4). A união das bases nitrogenadas à pentose, somente, forma um **nucleosídeo**, ou seja, um nucleotídeo desprovido de fosfato.

A **pentose** (monossacarídeo de 5 carbonos) pode ser a **ribose** (no RNA) ou a **desoxirribose** (no DNA) ambas em sua forma cíclica pentagonal de furanose. Em um nucleotídeo, convencionou-se identificar os carbonos da pentose acrescentando o apóstrofo para diferenciá-lo dos carbonos da base nitrogenada, desta forma o C1', C2', C3' e C5' estão aptos a realizar ligações químicas através das hidroxilas (-OH) livres nestes carbonos, com exceção da desoxirribose que não possui hidroxila no C2' (Figura 3-5).

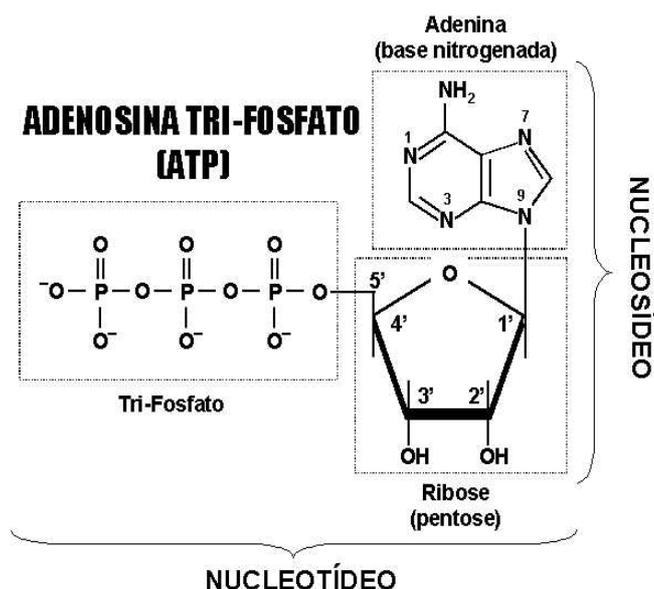


Figura 3-4: Estrutura molecular da adenosina-tri-fosfato (ATP), um nucleotídeo. A base nitrogenada liga-se ao C1' e o fosfato no C5' da pentose.

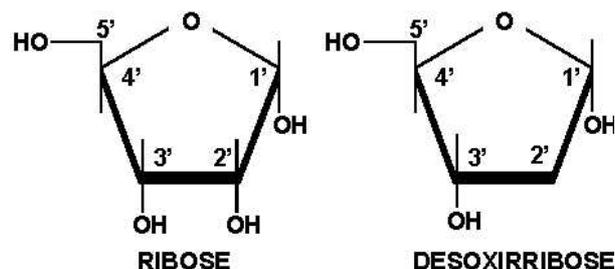


Figura 3-5 - As pentoses presentes nos ácidos nucleicos são a ribose (no RNA) e a desoxirribose (no DNA) que possui uma -OH a menos no C2'.

As **bases nitrogenadas** presentes nos ácidos nucleicos são de dois tipos: as **bases púricas, purínicas** ou, simplesmente, **purinas** e as **bases pirimídicas, pirimidínicas** ou **pirimidinas** (Figura 3-6), com todas elas ligando-se à molécula de pentose no C1', sendo que nas purinas o ponto de ligação é o nitrogênio na posição 9 (N9) e nas pirimidinas é o N1. Presentes tanto no DNA quanto no RNA, encontram-se a adenina, citosina e a guanina, com a timina sendo própria do DNA e a uracila do RNA. Esta exclusão de bases nitrogenadas dá-se devido à impossibilidade da timina no RNA e uracila no DNA parearem formando uma perfeita hélice.

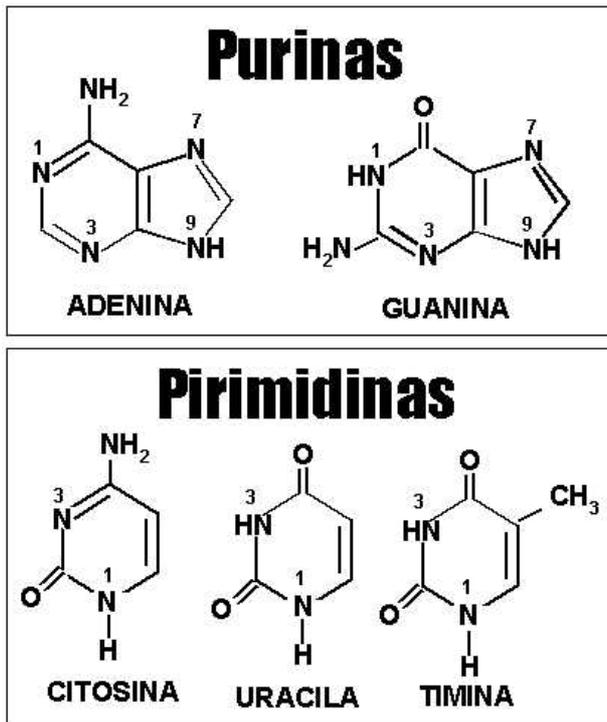


Figura 3-6 - As bases nitrogenadas que fazem parte da composição dos ácidos nucleicos. As bases purínicas ligam-se ao C1' da pentose através do N na posição 9, enquanto que as bases pirimidínicas ligam-se em C1' pelo N1.

Entretanto, é comum observar modificações na estrutura molecular das bases nitrogenadas após o processo de síntese do DNA ou do RNA já haverem sido concluído, o que pode levar, ocasionalmente, à presença de uma pseudotimina no RNA quando há a metilação no C5 da uracila e de pseudo-uracila no DNA por demetilação da timina (compare as diferenças da estrutura dessas bases nitrogenadas na Figura 3-6). Essas modificações podem ter função na estrutura da molécula (como é o caso da pseudotimina que caracteriza uma das regiões do RNAt) ou ter reflexos negativos para a vida da célula (como no caso da metilação de timina em regiões codificadas de proteínas na molécula de DNA).

A ligação entre os nucleotídeos ocorre, portanto, através de ligações covalentes extremamente fortes tendo um grupamento fosfato como ligante, as ligações **fosfo-di-éster** (Figura 3-7). Essas ligações garantem um "esqueleto" covalente rígido para a molécula de ácido nucleico e que só é clivado sob ação de enzimas hidrolíticas digestivas denominadas de **nucleases** (DNase e RNase).

A ligação entre as moléculas de nucleotídeos que permite a polimerização e a estru-

tura final do DNA e RNA ocorre entre a hidroxila do C3' de um nucleotídeo com o fosfato hidroxila do C5' do outro nucleotídeo, de forma que sempre o C5' do primeiro nucleotídeo terá um fosfato livre, enquanto que o último nucleotídeo adicionado terá sempre -OH livre no C3'. Esta uniformidade na configuração da cadeia polimérica de nucleotídeos, tanto de DNA quanto de RNA, confere uma direção à molécula onde é convencionalmente que o primeiro nucleotídeo de uma determinada seqüência é o que tem a extremidade 5' livre, enquanto que o último terá a extremidade 3' livre.

Como todas as moléculas de ácidos nucleicos são formadas por nucleotídeos polimerizados e como somente a base nitrogenada podem variar, o fosfato e a pentose não são descritos em representações simplificadas das seqüências de RNA e DNA (Figura 3-8). A molécula de DNA, por ser em dupla fita, possui as duas cadeias orientadas em sentido antiparalelo, ou seja, uma cadeia está no sentido 5'→3', enquanto que a outra está no sentido 3'→5'. A molécula de RNA, em fita simples, possui somente orientação 5'→3'. Detalhes da estrutura de DNA e RNA serão abordados a seguir.

Estrutura molecular do DNA

Quando Watson & Crick formularam sua teoria sobre a estrutura do DNA, confeccionaram modelos em madeira das moléculas, obedecendo a proporção entre o comprimento de ligação das bases nitrogenadas e da desoxirribose. Em uma espécie de jogo de tentativa e erro, observaram que a única combinação possível para garantir a estabilidade de um modelo em dupla hélice revelava duas características que viriam a ser fundamentais para a compreensão da química e biologia do DNA: as duas cadeias são antiparalelas (opostas entre si) e estão unidas por pontes de hidrogênio.

Estas observações permitem algumas conclusões importantes, como o fato que as pontes de hidrogênio são bem mais fracas do que a ligação covalente do esqueleto pentose-fosfato, fazendo delas o alvo do processo de divisão celular, uma vez que a molécula de DNA pode ser quebrada em dois moldes (uma

paralela a outra) e depois ser reconstruído em duas novas moléculas idênticas. Este processo de duplicação do DNA é a chave da compreensão dos processos de divisão celular vitais para a ciência, que até então não podiam ser compreendidos. A construção de uma cadeia polimérica de DNA requer que as duas cadeias alinhem-se de forma que as bases nitrogenadas adenina só podem ligar-se à timina,

através de duas pontes de hidrogênio, enquanto que citosina lia-se somente com guanina através de três pontes de hidrogênio. Qualquer outro tipo de ligação entre bases nitrogenadas é impossível e traria instabilidade estrutural à molécula (Figuras 3-9 e 3-10).

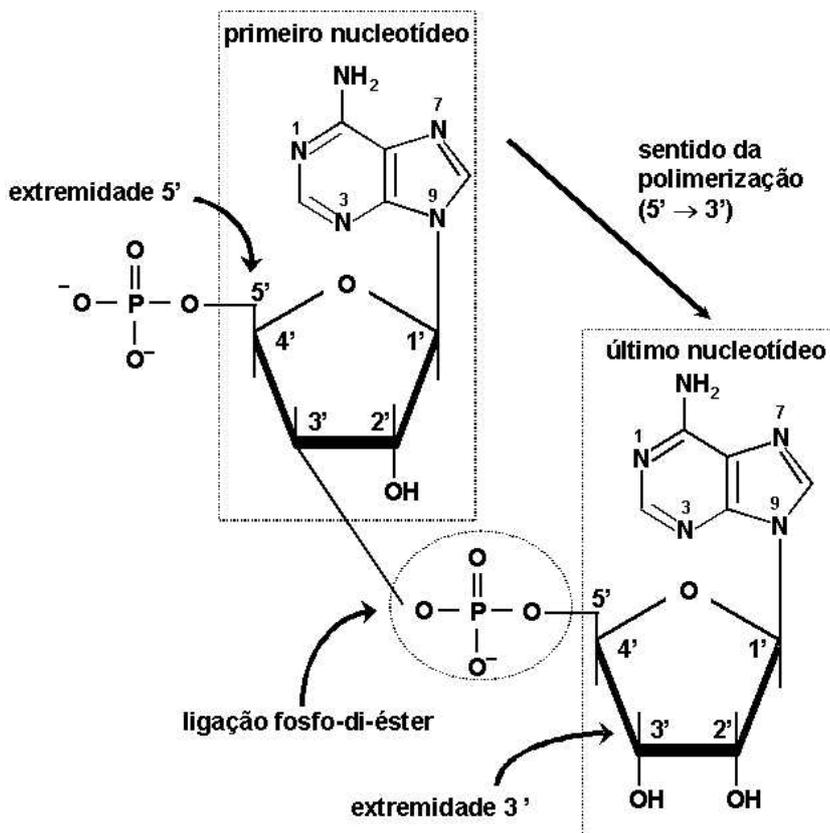


Figura 3-7 - Direção da polimerização orientada no sentido 5' → 3" de um dímero de RNA. Observe como o primeiro nucleotídeo sempre terá a extremidade 5' livre e o último à extremidade 3'. A ligação do tipo fosfo-di-éster é extremamente rígida e confere alta estabilidade à cadeia polimerizada de ácidos nucleicos.

Seqüência de DNA
5' -AAGTCCGTGCTGCGTGCGTGATGAATG-3'
3' -TTCAGGCACGACGCACGCACTACTTAC-5'

Seqüência de RNA
5' -UUAGGGCAUUGUACAUCCCUAAAACCU-3'

Figura 3-8 - Representação simplificada de uma seqüência de DNA e de RNA (oligonucleotídeo). Observe que a orientação das duas cadeias de nucleotídeos do DNA é oposta entre si.

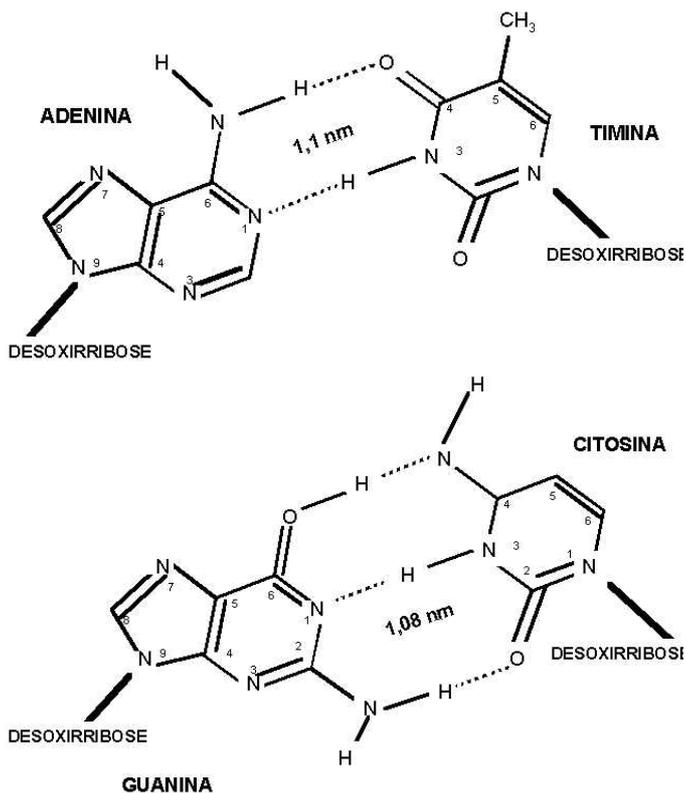


Figura 3-9 - O pareamento das bases nitrogenadas ocorre com duas pontes de hidrogênio entre a adenina e timina, e com três pontes de hidrogênio entre guanina e citosina, o que faz com que os pontos contendo ligações GC representem mais resistência para a seqüência de DNA.

Com essa característica química, responde-se a extrema fidelidade na duplicação da molécula de DNA durante a divisão celular, o que garante seu papel como controlador da expressão gênica. Os genes, portanto, são compostos de DNA e mantêm-se estáveis durante o processo de duplicação do DNA, um processo denominado de **replicação**. A **mutação** em qualquer um desses nucleotídeos, leva à desordem na tradução do código genético, permitindo modificações celulares que serão mantidas ou excluídas por seleção natural.

Todas essas considerações são possíveis a partir do momento que se conclui a estrutura helicoidal do DNA

A forma estrutural final da molécula de DNA é representada por uma **dupla hélice em espiral** comparada a uma escada em espiral, onde o corrimão da escada representa a pentose unida pela ligação fosfo-di-éster, enquanto que os degraus correspondem às bases nitrogenadas unidas por pontes de hidrogênio

(Figuras 3-11). As seqüências de DNA onde há muitas ligações entre guanina e citosina (GC) são mais resistentes, devido ao maior número de pontes de hidrogênio formadas.

A direção do eixo da dupla hélice é para a direita e em cada volta há cerca de 10pb (pb). Em consequência a esta conformação, há uma cavidade maior e uma outra menor na forma de um sulco na superfície da molécula, locais importantes de ligação com proteínas estabilizadoras ou de outras envolvidas na regulação da replicação do DNA.

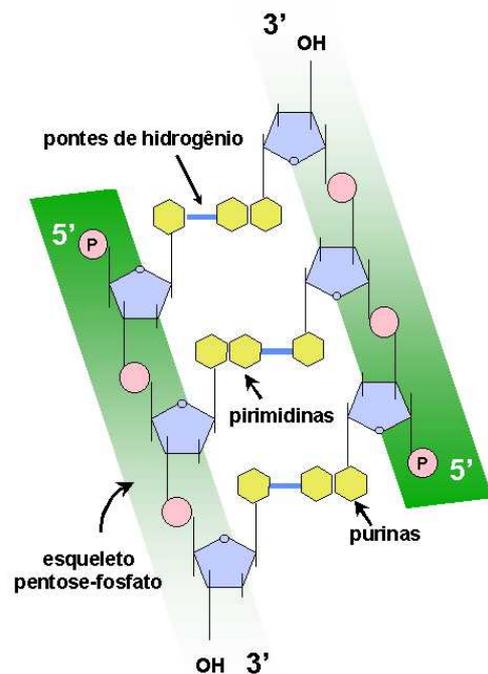


Figura 3-10 - Organização da cadeia de DNA em fita dupla, mostrando o sentido antiparalelo 5'→ 3' e 3'→ 5'. As pontes de hidrogênio ocorrem entre adenina e timina ou entre guanina e citosina (sempre uma purina e uma pirimidina) garantindo o tamanho constante da cadeia.

O modelo molecular descrito por Watson & Crick corresponde ao mais abundante tipo de DNA encontrado nas células, hoje denominado de B-DNA. A forma A-DNA é mais condensada, observada em meio extremamente hipertônico e possui mais de 10pb por volta completa da dupla hélice.

A forma **Z-DNA** está relacionada, com a regulação da expressão gênica e que apresenta a configuração em *zig-zag* com giro da hélice para esquerda, ao contrário das demais formas de DNA que apresenta o giro para a direita.

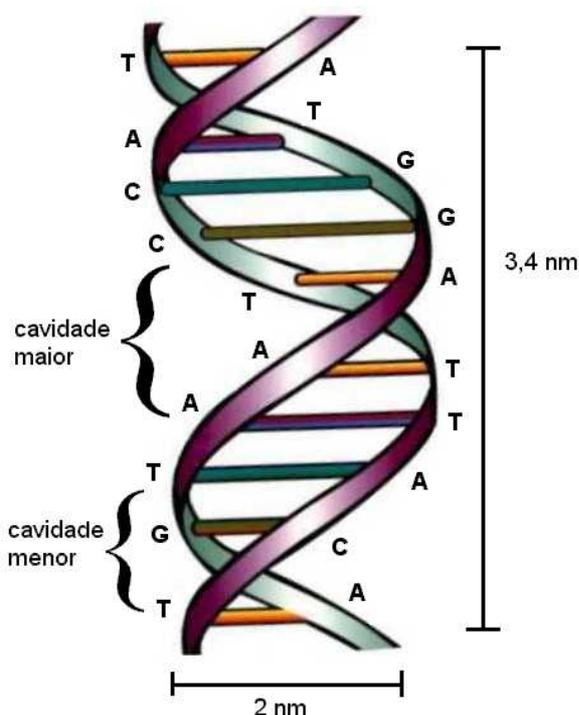


Figura 3-11- Estrutura do DNA, segundo Watson & Crick (1953). Uma volta completa possui cerca de 3,4nm e 10 pb; à distância entre as fitas é de cerca de 2,0nm. A cavidade maior e menor são sítios de ligação a proteínas estabilizadoras e da replicação.

Uma forma de DNA obtido por síntese *in vitro* é a **C-DNA**, na qual todas as seqüências são codificadoras, ao contrário das demais formas que há regiões não codificadoras mesmo dentro das seqüências gênicas.

Em virtude das moléculas de DNA serem extremamente grandes, a unidade de medida é o kb (*kilobase*, ou seja, 1000 pb) que corresponde a $6,6 \times 10^5$ de peso molecular e 340 nm de comprimento. Algumas espécies contêm moléculas simples de DNA, de tamanho diminuto, como a bactéria *E.coli* (4×10^6 pb e 1,4 mm de comprimento). Supõe-se que o genoma (conjunto de genes) humano possua cerca de $4,5 \times 10^6$ kb e 1,5m de comprimento distribuídos em 23 pares de cromossomos.

Apesar de a grande maioria dos seres vivos possuírem a molécula de DNA em dupla fita e linear, o genoma dos seres vivos pode apresentar-se na forma de monofilamento e em cadeia circular. Os plasmídeos e cromossomos bacterianos, o DNA de cloroplastos e mitocôndrias e o DNA dos papovírus (p.ex.: vírus do herpes), possuem forma de

dupla hélice em cadeia circular. Os parvovírus (p.ex.: da parvovirose canina) possuem seu genoma na forma de uma **cadeia simples monofilamentar** de DNA, enquanto que alguns vírus podem apresentar cadeia híbridas DNA/RNA (p.ex.: o vírus da hepatite B). Os retrovírus (p.ex.: o vírus do HIV) possuem em seu genoma somente o RNA.

Quanto maior o número de genes, maior é o tamanho da cadeia de DNA, o que faz com que o DNA dos eucariotas possuam uma estrutura molecular complexa que permita a compressão dos genes dentro do núcleo celular de forma organizada. A organização do DNA em procariotas e em mitocôndrias e cloroplastos possuem uma organização mais simples.

O genoma eucarioto

A molécula de DNA contém as seqüências responsáveis pela síntese das proteínas e dos RNA ribossômico e transportador que, junto com o RNA mensageiro (também sintetizado a partir do DNA) são essenciais para a síntese protéica. Quanto mais complexo o organismo, mais adaptações bioquímicas ele possui o que corresponde a necessidade de mais genes para expressar as características genéticas. A molécula de DNA torna-se cada vez maior e tende a se enovelar para ser contida dentro do núcleo celular.

Na forma linear as duas fitas são livres para rotação sobre seu próprio eixo o que favorece a um emaranhado de DNA que é visível ao microscópio óptico como a **cromatina** nuclear. Quando mais condensada a coloração da cromatina, mais compactado o DNA, quanto mais frouxa a coloração, menos denso é o emaranhado molecular.

Proteínas da classe das **histonas** desempenham papel fundamental na organização dos cromossomos, promovendo o enovelamento da molécula de DNA em torno de quatro tipos de histonas (H2A, H2B, H3 e H4) repetidas duas vezes, formando um octâmero onde a molécula de DNA se enrola cerca de duas vezes e meia (146pb) por sobre o octâmero de histonas, formando uma estrutura na dimensão de 6 x 11nm denominada **nucleossomo**. Cada nucleossomo é afastado de outro através de um dímero de histonas H1 os quais

vão se agrupando formando um bloco compacto de cerca de 30 nucleossomos, afastados entre si por proteínas estabilizadoras que se ligam em seqüências específicas da cadeia do DNA formando uma **estrutura solenóide** e estas organizam-se nos filamentos de cromatina (Figura 3-12).

As histonas são proteínas existentes em todos os eucariotas e o gene que as codifica possui uma seqüência muito semelhante em todos os seres vivos, o que demonstra que ela é uma das proteínas mais conservadas durante a evolução, dada sua importância para a estabilização do DNA.

Os blocos de nucleossomos compactam-se nos cromossomos, que não podem ser vistos em uma observação microscópica de uma célula que não esteja em divisão celular, por um motivo bem simples: durante o período de atividade da célula, os genes devem estar desenrolados ao máximo para facilitar a síntese de RNAm para a iniciar a síntese protéica, o que necessita que os cromossomos estejam na forma desespiralizada.

No entanto, quando se inicia o processo de divisão celular, após a duplicação da molécula de DNA, é necessário que cada nova molécula migre para as células filhas, o que é permitido graças à compactação máxima dos cromossomos, uma vez que somente as enzimas da divisão celular estão ativas e não há a necessidade da síntese de todas as proteínas que normalmente existem na célula.

Na observação dos cromossomos durante a divisão celular, através de técnicas de coloração especiais (métodos citogenéticos), pode-se observar que há áreas mais densas e outras mais frouxas de cromatina, denominadas de **heterocromatina** e **euromatina**, respectivamente (Figura 3-13). Cada região de heterocromatina corresponde a uma área de menor atividade gênica e as de euromatina a de maior concentração de genes ativos.

O método de coloração de cromossomos mais antigo e ainda usualmente utilizado baseia-se no corante de Giemsa que, após técnica de coloração e descoloração seletiva, pode-se estabelecer um padrão de bandas coradas (heterocromatina) e descoradas (euromatina) dos cromossomos estudados em células cujo processo de divisão celular foi interrompido na metáfase (após a duplicação do DNA e

antes da migração para as células filhas), gerando o aspecto característico em forma de X.

Esses cromossomos metafásicos são fotografados e, a partir do padrão de bandas que apresentam, são agrupados, par a par, formando uma espécie de mapa cromossômico, denominado de **cariótipo** (Figura 3-14).

Desta forma, o estudo do número de cromossomos e as regiões onde estão localizados os genes, permite a detecção de inúmeras doenças de origem genética, como a trissomia do cromossomo 23 (síndrome de Down) ou a presença de translocações de regiões de um cromossomo para outro (p.ex.: a transferência de parte do cromossomo 9 para o 22 na leucemia linfóide aguda – o cromossomo Filadélfia).

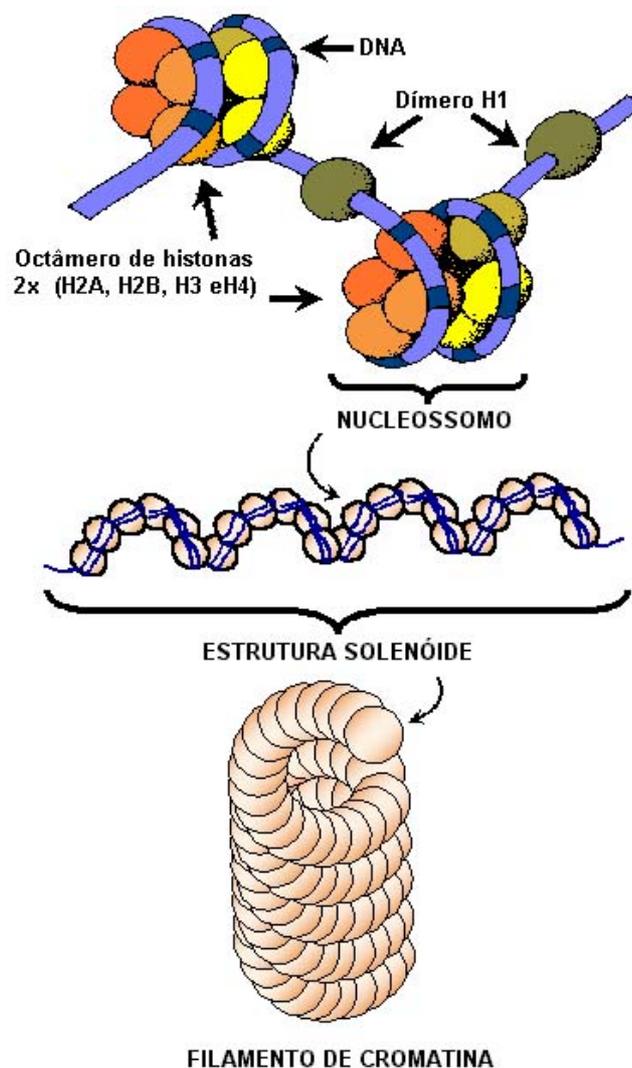


Figura 3-12 – Enovelamento da molécula de DNA sobre as moléculas de histona, formando os nucleossomos e, posteriormente, os cromossomos.

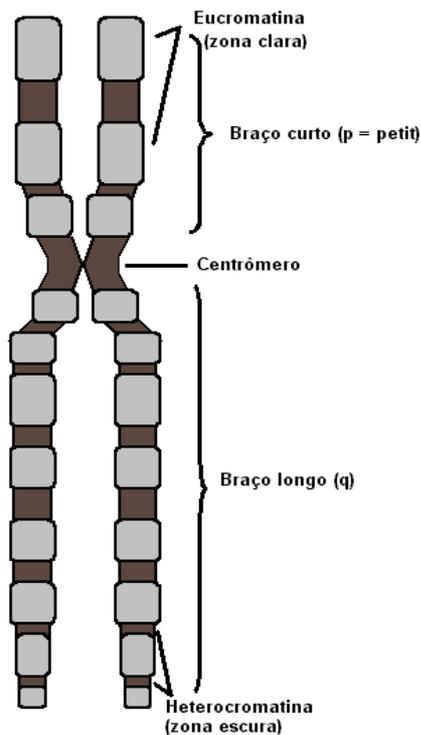


Figura 3-13 – Representação de cromossomo metafásico corado pelo Giemsa revelando um padrão de bandas (bandas G) que individualizam cada cromossomo e permite uma análise do papel dos cromossomos na biologia celular.

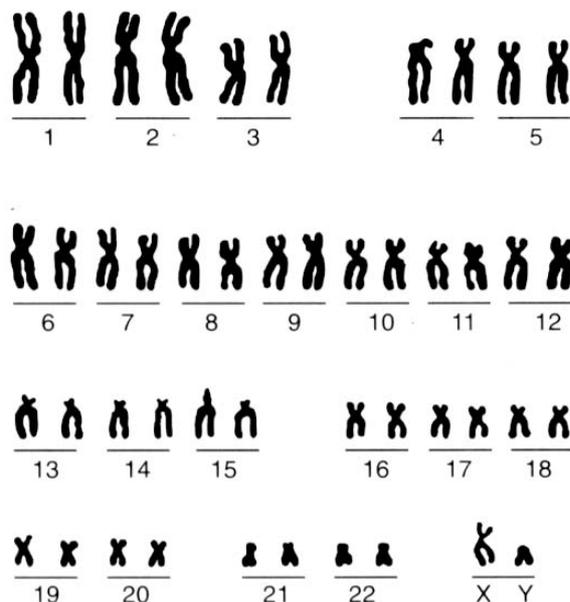


Figura 3-14 – O cariótipo humano revela 23 pares de cromossomos agrupados de acordo com os padrões de bandas apresentados nas colorações citogenéticas.

Anatomia do gene

O gene é uma sequência de DNA que contém o código genético para a síntese de proteínas (a partir do RNAm), RNAt e RNAr. Entretanto, como pudemos estudar anteriormente, o estudo citogenético evidencia áreas no cromossomo onde não há atividade gênica, o que significa dizer que nem todas as regiões da molécula do DNA contêm informações que codificam a síntese protéica. Isto é típico do genoma eucariótico, que, devido a enorme quantidade de gene, tem que envelar tremendamente impossibilitando que todas as regiões do DNA estejam disponíveis para a função codificadora.

Realmente, as regiões não codificadoras foram denominadas, primariamente, de espaços intergênicos, DNA espaçador e até o absurdo nome de “DNA-lixo” evidenciando a idéia de que havia regiões entre os genes que seriam simples espaços destinados a ficar envelado sem conter genes.

Entretanto, com o advento de técnicas de análise da composição molecular do DNA foi descoberto que os genes não são compostos de seqüências codificadoras contínuas, mas que havia regiões não codificadoras dentro do próprio gene. E ainda mais, tanto as regiões não codificadoras entre os genes quanto às de dentro do gene possuíam função na regulação da expressão do gene, funcionando não como uma região simplesmente espaçadora, mas também reguladora.

Dentro do gene, a região que contém as seqüências codificadoras, são denominadas **éxons** e as não codificadoras são denominadas **íntrons** (Figura 3-15).

Como a fita de DNA é dupla, apenas uma delas é responsável pelo código genético, que é “lido” no sentido 5' → 3', a direção em que a enzima DNA polimerase, responsável pela síntese do DNA. Desta forma, a fita complementar pode codificar uma outra proteína, pois possui direcionamento contrário e seqüência nucleotídica diferente.

As células procarióticas possuem genoma mais compacto, sem regiões não codificadoras, e a leitura se faz em ambas as fitas como uma maneira de melhorar a economia da célula, o que faz com o genoma seja mais prático e funcional. Os DNA mitocondrial e

dos plasmídeos também são organizados sem introns ou regiões não codificadoras.

Esta característica, de não haver regiões codificadoras, entretanto, implica em dizer que qualquer mutação que ocorra em um genoma procarioto já provoca uma mudança na seqüência de leitura de um gene, o que pode configurar-se como alteração genética importante.

Em contrapartida, a existência de extensas áreas não codificadoras no genoma humano (cerca de 90% do DNA total), favorece uma certa proteção contra essas mutações, o que, de fato, é observado na alta taxa de variabilidade dessas áreas não codificadoras em relação às regiões dos éxons.

Essa grande variabilidade existente nas regiões não codificadoras são, em sua maioria, repetições de seqüências de DNA que são denominadas de **DNA satélite**. Essas regiões apresentam uma seqüência de DNA de mais de 100pb que se repetem em *tandem* (uma atrás da outra). Outras regiões com cerca de 3 a 5pb são denominadas de **minissatélites** e aquelas com apenas 2pb repetidos são denominadas de **microssatélites**. O número de repetições de certas regiões satélite varia tanto de indivíduo para indivíduo que constituem uma “impressão digital molecular” e são utilizadas para caracterizar o DNA de vítimas de crimes, na investigação de paternidade e em outros casos de medicina forense.

Os genes são flanqueados por regiões que sinalizam para a enzima RNA polimerase onde deve iniciar a sua expressão, na extremidade 5' (frequentemente denominada região *upstream*, em referência à expressão inglesa “rio acima”).

Cerca de 35pb antes do início do gene há uma seqüência do tipo **TTGACA** e na posição de 10pb antes do gene há a seqüência **TATAAT** que são o ponto de acoplamento da RNA polimerase para o início da síntese do RNAm que dará origem, futuramente, à proteína, como será descrito posteriormente. Essas seqüências são as mesmas para todos os tipos de genes.

Na região flanqueadora 3' (ou *downstream* – “rio abaixo”), logo após o término do gene, existe uma região rica em GC, seguida de outra rica em AT, que vão possuir papel fundamental para que a RNA polimerase encerre a síntese do RNAm correspondente àquele gene, conforme será mostrado posteriormente, ainda neste capítulo.

Fazendo parte, ainda, do complexo de regulação da expressão do gene, encontramos regiões muito afastadas do início do gene que exercem ação reguladora de sua expressão, denominadas de **enhancers** (estimuladores).

A molécula de RNA

Existem três tipos básicos de RNA: mensageiro (RNAm), transportador (RNAt) e ribossômico (RNAr).

A forma estrutural do RNA é de uma **fitá simples em espiral** que se arranja, na maioria das vezes, formando **pregas** entre si, em virtude de pontes de hidrogênio ocorridas entre as bases nitrogenadas dos nucleotídeos da própria cadeia. Estas pregas dão a conformação e um **grampo de cabelo** (*hairpins*) às regiões onde elas ocorrem e são estruturas características das moléculas de RNAt e RNAr (Figura 3-16).

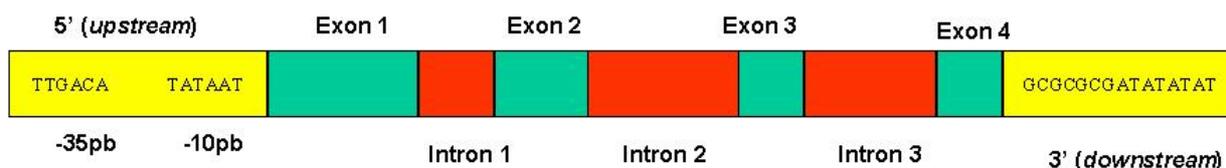


Figura 3-15 – Esquema de um gene eucariota. As zonas amarelas correspondem às regiões flanqueadoras que contêm as regiões promotoras -35 e -10 (na extremidade 5') e a região de terminação com os sítios GC e AT (na extremidade 3'). As regiões codificadoras (éxons) e as não codificadoras estão representadas em verde e vermelho, respectivamente.

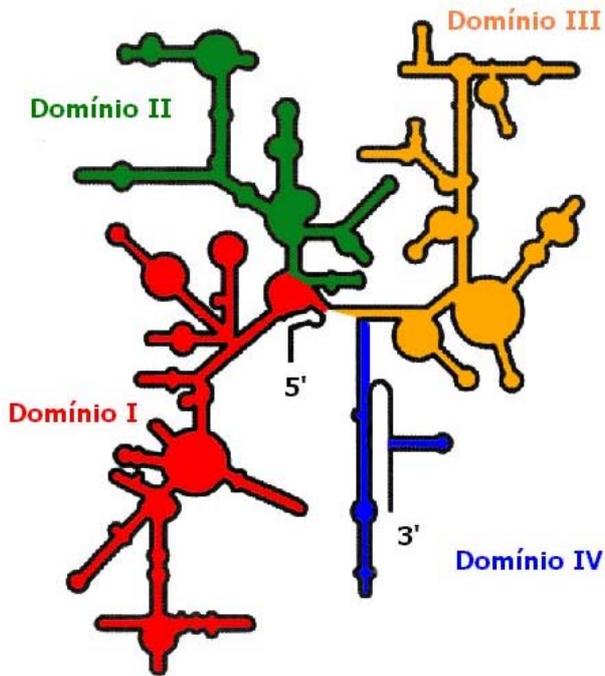


Figura 3-18 – Representação esquemática de uma molécula de RNAr 16s de *E. coli* e seus quatro domínios. Notar os *hairpins* frequentes em toda a molécula.

Os ribossomos são compostos por duas subunidades de RNAr que diferem de acordo com o coeficiente de sedimentação obtido por ultracentrifugação (S). Em ribossomos eucariotas, é uma organela de 80S, composto pelas subunidades 40S e 60S ligados a 33 e 49 proteínas, respectivamente. O cromossomo procariota é menos complexo, possuindo duas subunidades de 30S e 50S ligados a 21 e 31 proteínas, respectivamente, constituindo uma unidade de 70S (Figura 3-19).

No RNAr de procariotas existem seqüências específicas onde o RNAm se fixa (**seqüências de Shine-Dalgarno**) e a partir da qual são adicionados os aminoácidos oriundos dos RNAt. Entretanto, os eucariotas não possuem tais seqüências, devendo haver um mecanismo de leitura apropriado para identificar o ponto de início da síntese protéica.

É comum vários ribossomos organizarem-se em fileira (**polissomos**) sintetizando várias moléculas de proteína a partir de uma única molécula de RNAm, sendo que os polissomos de eucariotas são bem menores que os procariotas. Há a existência, também, de várias bases nitrogenadas modificadas, como a pseudouridina, 4-tiourina, inosina, 1-

metilguanosa, N-isopenteniladenina, diidrouridina e ribotimidina.

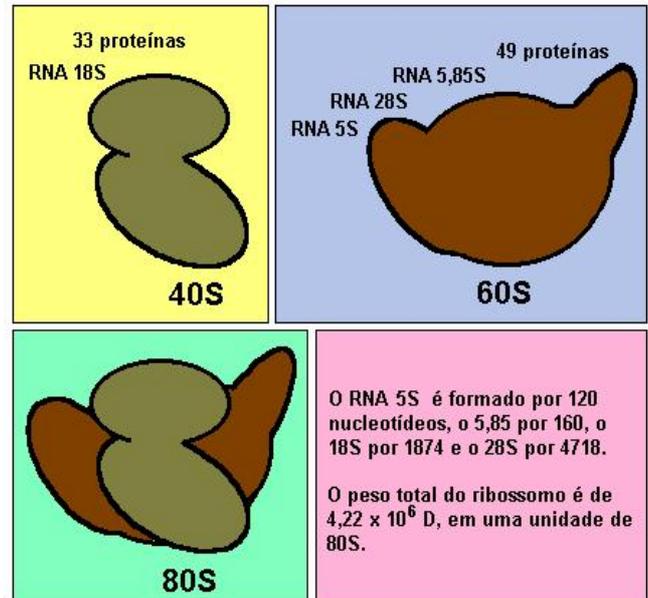


Figura 3-19 – Representação esquemática da conformação tridimensional de um ribossomo eucariota.

Uma classe de RNA existente somente em eucariotas é o pequeno RNA nuclear ou **snRNA** (*small nuclear RNA*). Possui em torno de 200 nucleotídeos (10S) e estão ligados a proteínas, formando as pequenas partículas de ribonucleoproteínas nucleares ou **snRNP** (*small nuclear ribonucleoprotein particles*) que possuem a função na liberação do RNAm do núcleo para o citoplasma.

DNA extra genômico

A principal forma de DNA que não faz parte da composição normal do genoma de um ser vivo, corresponde ao **DNA mitocondrial** e **DNA dos cloroplastos** em eucariotas e o **DNA de plasmídios** em bactérias. Uma espécie peculiar de DNA é o DNA viral, que possui características próprias, podendo ser em fita simples dupla ou ainda híbrida com RNA.

As moléculas de **DNA mitocondrial e dos cloroplastos** são fechadas, circulares, em cadeia super-helicoidal em sua maioria. Em algumas plantas, fungos e protozoários o DNA mitocondrial é linear. São tão semelhan-

tes em forma e função, que se acredita que são evolucionariamente relacionados.

O DNA mitocondrial varia enormemente de tamanho: em animais são relativamente pequenos (menos que 20kb), em leveduras são um pouco maiores (cerca de 80kb) e em plantas superiores são muito grandes (centenas a milhares de kb). Apesar de haver poucas regiões não codificadoras, quanto maior a molécula de DNA mitocondrial, maior a presença de zonas não codificadoras.

Intrigantemente, DNA mitocondrial é mais semelhante ao DNA de bactérias, do que com o DNA do núcleo da própria célula, o que leva à especulação que os eucariotas originariamente não possuíam mitocôndrias e, portanto, não sintetizavam ATP em larga escala. Em determinado momento da evolução celular, houve uma relação simbiótica com bactérias que possuíam as enzimas necessárias para esta função, convertendo-se nas mitocôndrias, hoje uma organela essencial para os eucariotas, fazendo parte da bagagem genética da célula.

A estrutura das mitocôndrias oferecem sérios problemas para a tradução do DNA mitocondrial, havendo **ribossomos mitocondriais** que se ligam ao RNAm de maneira não usual, possuindo um código genético próprio, diferente do genoma nuclear.

Um fato importante para o estudo do DNA mitocondrial, é que durante a penetração do espermatozóide no óvulo, para a formação do zigoto, a região da cauda é perdida e, com ela, a porção que contém as mitocôndrias, responsáveis pela geração da energia necessária para a movimentação dos espermatozoides, desta forma, a herança mitocondrial é, predominantemente, materna.

Possuindo uma taxa evolutiva cerca de 10 vezes maior que o genoma nuclear, o DNA mitocondrial (assim com os íntrons) possui alta variabilidade entre as espécies, fazendo com seja alvo de estudos que estabelecem a distância evolutiva entre as espécies, ajustando uma espécie de relógio molecular e esclarecendo relacionamentos filogenéticos que os métodos tradicionais de observação morfológica ou de divergência bioquímica não são capazes de diferenciar.

O **DNA de plasmídios** de bactérias é circular e pequeno e codifica genes que garan-

tem a resistência a antibióticos. São passados de uma bactéria a outra através do processo de conjugação bacteriana, onde uma bactéria emite uma espécie de “tubo” para a outra bactéria, transferindo seu plasmídio.

Os plasmídios são utilizados largamente em experimentos laboratoriais, como vetores de pesquisas que manipulam o DNA do plasmídio para aceitarem seqüências de DNA de outros organismos. Desta forma, as bactérias que “aceitam” esse plasmídio modificado podem duplicar o fragmento de DNA inserido artificialmente o duplica-lo muitas vezes fazendo com que um organismo que antes não possuía determinada seqüência de DNA (a bactéria) passe a expressar um novo genótipo. Esses experimentos são denominados de **clonagem bacteriana** e foram desenvolvidos na década de 80, junto com a manipulação do genoma viral, sendo os primeiros e bem sucedidos experimentos de engenharia genética que deram início a uma era de grandes avanços na ciência, mas também de grandes preocupações éticas que vão desde à patente de seqüências de DNA até a clonagem de seres humanos.

EXERCÍCIOS

1. O que são PRIONS?
2. Descreva a anatomia do gene eucarioto.
3. Quais as principais características estruturais das moléculas de DNA e RNA?
4. No que consiste o DNA extra-genômico e qual a sua importância para os estudos de biologia molecular?

REFERÊNCIAS DA INTERNET

Departamento de Bioquímica Médica da UFRJ
<http://www.bioqmed.ufrj.br/sonda/>

Index of Genes on Human Chromosomes
<http://wehih.wehi.edu.au/gdbreports/>

Laboratório Genômico de Análise de DNA
<http://www.genomic.com.br/>

DNA na investigação criminal
<http://www.laboratoriopasteur.com.br/>

Capítulo 4

Aminoácidos e Proteínas

As proteínas são as moléculas orgânicas mais abundantes nas células e correspondem a cerca de 50% ou mais de seu peso seco. São encontradas em todas as partes de todas as células, tendo funções fundamentais na lógica celular. Em virtude desta importância qualitativa e quantitativa, as proteínas têm sido largamente estudadas e seus segredos desvendados, no que diz respeito à sua síntese ou aproveitamento metabólico.

As proteínas são macromoléculas de alto peso molecular, polímeros de compostos orgânicos simples, os α -aminoácidos. Nas moléculas protéicas os aminoácidos se ligam covalentemente, formando longas cadeias não ramificadas, através de **ligações peptídicas** envolvendo o radical **amino** (-NH₂) de um aminoácido e o radical **ácido** (-COOH) de um outro, havendo a liberação de uma molécula de água durante a reação (Figura 4-1).

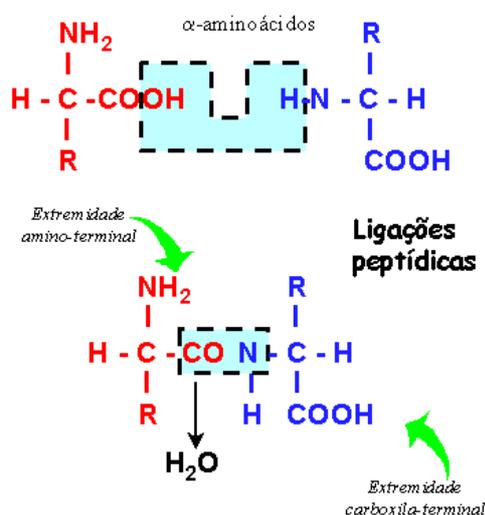


Figura 7-1: A ligação peptídica ocorre entre o grupamento -COOH de um aminoácido com o grupamento -NH₂ de outro. O primeiro aminoácido da cadeia peptídica é aquele que possui o grupamento amino-terminal e o último, o que possui o livre o grupamento carboxila-terminal. O grupamento R sempre ocupa posição oposta ao próximo, devido ao C α ser assimétrico, o que vai contribuir para a forma tridimensional da proteína.

A união entre dois aminoácidos, forma um **dipeptídeo**, assim como três unem-se formando um **tripeptídeo** e assim sucessivamente, sendo que a união de vários aminoácidos irá dar origem a uma cadeia **polipeptídica**. Algumas proteínas são formadas de apenas uma cadeia polipeptídica, enquanto outras são formadas por três, quatro ou mais. O que as diferencia umas das outras é a seqüência em que estarão dispostos os aminoácidos, aliados a estrutura tridimensional assumida pela molécula.

São conhecidos 20 aminoácidos (Alanina, Arginina, Aspartato, Asparagina, Cisteína, Fenilalanina, Glicina, Glutamato, Glutamina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Prolina, Serina, Tirosina, Treonina, Triptofano e Valina) encontrados nas moléculas de proteínas, com sua síntese controlada por mecanismos genéticos, envolvendo a replicação do DNA e transcrição do RNA.

A metade dos aminoácidos é sintetizada pelo organismo e vai suprir as necessidades celulares; aqueles que não são sintetizados precisam estar presentes na dieta e são chamados de **aminoácidos essenciais** e os **aminoácidos não-essenciais** aqueles que são sintetizados no organismo.

A função energética dos aminoácidos não é, certamente a sua principal função, uma vez que carboidratos e lipídios são melhores aproveitados no metabolismo energético. Entretanto, os aminoácidos são importantes fontes de energia durante o exercício físico intenso e de longa duração fornecendo substrato para a neoglicogênese (**aminoácidos glicogênicos**). Alguns aminoácidos, fornecem substratos para a síntese de acetil-CoA que é aproveitada no ciclo de Krebs, mas não podem ser convertidos em glicose (**aminoácidos cetogênicos**). Outros conseguem fornecer substratos para ambas as vias (**aminoácidos ceto-glicogênicos**). Em estados carenciais

nutricionais, muitas vezes são os aminoácidos dos músculos e das proteínas plasmáticas que fornecem a energia necessária para a manutenção da vida. Na Tabela 4-1 pode-se observar vários exemplos desta multifuncionalidade.

Tabela 4-1: Exemplos das principais funções proteicas.

Proteína	Função
Hemoglobina, mioglobina	Transporte de gases respiratórios
Imunoglobulinas	Defesa orgânica (anticorpos)
Insulina, Glucagon, A-CHT, GH	Hormônios
Angiotensina	Polipeptídeo responsável pela regulação do metabolismo hídrico
Receptores celulares	Comunicação celular
Miosina, Actina	Contração muscular
Tubulina	Citoesqueleto (divisão célula)
Ovoalbumina (do ovo), zeína (do milho), caseína (do leite)	Reserva energética
Albumina Humana	Transporte plasmático de compostos endógenos e exógenos
Queratina (unhas), colágeno (tecido conjuntivo), elastina (tendões), fibroína (teia de aranha)	Estrutural
Hexoquinase, DNAPolimerase, tripsina, lipase, amilase	Enzimas

O grupo funcional (amino e ácido) é constante em todos os aminoácidos, variando a composição da cadeia carbonada, denominada de grupo R (Figura 7-1). Esta grande variabilidade proporciona arranjos incontáveis entre as cadeias peptídicas em sua estrutura tridimensional bem como na função da proteína, uma vez que os diferentes aminoácidos possuem diferentes propriedades químicas que, em conjunto, serão responsáveis pela função da proteína.

O estudo da composição e polaridade do grupo R permite agrupar os aminoácidos em quatro classes distintas:

a) Aminoácidos com grupo R apolar ou hidrofóbico: são os menos solúveis, devido à ausência de grupos hidrofílicos no grupo R. São eles:

- **Cadeia alifática hidrocarbonada:** alanina, leucina, isoleucina, valina e prolina;
- **Anel aromático:** fenilalanina e triptofano;
- **Enxofre:** metionina.
- **Hidrogênio:** glicina.

A alanina representa o aminoácido mais solúvel deste grupo e a prolina é, na realidade, um **iminoácido** onde o grupo R é um substituinte do aminogruppo.

A glicina é o aminoácido mais simples em virtude de possuir como R apenas um átomo de hidrogênio (apolar). Algumas vezes é classificado como polar, pois o grupo funcional lhe confere certa solubilidade.

b) Aminoácidos com grupo R polar não-carregado: possuem grupos hidrofílicos na cadeia carbonada que não se ionizam, porém conferem maior solubilidade ao aminoácido. São eles:

- **Hidroxila:** serina, treonina e tirosina;
- **Grupo Amida:** asparagina e glutamina;
- **Sulfidril:** cisteína;

A cisteína e a tirosina tem os grupos R mais polares, sendo portanto os mais solúveis desta classe. A cisteína, frequentemente, ocorre nas proteínas em sua forma oxidada, a **cistina**, na qual as sulfidrilas (-SH) estão unidas formando **pontes dissulfeto** (S-S) que são ligações covalentes importantes na estabilização da molécula proteica.

A asparagina e a glutamina são amidas do ácido aspártico e do ácido glutâmico, respectivamente.

c) Aminoácidos com grupo R polar carregado positivamente (básicos): lisina, arginina e histidina; todos possuem grupo R de 6 carbonos e a carga positiva localiza-se em um átomo de nitrogênio do R.

d) Aminoácidos com grupo R polar carregado negativamente (ácidos): ácido aspártico e ácido glutâmico. São citados como aspartato e glutamato em virtude de se ionizarem em pH fisiológico adquirindo carga negativa no grupo carboxila (-COO⁻).

Na Figura 4-2 estão representados todos os aminoácidos e na Tabela 4-2 estão agrupadas as principais características dos aminoácidos utilizadas em sua classificação.

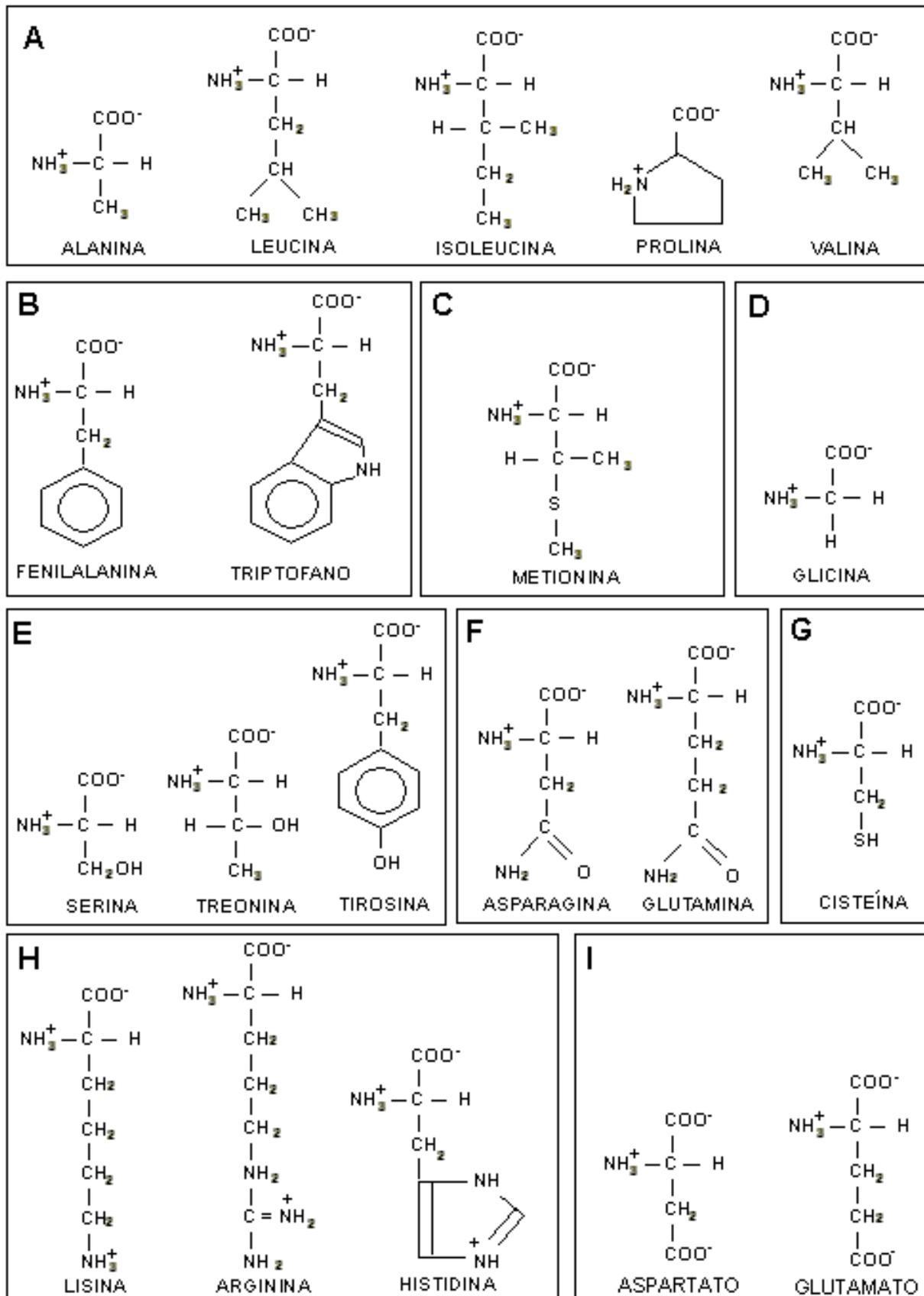


Figura 4-2 - Os aminoácidos presentes nas proteínas agrupados de acordo com a polaridade do grupamento R. A) apolares com R = cadeia hidrocarbonada; B) apolares com R = anel aromático; C) apolar com R contendo S; D) apolar com R = H; E) polar não carregado com R contendo OH; F) polar não carregado com R = amida; G) polar não carregado com SH; H) polar carregado positivamente (bases); I) polares carregados negativamente (ácidos).

Tabela 4-2 - Principais características dos aminoácidos relacionadas com suas funções.

Aminoácidos	Símbolo	Ceto- gênico	Glico- gênico	Essen- cial	Não- essen- cial	Grupamento R		
						Polar		Apolar
						Não- carregado	Carregado (-) (+)	
Alanina	Ala (A)		X		X			X
Arginina ⁽¹⁾	Arg (R)		X	X			X	
Aspartato	Asp (B)		X		X		X	
Asparagina	Asn (N)		X		X	X		
Cisteína	Cys (C)		X		X		X	
Fenilalanina	Phe (F)	X		X				X
Glicina ⁽²⁾	Gly (G)		X		X			X
Glutamato	Glu (Z)		X		X		X	
Glutamina	Gln (Q)		X		X	X		
Histidina	His (H)		X	X			X	
Isoleucina ⁽³⁾	Ile (I)	X	X	X				X
Leucina	Leu (L)	X		X				X
Lisina	Lys (K)	X		X			X	
Metionina	Met (M)		X	X				X
Prolina	Pro (P)		X		X			X
Serina	Ser (S)		X		X	X		
Tirosina ⁽⁴⁾	Tyr (Y)	X			X	X		
Treonina ⁽³⁾	Thr (T)	X	X	X		X		
Triptofano ⁽³⁾	Trp (W)	X	X	X				X
Valina	Val (V)		X	X				X

⁽¹⁾ A arginina é produzida no hepatócito, porém consumida em grande escala na síntese da uréia, o que faz com que seja classificada como essencial (pelo menos em crianças).

⁽²⁾ O R é um hidrogênio, o que faz com que o aminoácido, como um todo, possua certa polaridade devido ao grupamento funcional, uma vez que o grupamento R é muito pequeno.

⁽³⁾ Aminoácido glicocetogênicos.

⁽⁴⁾ A tirosina é sintetizada no ser humano a partir da fenilalanina, um aminoácido essencial

Aminoácidos raros e não-codificados

Além de serem os blocos constituintes das proteínas, existem vários aminoácidos que não estão presentes em nenhuma molécula de proteínas (**aminoácidos não-codificados**), como, por exemplo: **citrulina** e **ornitina** (intermediários do ciclo da uréia); **homocisteína** e **homoserina** (intermediários do metabolismo dos aminoácidos); **ácido γ -aminobutírico** (GABA, um neurotransmissor); **cannavanina**, **ácido djenkóico** e **β -cianoalanina** (aminoácidos tóxicos existentes em alguns fungos); **γ -carboxi-glutamato** (formado por carboxilação do glutamato); **fosfo-aminoácidos** (formados por fosforilação da hidroxila da serina e treonina ou no grupo fenólico da tirosina).

Outros aminoácidos têm ocorrência relativamente rara e são isolados em alguns tipos de proteínas. Esses **aminoácidos raros** são derivados de outros aminoácidos que se modificaram, quimicamente, para favorecer uma determinada função bioquímica da proteína. Por exemplo: **4-hidroxi-prolina** (derivado da prolina, encontrado em abundância na proteína estrutural colágeno), **5-hidroxi-lisina** (derivado da lisina, presente, também, no colágeno), **desmosina** e **iso-desmosina** (na proteína estrutural elastina, resultantes da união de quatro moléculas de lisina com os grupamentos R formando um anel que permite a elasticidade característica da proteína).

Os aminoácidos não se armazenam, ou pelo menos não possuem tecido destinado somente para esse fim. Desta forma, a maioria deles é destinada para a síntese de proteínas e o excesso proveniente da alimentação, se não é degradado no metabolismo energético, é destinado para a síntese de várias moléculas

importantes para o organismo como as **purinas** e **pirimidinas** (aspartato e glutamina); **esfingolipídios** (serina); **histamina** (histidina); **tiroxina**, **melanina**, **dopamina** e **epinefrina** (tirosina); **serotonina**, **melatonina** e **NAD⁺** (triptofano); **purinas** e **porfirinas** (glicina).

Erros inatos do metabolismo

Na ausência das enzimas responsáveis pela degradação de aminoácidos, há o seu acúmulo no sangue com a excreção urinária e, conjuntamente, o aparecimento de sintomatologia características de diversas síndromes genéticas conhecidas como erros inatos do metabolismo. Essas alterações são devidas a erros genéticos na expressão ou controle das enzimas envolvidas no metabolismo de aminoácidos e são potencializadas quando há aumento da ingestão de aminoácidos.

É o caso da **fenilcetonúria** onde a deficiência da enzima fenilalanina-hidroxilase (ou de co-fatores) induz a um aumento da **fenilalanina** no sangue e o aumento de sua excreção urinária, levando a distúrbios neurológicos severos.

Esta doença metabólica é identificada ainda em crianças recém-nascidas pela dosagem da fenilalanina no sangue (teste do pezinho).

A fenilalanina é o precursor da síntese de tiroxina e outras doenças estão envolvidas em decorrência de deficiência no metabolismo da tiroxina, como o **albinismo** decorrente de falha na síntese de **melanina** (pigmento escuro da pele e pêlos), a **tirosinose**, o **cretinismo** e a **alcaptonúria**.

Na Figura 4-3 estão esquematizados os passos metabólicos envolvidos nessas doenças e que serão melhores definidos em capítulos posteriores, durante o estudo do metabolismo das proteínas.

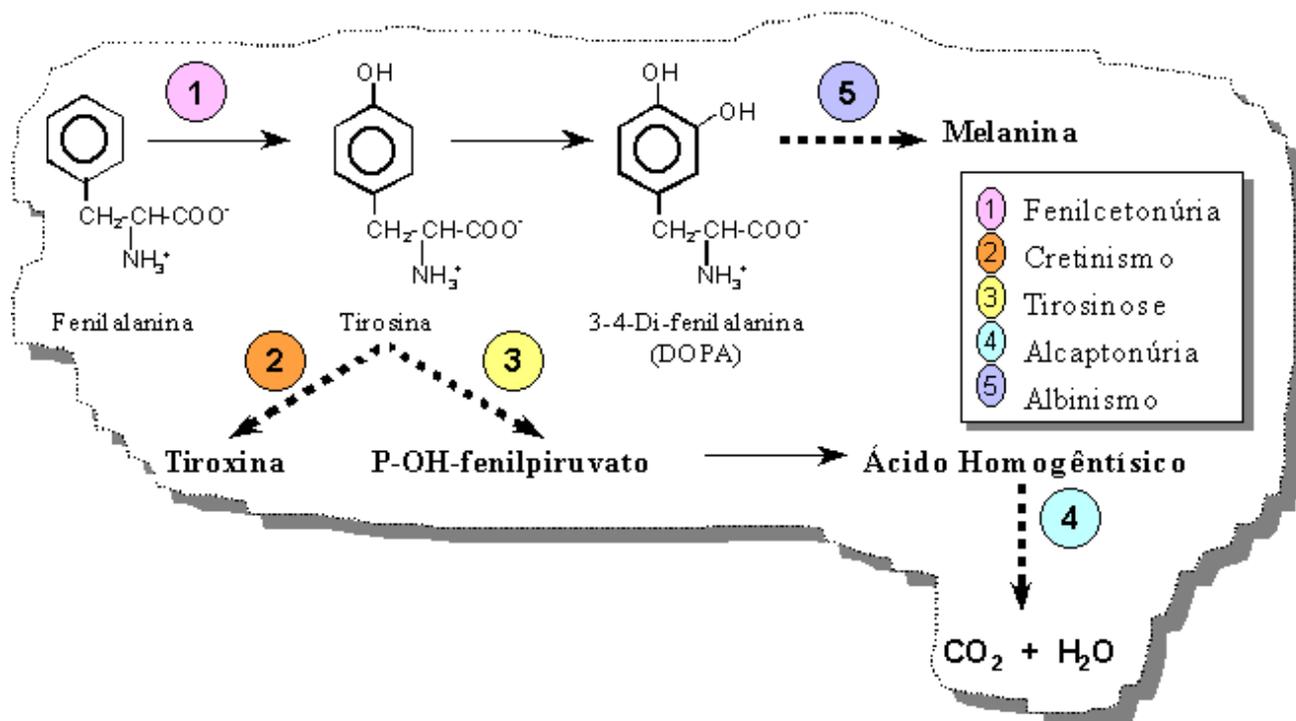


Figura 4-3 - Defeito na síntese ou controle das enzimas das vias metabólicas de aminoácidos podem levar a doenças conhecidas como *erros inatos do metabolismo*. As setas pontilhadas indicam a existência de mais de um passo metabólico. As enzimas deficientes são: 1) fenilalanina-hidroxilase (ou co-fatores como a 5,6,7,8-tetraidropterina); 2) via de síntese do hormônio tireoidiano tiroxina; 3) tirosinase; 4) homogentisato-dioxigenase; 5) via de síntese da melanina nos melanócitos.

Propriedades ácido-básicas dos aminoácidos

Os grupamentos amino e ácido, encontram-se na forma ionizada quando em solução. Dependendo do pH, o grupamento amino com carga positiva (forma catiônica) ou o grupamento ácido com carga negativa (forma aniônica), podem predominar. Porém, em determinado pH (**pH isoelétrico**), haverá somente uma forma dipolar (ou seja, positiva e negativa ao mesmo tempo), onde será observada uma neutralidade elétrica na molécula.

Estes íons dipolares, são também chamados de **zwitterions** (expressão alemã que ao pé da letra significaria algo como "íons hermafroditas"), predominam no pH isoelétrico (pHi). A forma catiônica predominará em pH abaixo do pHi, enquanto que a forma aniônica predominará em pH acima do pHi, uma vez que abaixo ou acima do pHi haverá deficiência ou excesso de H⁺ na solução, respectivamente, o que varia a carga elétrica pois o grupamento COO⁻ receberá H⁺ e o NH₃⁺ doará ser H⁺.

O valor do pHi varia de acordo com o aminoácido e corresponde a um valor que serve como identificador e classificador dos aminoácidos de acordo com a variação do pH (Tabela 4-3). É um valor experimental determinado, conhecendo-se a constante de dissociação das reações químicas de igualdade de concentração entre as formas catiônicas com a forma dipolar (pK1) que ocorre em pH ácido e entre a forma aniônica com a forma dipolar (pK2) que ocorre em pH básico. O valor médio entre essas duas constantes, corresponde ao pHi, que é um dado específico para cada aminoácido, quando submetido a uma titulação:

$$pH_i = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$$

Os valores de pK1 e pK2 correspondem aos valores de pH onde o aminoácido funciona como um tampão durante uma curva de titulação.

Para melhor entender esses conceitos, considere que se realizássemos uma titulação de um ácido por uma base, teríamos, inicialmente, um pH ácido que iria aumentando proporcionalmente ao acréscimo de base (Figura 4-4).

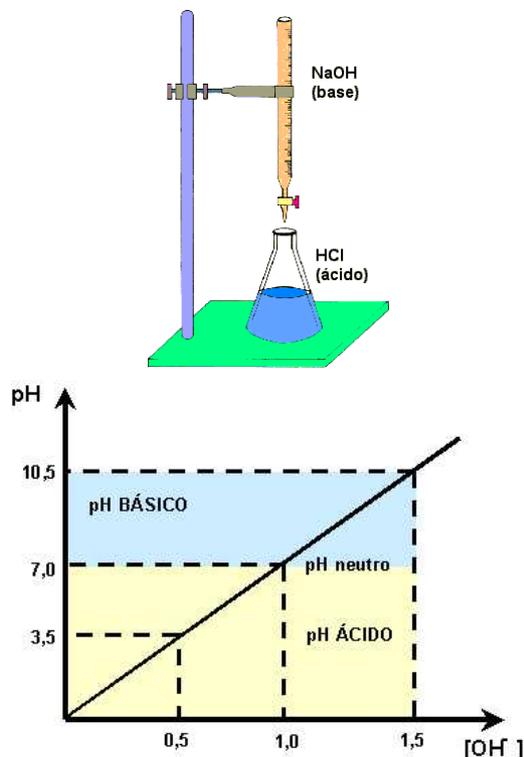


Figura 4-4 - Em uma titulação convencional de um ácido por uma base, a adição de base modifica o pH ácido original para básico passando pelo pH neutro 7,0.

Esse aumento proporcional no valor o pH se dá porque cada molécula de base adicionada neutraliza uma de ácido (formando água e o sal correspondente) até o valor de equivalência entre a quantidade de bases e ácidos, onde o pH é neutro (pH=7,0). É um valor tênue, pois qualquer quantidade de base adicionada a mais eleva o pH para a faixa alcalina.

No entanto, se esta mesma titulação fosse realizada com a adição de um aminoácido no meio a ser titulado, um gráfico representando a elevação do pH demonstraria duas zonas de estabilização (uma em pH ácido e outra em pH básico) indicando que há duas zonas de equilíbrio químico, onde não há a variação do pH mesmo com a adição da base no meio ácido (Figura 4-5). Essas regiões demonstram que os aminoácidos são respon-

sáveis por uma função tamponante (evitam variações bruscas de pH).

Uma solução tampão corresponde a uma solução em equilíbrio entre um ácido fraco e sua base conjugada. No caso do aminoácido a forma ácida corresponde àquela que doa H^+ (forma catiônica) e a base àquela que recebe o H^+ (forma aniônica). Como dentro de uma molécula de aminoácido a perda e ganho de H^+ é um fenômeno interno, a forma dipolar corresponde à base conjugada ou ao ácido fraco, dependendo do pH.

Como a forma dipolar é a que ocorre no pH_i , toda vez que o pH cai abaixo do valor do pH_i (acidificação do meio), o aminoácido recebe o H^+ adicionado através da extremidade COO^- tornando-se um **cátion**. Quando o pH eleva-se acima do valor do pH_i (alcalinização do meio), o aminoácido torna-se um **ânion** devido à doação do H^+ pelo grupamento NH_3^+ (Figura 4-5).

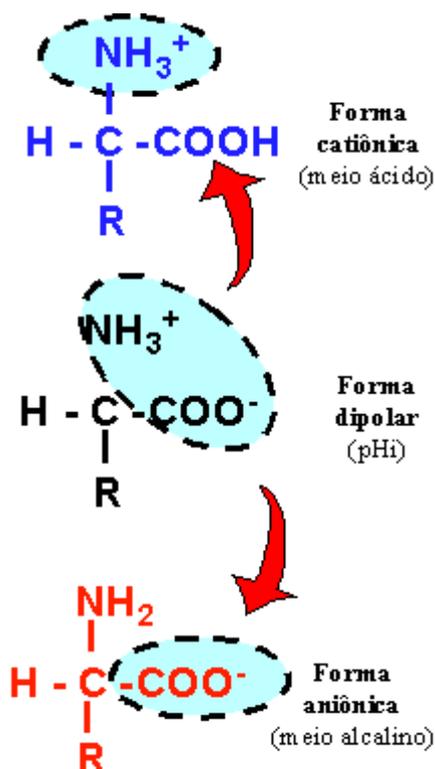


Figura 4-5 - As três formas carregadas dos aminoácidos. A forma dipolar corresponde àquela que contém um pólo positivo em NH_3^+ e outro negativo em COO^- (a carga final é neutra) e corresponde à única forma existente no pH_i . A forma catiônica está presente em qualquer valor de pH abaixo do pH_i , enquanto que a aniônica é típica do aumento do valor do pH acima do valor do pH_i .

Se relacionarmos em um gráfico o pH em função dos equivalentes de uma base adicionada a uma solução ácida de um aminoácido, observaremos os pontos fundamentais no comportamento ácido-básico dos aminoácidos (Figura 4-6).

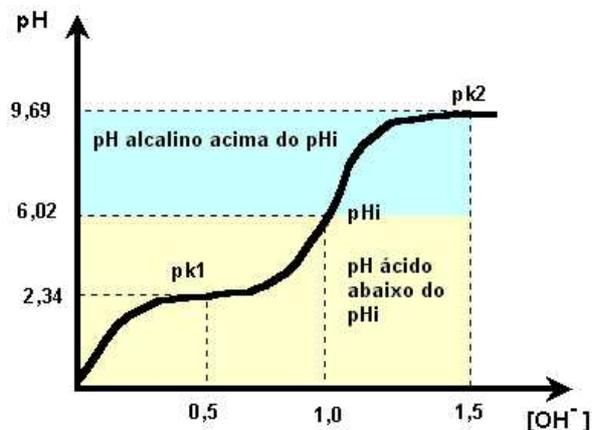


Figura 4-6 - A curva de titulação da glicina. O pH_i (somente formas dipolar isoeletricas) corresponde à média entre os valores de pK_1 ([dipolar] = [catiônica]) e pK_2 ([dipolar] = [aniônica]).

No início da titulação, teoricamente, só existe a forma catiônica em virtude de o aminoácido funcionar como um receptor de prótons, ou seja, como uma base. Ao adicionar uma base (OH^-) ao sistema, começa a haver a neutralização com o aparecimento da forma dipolar até um determinado ponto em haverá igualdade de concentração entre as duas formas, entrando o sistema em equilíbrio, correspondente ao pK_1 .

Prosseguindo a titulação, com o aumento do pH em virtude do aumento gradual da concentração de base, começará a predominar a forma dipolar com a queda proporcional da forma catiônica até um ponto onde só haverá a forma dipolar. Neste ponto, o pH corresponderá ao pH isoeletrico (pH_i) onde o sistema se apresentará eletricamente neutro.

Ao se adicionar mais base, há o aparecimento da forma aniônica até um determinado ponto em que haverá igualdade na concentração entre a forma dipolar e a aniônica, entrando o sistema, novamente, em equilíbrio agora entre a forma dipolar e a forma aniônica, correspondente ao pK_2 .

Adicionando mais base, haverá a predominância da forma aniônica até o pH 14 onde, teoricamente, só haverá a forma catiônica.

Na Tabela 4-3, podemos observar os valores do pHi dos 20 aminoácidos codificados e os valores de pK1 e pK2.

Alguns aminoácidos apresentam um terceiro platô de estabilidade em sua curva de titulação (pK3) que correspondente a um terceiro momento de equilíbrio durante a titulação, induzido pelo grupamento R (o pK3 é freqüentemente denominado de pKR).

Observa-se, porém, que somente nos aminoácidos de grupamento R carregado positivamente (**arginina, histidina e lisina**) possuem o pHi resultante entre a média do pK2 e o pK3, sendo o valor do pK1 sem valor para a determinação do pHi. Especialmente nesses aminoácidos, o valor do pHi estará sempre na faixa básica o que não acontece com os demais aminoácidos de R polar.

Tabela 4-2: Valores de pK e pHi de aminoácidos a 25°C.

Aminoácido	pK1	pK2	pK3 (pKR)	pHi
Alanina	2,34	9,69	-	6,00
Arginina (*)	2,17	9,04	12,48	10,76
Asparagina	2,02	8,80	-	5,41
Aspartato	1,88	3,65	9,60	2,77
Cisteína	1,96	8,18	10,28	5,07
Fenilalanina	1,83	9,13	-	5,48
Glicina	2,34	9,60	-	5,97
Glutamato	2,19	4,25	9,67	3,22
Glutamina	2,17	9,13	-	5,65
Histidina (*)	1,82	6,0	9,17	7,59
Isoleucina	2,36	9,68	-	6,02
Leucina	2,36	9,60	-	5,98
Lisina (*)	2,18	8,95	10,53	9,74
Metionina	2,28	9,21	-	5,74
Prolina	1,99	10,60	-	6,30
Serina	2,21	9,15	-	5,68
Tirosina	2,20	9,11	10,07	5,66
Treonina	2,63	10,43	-	6,53
Triptofano	2,38	9,39	-	5,89
Valina	2,32	9,62	-	5,96

(*) Os aminoácidos básicos possuem valor de pHi correspondente à média entre o pK1 e o pK3 (pKR) sendo os únicos com pHi na faixa básica de pH. (Adaptado de VIEIRA, 1991, p.47).

Levando em consideração que o PK3 influencia somente na determinação do pHi de aminoácidos básicos, a fórmula que define com mais precisão o valor do pHi é:

$$pHi = \frac{pKn + pK(n+1)}{2}$$

Onde **n** é o número de grupos básicos (+) existentes na molécula. Assim, todos os aminoácidos possuem $n = 1$ devido ao grupamento NH_3^+ , com exceção dos aminoácidos básicos arginina, histidina e lisina que possuem $n = 2$, pois o R possui um N^+ (ver fórmula estrutural na Figura 4-2).

Essas informações acerca da propriedade ácido-básica dos aminoácidos são fundamentais para a compreensão da função das proteínas como um tampão intracelular e, também, dos métodos de identificação dos aminoácidos e de separação das proteínas que se baseiam na capacidade de aminoácidos e proteínas mudarem de carga elétrica de acordo com o pH do meio.

Desta forma, se tivermos uma solução contendo uma mistura de três aminoácidos como a alanina, arginina e aspartato, basta variar o pH do meio nos valores de seu pHi (ver Tabela 4-2) que obteríamos a mudança de carga de forma diferente. Ajustando-se o pH desta mistura primeiramente para 2,77 somente o aspartato assumiria 100% de forma dipolar e não seria atraído, portanto pelo campo eletromagnético, enquanto que os demais aminoácidos assumiriam carga elétrica positiva pois o pH 2,77 está abaixo do valor de seus pHi. Da mesma forma pode-se identificar os demais aminoácidos sabendo-se o seu pHi.

Vários métodos de purificação, separação, identificação e dosagem de aminoácidos e proteínas utilizam essa propriedade ácido-básica como fundamento do método (como será abordado no capítulo sobre instrumentação laboratorial).

Estrutura das proteínas

Devido à característica **anfótera** dos aminoácidos (podem ser cátions ou ânions) e a capacidade de modificação da carga elétrica do grupamento R observada em vários aminoácidos (Tabela 4-2) as proteínas terão conformação estrutural bastante diversificada

uma vez que os aminoácidos se relacionarão entre si de maneira variada.

Entretanto, quando há a ligação peptídica, os grupamentos amino e ácido fundem-se formando uma ligação covalente extremamente rígida devido a um rearranjo entre os elétrons da ligação peptídica, formando uma dupla ligação e polarizando a ligação peptídica (Figura 4-6).

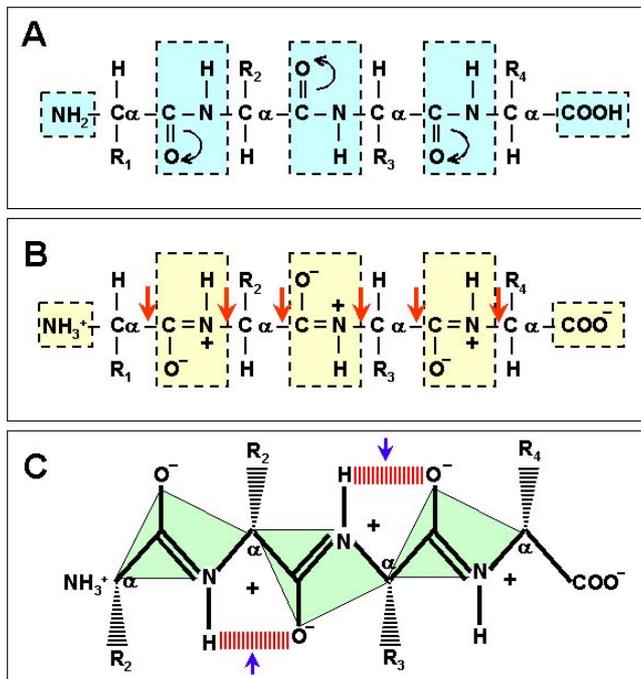


Figura 4-6 - Propriedades das ligações peptídicas em um tetrapeptídeo. A) Esquema didático das ligações peptídicas; as setas indicam que os elétrons da dupla ligação são atraídos pelo oxigênio da carboxila. B) Ligações peptídicas em equilíbrio de ressonância; a ligação dupla agora formada entre C e N dão rigidez à ligação e as setas indicam o ponto flexível ($C\alpha$). C) Representação do plano tridimensional das ligações peptídicas; as setas indicam as pontes de hidrogênio que estabilizam a estrutura.

A flexibilidade dada pelo $C\alpha$ é devido ao fato de ele ser assimétrico (ligado a quatro grupos diferentes: NH_3^+ , COO^- , H e R) o que lhe garante livre rotação em seu eixo, formando isômeros ópticos (ver Figura 7-1). Os aminoácidos levógiros (L -aminoácidos) são os únicos isômeros presentes nas proteínas dos seres vivos o que faz com que os dextrógiros (D -aminoácidos) não sejam aproveitados durante o processo metabólico. Esta preferência não tem uma explicação química evidente, o que pode ser explicado, dentro de um contexto evolucionário, como uma seleção ao acaso de um aminoácido em detrimento ao outro durante o processo de evolução das espécies.

Esta flexibilidade da molécula protéica dada pelo $C\alpha$, confere uma grande versatilidade à proteína, o que faz de sua estrutura tridimensional o ponto chave para sua função. Desta forma, a perda da configuração espacial modifica completamente sua função, podendo até significar a destruição da proteína.

Entretanto, esta flexibilidade é limitada pela existência de interações químicas entre as cadeias peptídicas e entre os grupamentos R dos resíduos de aminoácidos, seja intermolecular ou com outros compostos químicos alheios à composição original da proteína.

Cada tipo de proteína possui uma configuração tridimensional peculiar que é determinada pela seqüência de aminoácidos e pelo grau de inclinação entre as ligações químicas (proporcionada pelos arranjos intermoleculares), que proporcionará pelo menos três níveis distintos de conformação estrutural:

1) **Estrutura primária:** diz respeito à seqüência de aminoácidos, dada pela seqüência de nucleotídeos da molécula de DNA responsável por sua síntese. Esta seqüência deve ser fundamentalmente mantida, sob o peso de a proteína perder sua função, como é o caso da presença de valina ao invés de glutamato no sexto aminoácido da cadeia polipeptídica da hemoglobina, que causa a doença genética denominada de **anemia falciforme**. A ausência ou acréscimo de aminoácidos à estrutura primária das proteínas, também pode ser responsável por modificação em sua eficácia funcional.

2) **Estrutura secundária:** relaciona a forma que a cadeia polipeptídica assume no espaço, que pode ser de **α -hélice** ou **β -folha pregueada**. A conformação em **α -hélice** é conferida através do ângulo de torção que os resíduos de aminoácidos apresentam na ligação peptídica, estabilizada por pontes de hidrogênio entre o oxigênio do grupamento carboxila de um $C\alpha$ e o H do grupamento amino do outro aminoácido (Figura 4-7).

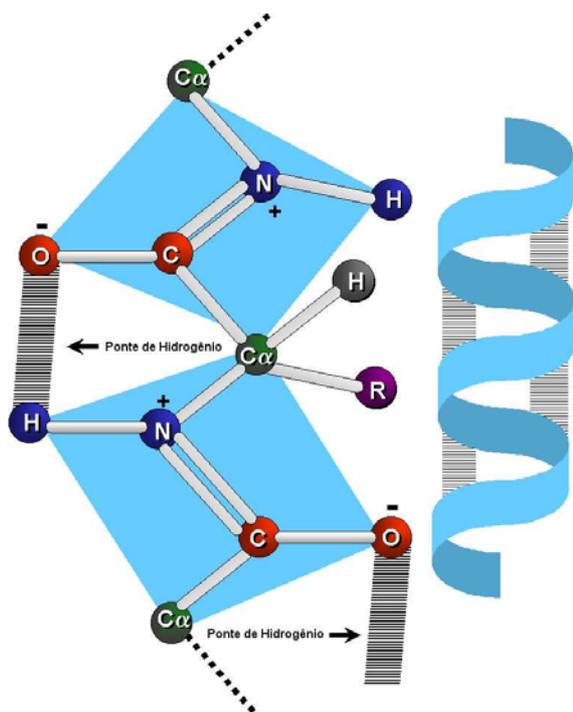


Figura 4-7 - A forma de α -hélice é possível graças à formação de pontes de hidrogênio entre os grupamentos funcionais dos aminoácidos da ligação peptídica e ao posicionamento contrário dos grupamentos R.

A forma de β -folha pregueada é possível graças a pontes de hidrogênio que ocorrem entre duas partes da cadeia polipeptídica (Figura 4-8) dentro da molécula protéica. Uma proteína pode apresentar os dois tipos de organização secundária dentro de sua molécula (Figura 4-9).

3) **Estrutura terciária:** corresponde às relações da cadeia polipeptídica no sentido de estabilizar a conformação tridimensional. Muitos tipos de interações químicas podem ocorrer dentro de uma molécula protéica para garantir a estabilidade das cadeias polipeptídicas. As mais fortes são as **ligações covalentes**, como a que ocorre entre dois aminoácidos **cisteína** que se unem através de pontes **dissulfetos** entre seus grupamentos $-SH$ formando o complexo **cistina** (Figura 4-10).

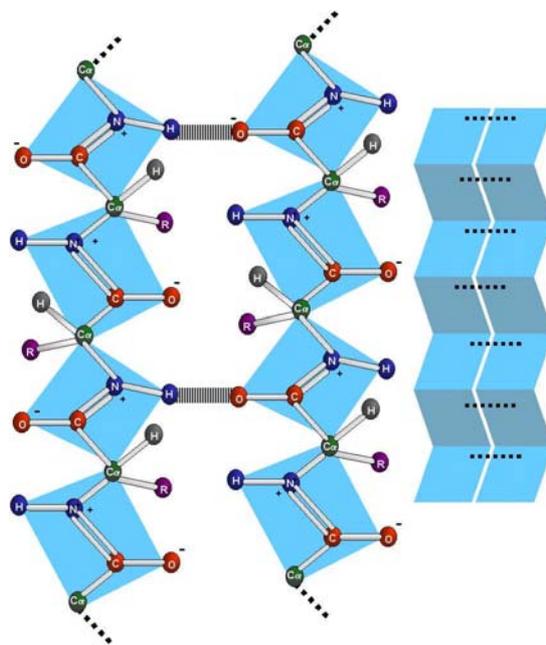
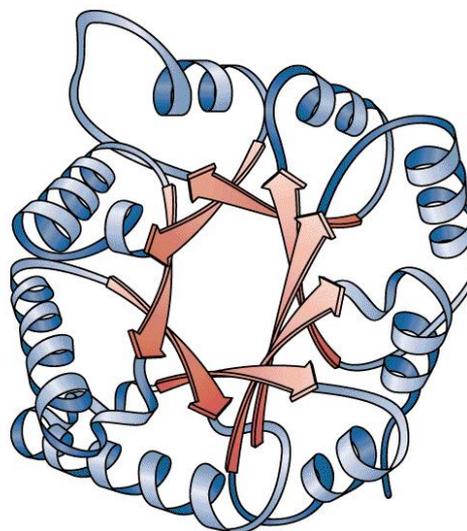


Figura 4-8 - A forma de β -folha pregueada ocorre entre duas cadeias peptídicas dentro da molécula protéica, resultante entre pontes de hidrogênio entre elas, resultando em um dobramento entre os aminoácidos sobre si formando um ângulo característico que lembra as folhas pregueadas dos formulários contínuos para computadores.

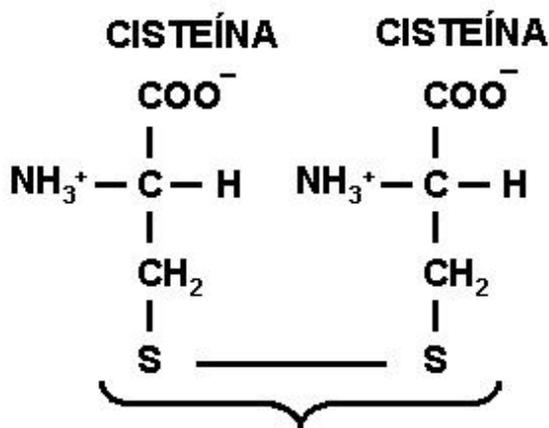


Triose Fosfato Isomerase

Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.

Figura 4-9 - Estrutura molecular da enzima da glicólise **triose fosfato isomerase** que apresenta regiões em α -hélice (espirais em azul) e em β -folha pregueada (setas vermelhas) (Adaptado de Devlin, T.M., 1999).

Há, ainda a formação de pontes de hidrogênio, interações eletrostáticas e interações fracas de van der Waals entre os grupamentos R



PONTE DISSULFETO DA CISTINA

Figura 4-10 – A união covalente entre dois aminoácidos cisteína entre seus grupamentos –SH, gera uma ponte dissulfeto formando um grupo **cistina** extremamente rígido que mantém a estrutura terciária das proteínas.

Esta estrutura terciária é comum a todas as proteínas e polipeptídeos (cerca de 50 aminoácidos). Algumas proteínas contêm apenas uma cadeia polipeptídica (p.ex.: **mioglobina**, Figura 4-11) enquanto outras são compostas por mais de um tipo iguais ou diferentes entre si (**proteínas oligoméricas**), como é o caso da **hemoglobina** (Figura 4-12) e das **γ -globulinas** com 2 pares de cadeias idênticas; e da **glutamina-sintetase** bacteriana com 12 cadeias idênticas.

4) Estrutura quaternária: é o arranjo espacial entre cadeias peptídicas das proteínas oligoméricas, definida por interações não-covalentes entre as cadeias peptídicas e outros compostos de origem não protéica que, frequentemente, fazem parte da proteína. Algumas proteínas são formadas por várias cadeias peptídicas unidas por ligação covalente e, portanto, não apresentam estrutura quaternária (p.ex.: a enzima digestiva **α -quimotripsina** possui três cadeias peptídicas ligadas covalentemente por pontes dissulfeto). A estrutura quaternária, portanto diz respeito ao arranjo não covalente formado por várias cadeias polipeptídicas como é o caso da hemoglobina, da enzima **aspartato transcarbamilase** com 12 cadeias e da proteína do vírus do tabaco com 2.120 cadeias polipeptídicas unidas não covalentemente.

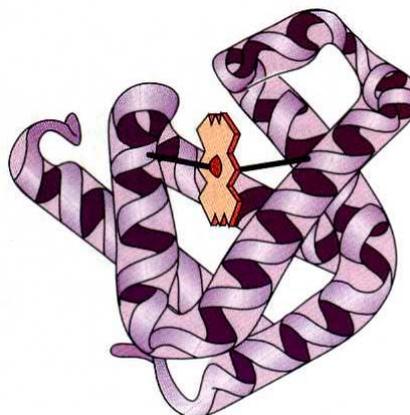


Figura 4-11 – Estrutura terciária final da **mioglobina**, uma proteína formada por apenas uma cadeia peptídica. (Adaptado de Devlin, T.M., 1999).

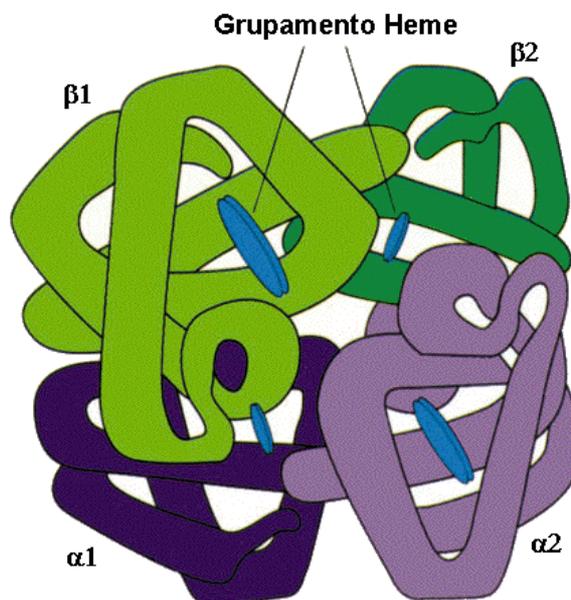


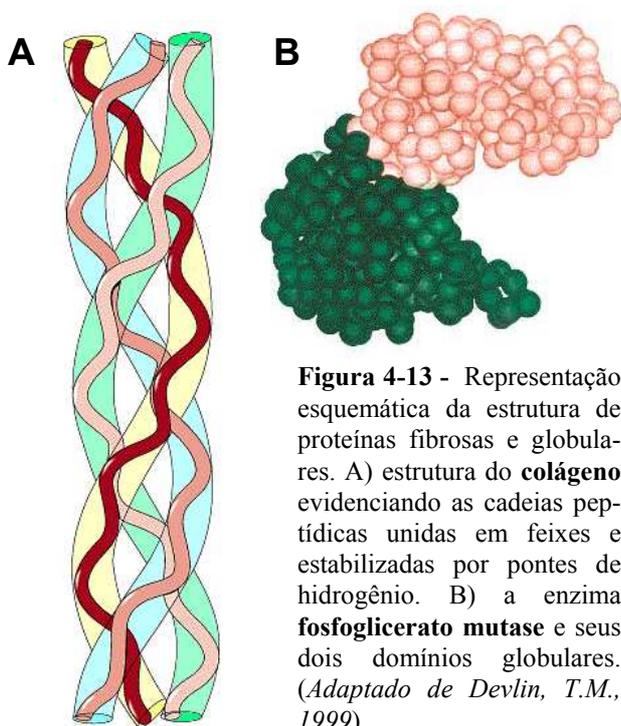
Figura 4-12 – Estrutura quaternária da **hemoglobina**, uma proteína oligomérica formada por quatro cadeias peptídicas unidas por grupamentos prostéticos heme. (Adaptado de Devlin, T.M., 1999).

A configuração espacial final das proteínas (estrutura terciária ou quaternária) é constante e determinante das funções biológicas por elas exercidas.

As **proteínas globulares** são esferas compactas e irregulares resultantes do enovelamento da cadeia polipeptídica. São bastante solúveis em água corresponde à principal forma das enzimas.

As **proteínas fibrosas** têm suas cadeias polipeptídicas arranjadas de forma paralela e dispostas em feixes (Figura 4-13), possuindo grande resistência física à distensão da

molécula (p.ex.: colágeno e queratina). Algumas proteínas têm os dois tipos de conformação, como é o caso da **miosina muscular** e do **fibrinogênio**.



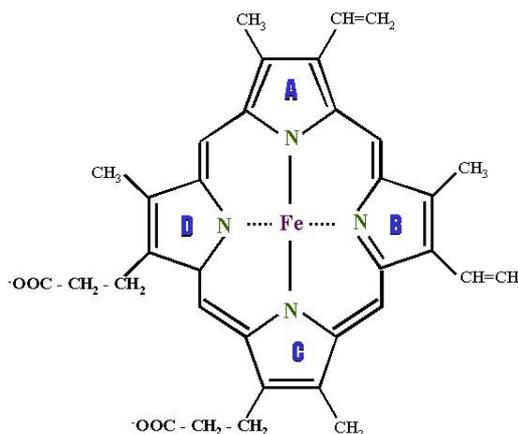
A exposição de proteínas a pH extremos ou temperaturas elevadas, mesmo por períodos curtos, faz com que a maioria delas apresentem modificações físicas em sua conformação tridimensional e em sua função fisiológica, processo conhecido como **desnaturação**. A visualização geralmente é pela formação de precipitado esbranquiçado e a mudança tridimensional é configurada no desenovelamento das cadeias polipeptídicas.

Fisiologicamente, condições extremas de desnaturação protéica são obtidas com variação brusca acima de 50°C e pH abaixo de 5,0, ambas condições incompatíveis com a vida. Desta forma, o desenovelamento protéico em hipertermia ou acidoses leva a diminuição ou até perda da função protéica, mas que se mostra reversível quando cessa a causa da variação de temperatura e/ou pH. Este processo de **renaturação**, entretanto não é visualizado em condições experimentais extremas onde a desnaturação protéica é irreversível.

Proteínas conjugadas

Muitas proteínas apresentam em sua composição, moléculas não protéicas ligadas de forma covalente ou não aos aminoácidos das proteínas, denominados, genericamente, de **grupo prostético**.

A hemoglobina (Figura 4-12) é uma proteína conjugada cujo grupamento prostético é são quatro **grupamentos hemes** (Figura 4-14) que se ligam de forma não covalente às cadeias peptídicas.



Um grupo importante de proteínas conjugadas são as **glicoproteínas** que estão presentes na superfície celular (p.ex.: mucina), fazem parte de proteínas estruturais (p.ex.: o colágeno), são hormônios (p.ex.: glucagon) ou receptores de membrana. A glicose liga-se de maneira irreversível a uma fração da hemoglobina (**hemoglobina glicada**) e permite a monitoração da concentração de glicose plasmática (glicemia) até 120 dias (vida média da hemoglobina) antes da coleta de sangue. Outra fração de glicose fixa-se à albumina formando as **frutosaminas** que, à maneira da hemoglobina glicada, monitora a glicemia anterior da coleta em até 30 dias (vida média das albuminas).

As **lipoproteínas** são importantes transportadoras dos lipídios plasmáticos, principalmente os triglicerídeos e o colesterol. De acordo com a variação das lipoproteínas pode-se avaliar o risco para doenças cardíacas coronarianas.

EXERCÍCIOS

1. Comente a classificação dos aminoácidos quanto a composição da cadeia R.
2. Conceitue aminoácidos essenciais, não-essenciais, glicogênicos, cetogênicos e glicocetogênicos.
3. O que são aminoácidos raros e não-codificados?
4. Qual a importância dos aminoácidos no estudo dos erros inatos do metabolismo?
5. Comente sobre a propriedade ácido-básica dos aminoácidos.
6. Conceitue os vários níveis de organização estrutural das proteínas.

REFERÊNCIAS DA INTERNET

Fundamentos de Bioquímica:

www.fundamentosdebioquimica.hpg.com.br

Webioquímica

www.pucpr.br/disciplinas/bioquimica/Webio1.html

3D Images of proteins

www.imb-jena.de/IMAGE.html

Capítulo 5

Enzimas

As enzimas são proteínas especializadas na catálise de reações biológicas, ou seja, elas proporcionam que as reações químicas tornem-se muito mais rápidas que a reação não catalizada (a enzima **nuclease estafilocócia** acelera a reação em $5,6 \times 10^{14}$ vezes!), o que as coloca entre as biomoléculas mais importantes para o ser vivo havendo situações onde uma pequena queda ou aumento na atividade enzimática acarreta problemas fisiológicos sérios.

A própria evolução do conhecimento bioquímico tem nas enzimas sua gênese, com a descoberta do poder catalítico do suco gástrico sobre as proteínas e da saliva sobre o amido no início do século XIX. Louis Pasteur, em 1850, postulou que as reações fermentativas do levedo, convertendo açúcar em álcool, eram devidas a substâncias existentes dentro do levedo, as quais foram posteriormente denominadas de **enzimas** (derivado do latim *en* = dentro + *zima* = levedo).

Com o isolamento das enzimas fermentativas do levedo em 1897, teve início a era mais produtiva da pesquisa em bioquímica surgindo as principais hipóteses do funcionamento das enzimas dentro da célula. Em 1926, o isolamento da enzima **urease**, estabeleceu a natureza protéica das enzimas, criando-se o conceito de que todas as enzimas são proteínas, mas nem todas as proteínas são enzimas. Na década de 80, entretanto, foram identificadas moléculas de RNA que possuem atividade catalítica, as **ribozimas**, o que pôs abaixo aquele conceito quase que dogmático.

As enzimas, entretanto, são um capítulo à parte no estudo das proteínas e, sem dúvida nenhuma, possuem suas bases de conhecimento voltadas para a compreensão da estrutura tridimensional protéica.

Como uma proteína, uma enzima depende da estrutura terciária (ou quaternária) para exercer sua função catalisadora, uma vez que tem que interagir com as moléculas dos

reagentes (aqui denominados de **substrato**) para convertê-las nos **produtos**, de uma maneira a diminuir a energia necessária para levar estes substratos ao estado de ativação energética caracterizado por uma molécula em transição entre o substrato e o produto.

Freqüentemente, utiliza-se a analogia da chave-e-fechadura para designar a especificidade de uma enzima para seu substrato. Porém esta comparação perde força quando se conhece enzimas que possuem mais de um tipo de substrato ou substratos que sofrem ação enzimática por mais de uma enzima. Além disso, o próprio espaço existente para a realização da ação enzimática não é tão “apertado” quanto pode sugerir uma chave-e-fechadura. Entretanto o encaixe espacial entre a molécula do substrato com a enzima demonstra um preciosismo próprio das melhores chaves-e-fechaduras, abrindo as portas para as reações bioquímicas.

A ligação entre uma enzima a outra molécula se dá de maneira complexa, uma vez que há a formação de muitas ligações fracas entre os átomos componentes das moléculas. As únicas ligações fortes que ocorrem nesta interação enzimática são as que ocorrem entre partes das moléculas que se encaixam perfeitamente no plano tridimensional.

A região da enzima onde ocorre este encaixe é denominada de **sítio de ligação** ou **sítio catalítico** e corresponde, geralmente, a um entalhe na estrutura da molécula da enzima formado por uma seqüência de aminoácidos que garante a forma de uma cavidade (Figura 5-1). Os demais aminoácidos da enzima são responsáveis por manter a forma deste sítio de ligação, havendo um ou mais **sítios de posicionamento** que facilitam a ligação com a molécula de substrato formando um complexo reversível enzima-substrato. No substrato, há sempre um grupamento que favorece uma ligação suscetível com o sítio catalítico da enzima.

A ligação do substrato com a enzima forma um complexo enzima-substrato que logo se dissocia liberando a enzima intacta e o substrato, agora convertido no produto. Dependendo do tipo de enzima, esta reação pode ocorrer entre mais de uma molécula e liberar uma ou mais moléculas de produto.

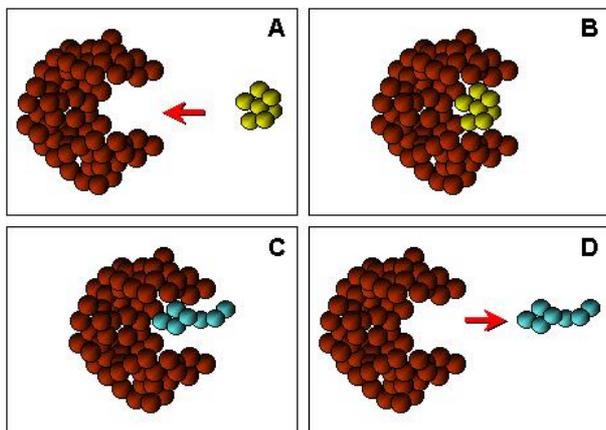


Figura 5-1 – A ligação entre a enzima (estrutura maior, em vermelho) e o substrato (estrutura menor, em amarelo): A) o encaixe se dá pelo sítio catalítico da enzima.; B) há a formação de um complexo enzima-substrato; C) o substrato é convertido no produto (a estrutura em azul); D) o produto é liberado, regenerando a molécula de enzima.

Algumas enzimas são formadas exclusivamente por aminoácidos (p.ex.: a **ribonuclease pancreática**), porém, a maioria precisa de um **co-fator** que funciona como uma espécie de “calço molecular” permitindo o encaixe perfeito da enzima com o substrato e proporcionando a quebra da estrutura original da molécula do substrato, iniciando a formação do produto final da reação enzimática (Figura 5-2).

Esses co-fatores podem ser **íons metálicos** (Fe^{++} , Mn^{++} , Zn^{++}) ou compostos orgânicos denominados **coenzimas** (p.ex.: vitaminas hidrossolúveis como a B6, B12, biotina0 etc.). Algumas enzimas utilizam um ou outro tipo de co-fator ou ainda ambos, com a parte protéica denominada **apoenzima** e o complexo enzima/co-fator denominado **holoenzima**.

Em alguns casos, a ligação da enzima com o co-fator não se faz de maneira permanente, porém quando esta ligação é estável, o co-fator faz parte da enzima e é denominada de **grupo prostético**.

Existem várias enzimas que são produzidas em tecidos diferentes e catalisam a mesma reação, porém apresentam características químicas ou físicas diferentes. Elas são chamadas de **isoenzimas** e, frequentemente, podem apresentar afinidade diferente pelo substrato.

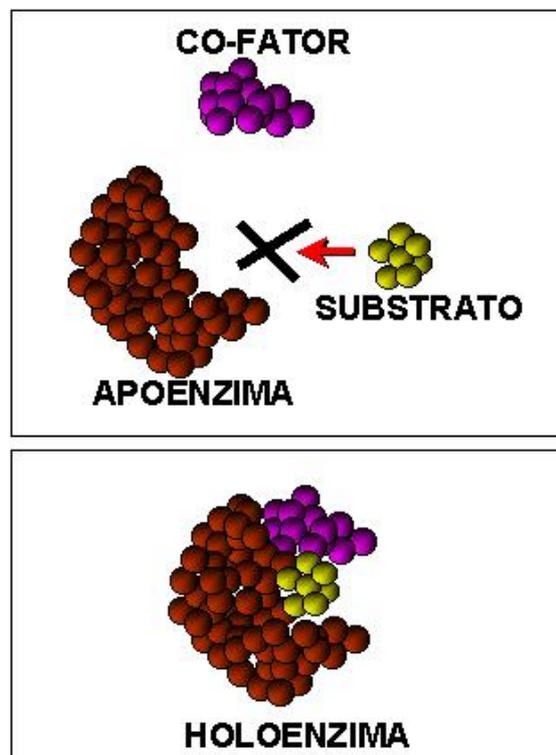


Figura 5-2 – A ligação da enzima com um co-fator é o que permite a ação enzimática sob um substrato. Neste caso, a enzima sem o co-fator (apoenzima) não possui ação catalítica, mas somente o complexo enzima/co-fator (holoenzima).

As isoenzimas possuem importância em interpretações clínicas por interferir no diagnóstico laboratorial de certas doenças. É o caso da **fosfatase alcalina**, uma enzima hepática que tem a concentração plasmática aumentada na obstrução hepática, e que possui uma isoenzima produzida pela placenta em mulheres grávidas. Neste caso, mulheres grávidas podem ter um diagnóstico errôneo de obstrução hepática se o clínico não avaliar a possibilidade de um aumento da fosfatase alcalina ser em virtude da gravidez e não de um problema hepático.

Classificação das enzimas

Primariamente, as enzimas foram denominadas pela adição do sufixo **–ase** ao no-

me do substrato (p.ex.: amilase, urease, arginase) ou por nomes empíricos (p.ex.: pepsina, tripsina).

Normalmente, ao invés das denominações empíricas, as enzimas são denominadas pela reação que executam sobre determinando substrato, podendo, entretanto, ser denominada pelo nome comum quando o nome se mostrar extenso ou complexo de ser denominado.

Assim sendo, a enzima **hexoquinase**, que catalisa a transferência de um grupamento fosfato do ATP para a glicose, é denominada de **ATP-glicose transferase**, porém é mais conhecida pelo primeiro nome.

Atualmente, existe uma classificação de uso internacional para as enzimas, onde são agrupadas em seis classes de acordo com a reação que catalisa e cada classe é subdividida em várias subclasses. As classes e subclasses recebem números que as identificam e, desta maneira, permitem a classificação das enzimas em grupos de ação enzimática. Por exemplo, a **amilase**, enzima que degrada o amido, é identificada pelo número 3.2.1 (classe 3 = grupo das hidrolases; primeira subclasse de número 2 = grupos das hidrolases que quebram de carboidratos; segunda subclasse de número 1 = as glicosidases).

Esta forma de classificação enzimática não tem grande popularidade em virtude da dificuldade de fixação de todas as subclasses existentes, porém é a forma internacionalmente aceita e obrigatoriamente uma enzima estudada em trabalhos científicos deve ser devidamente identificada por esta nomenclatura.

Entretanto, acima de forma complicada de identificação das enzimas, esta classificação internacional possui o mérito de agrupar as enzimas em seus principais grupos e facilitar o estudo dos diversos tipos de ação enzimática. Na tabela 5-1 estão citadas as principais classes e subclasses das enzimas.

A seguir, estão descritas as classes de enzimas e suas principais subclasses, especificando-se a reação a qual catalisa.

CLASSE 1 - Oxirredutases: catalisam reações onde há troca de elétrons (oxi-redução).

- **Desidrogenases:** facilita a transferência de hidrogênio. De uma maneira geral, desi-

drogenases $\text{OH} \rightarrow =\text{O}$ e $\text{C-NH}_2 \rightarrow \text{NH}$ possuem o NAD(P) como coenzima, enquanto que as $\text{C-C} \rightarrow \text{C=C}$ são ligadas ao FAD.

- **Desaturases:** formação de ligação dupla em ácido graxo.
- **Hidroxilases:** facilita a oxidação de dois doadores com a incorporação de oxigênio em um dos doadores. O outro substrato é oxidado, sendo formado água. O produto final é identificado pela incorporação de uma $-\text{OH}$ em sua molécula.
- **Oxidases:** há a redução do oxigênio molecular
- **Oxigenases:** há a adição de oxigênio em uma molécula
- **Redutase:** uma hidrogenase que reduz o substrato.

Tabela 5-1: Classificação das enzimas

Classes	Reação catalisada	Subclasses
Oxirredutases	Transferência de elétrons	Desidrogenases Desaturases Hidroxilases Oxidases Oxigenases Redutases
Transferases	Transferência de grupos	Quinases algumas Mutases Fosforilases Polimerases Transaldolases Transcetolases Transaminases
Hidrolases	Transferência de grupos funcionais para a água	Esterases Lípases Nucleosidases Nucleotidases Peptidases Fosfatases Sulfatases
Liases	Adição de grupos a duplas ligações ou o inverso	Aldolases Descarboxilases Hidratases Sintases
Isomerases	Transferência de grupos dentro da molécula produzindo isômeros	Epimerases algumas Mutases Racemases
Ligases	Formação de ligações C—C, C—S, C—O e C—N por condensação com gasto de energia do ATP	Carboxilases Sintetases

CLASSE 2 - Transferases: transferência de grupos de uma molécula para outra.

- **Quinases:** transfere grupos de alta energia.
- **Mutases:** move grupo de um ponto para o outro da molécula
- **Fosforilases:** quebra de uma ligação C—O pela adição de Pi.
- **Polimerases:** reações de adição de uma unidade de polimerização.
- **Transaldolases:** transfere um grupamento aldeído de um substrato para outro.
- **Transcetolases:** o grupamento cetona é movido de uma molécula para outra.
- **Transaminases (aminotransferase):** transfere um grupamento amino de um aminoácido para um cetoácido.

CLASSE 3 - Hidrolases: quebra moléculas por hidrólise.

- **Esterases:** hidrolisa um éster em álcool e ácido.
- **Lipases:** promovem a quebra de ligações ésteres entre um ácido graxo e o glicerol.
- **Nucleosidases:** degrada nucleosídeos em base nitrogenada + ribose.
- **Nucleotidases:** degrada nucleotídeos em nucleosídeos + Pi.
- **Peptidases:** quebra de ligações peptídicas.
- **Fosfatases:** hidrólise de ésteres, liberando Pi.
- **Sulfatases:** hidrólise liberando sulfato.

CLASSE 4 - Liases: corta ou sintetiza ligações C—C, C—O e outras, por reações que não oxidação ou hidrólise e sem envolvimento de reações de transferência de grupamentos de uma molécula para outra.

- **Aldolases:** forma ligação C—C após a ligação de um aldeído ou cetona com outro composto bioquímico.
- **Descarboxilases:** catalisa a remoção de CO₂.
- **Hidratases:** liberação de água durante a formação do produto.
- **Sintases:** catalisa uma síntese onde não há gasto de ATP.

CLASSE 5 – Isomerases: formação de isômeros.

- **Epimerases:** promove a interconversão de epímeros (carboidratos que diferem pela posição de apenas uma hidroxila).
- **Mutases:** transferência de grupamentos em uma mesma molécula formando isômeros.
- **Racemases:** formação de isômeros especulares inversos.

CLASSE 6 - Ligases: união de duas moléculas acopladas à quebra de ATP.

- **Carboxilases:** adição de CO₂.
- **Sintetases:** ligação de duas moléculas com quebra de pirofosfato (P—P).

Por que as enzimas são catalisadores tão eficazes?

As enzimas são essenciais para o metabolismo celular devido a vários fatores que envolvem seu papel que vão desde uma “economia” energética celular até a extrema adaptação às condições biológicas intracelulares.

a) Ações na “economia” energética celular:

As enzimas são excelentes catalisadores biológicos por diminuir a necessidade energética para que as reações bioquímicas aconteçam, o que, por si só, já torna a reação mais rápida e eficiente. Outros efeitos levam a aumentar a eficácia da reação enzimática, mas sem dúvida essa “economia” celular é fundamental para a compreensão da importância das enzimas para a biologia celular.

Entretanto, as enzimas não alteram a **energia livre (G)** da reação, em vez disso, exercem sua função catalisadora reduzindo a **energia de ativação (G_{At})** das reações químicas, promovendo uma via de reação onde os produtos são formados de maneira mais rápida, com menos gasto de energia (Figura 5- 3).

Um aumento na energia livre em um sistema reacional corresponde à liberação da energia existente dentro das moléculas e que é liberada quando os substratos são convertidos em produtos. Assim, as reações **exotérmicas** (aquelas que provocam um aumento da temperatura do meio) possuem valores **negativos** para a variação da energia livre (ΔG) uma vez que os produtos situam-se em patamares de

energia livre menores do que quando eram substratos, pois liberaram energia para o meio (e por isso o meio aquece).

Pelo raciocínio inverso, as reações **endotérmicas** (aquelas que consomem calor do meio) possuem valores de ΔG **positivos**, pois os substratos acumularam energia além daquela que tinham inicialmente. Nesta situação, evidencia-se uma queda da energia livre no sistema reacional, com os produtos “roubando” calor do meio para poderem ser formados.

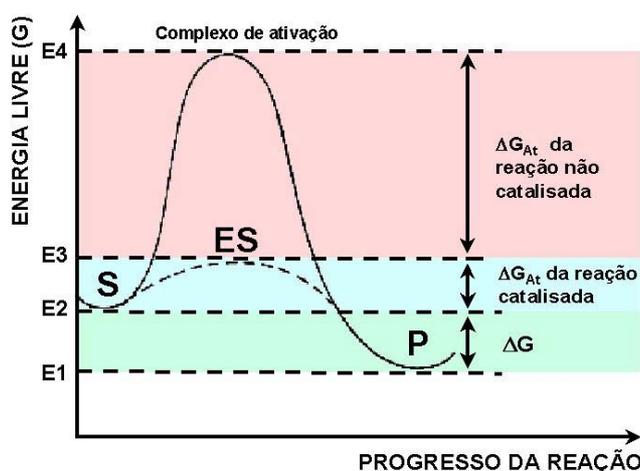


Figura 5-3 – As enzimas diminuem a energia de ativação necessária para converter os substratos em produtos. A variação da energia livre, entretanto, não é alterada em relação à reação não catalisada.

A energia de ativação corresponde a uma determinada quantidade de energia que os substratos necessitam receber para atingir um nível energético de instabilidade que desencadeie sua conversão em produto. De uma forma geral, esta energia advém do meio reacional e está relacionada à afinidade existente entre os substratos, além da direção energética da reação. Logo, para que uma reação ocorra, é necessário que o substrato receba energia elevando seu estado de excitação molecular até um ponto em que possibilite sua conversão em produto.

Todas as reações químicas ocorrem desta maneira, tanto as exotérmicas quanto às exotérmicas. Nas reações exotérmicas a energia de ativação recebida é devolvida completamente para o meio, acrescida de mais energia decorrente do processo exotérmico. Nas reações endotérmicas, a energia de ativação recebida não é liberada totalmente para o

meio deixando um déficit energético após a conversão dos substratos em produtos.

Na natureza, as reações químicas tendem a ocorrer espontaneamente na direção onde há a dissipação da energia, ou seja, no sentido em que a **entropia** (grau de desorganização) aumenta. Isto significa dizer que em reações espontâneas, o produto final possui uma variação de energia livre com valores negativos, indicando a natureza exotérmica das reações. Em bioquímica, tal calor de reação é utilizado para a realização de trabalho celular e o termo mais adequado para esse tipo de reação é **exergônica**.

Então, há uma tendência natural de ser mantida os níveis energéticos antes e depois da formação dos produtos, havendo apenas a redistribuição da energia entre os produtos e o meio reacional. Esses conceitos dizem respeito aos princípios gerais da termodinâmica, onde a conservação da energia (primeira lei) e a mudança para níveis de maior entropia (segunda lei) são leis universais para as reações envolvendo a produção e consumo de energia (para maiores informações, ver Capítulo sobre Bioenergética).

As enzimas não modificam o processo de produção ou consumo energético de uma reação química, não alteram o equilíbrio da reação, mas aumentam a velocidade da reação por diminuir a energia de ativação dos substratos. Isto acontece devido à conversão dos substratos em produtos ocorrer pela facilitação do alinhamento tridimensional entre os substratos, exigindo uma energia bem menor para a quebra do limiar energético para a formação dos produtos.

Esta poderosa ação catalítica é possível graças à forma tridimensional do sítio de catalítico da enzima (e o co-fator, na maioria das vezes) com o substrato que permite uma rápida reação, ao invés da reação não catalisada que necessitaria de um movimento e alinhamento aleatórios.

Poderíamos, portanto, generalizar uma reação enzimática como:



Onde S = substrato(s); E = enzima (mais cofator, quando for o caso); ES = complexo enzima substrato, EP = estágio que antecede a liberação de P = produto(s).

Nota-se que a formação de ES é limitante para a reação e ocorre em um tempo mais rápido do que ocorreria se não houvesse a catálise enzimática.

Apesar de, teoricamente, as reações catalisadas por enzimas poderem ocorrer na sua ausência, em termos fisiológicos isto, na maioria das vezes, é impossível. Por exemplo, um mol de glicose (180g) quando convertida totalmente em energia em equipamentos de laboratório, libera cerca de 680 kcal após gastar quase 200 kcal como energia de ativação para convertê-la em H₂O e CO₂.

Entretanto a mesma reação realizada nas células gasta somente cerca de 20 kcal (10 vezes menos energia) a título de energia de ativação, liberando os mesmos 680 kcal, isso graças à incrível economia proporcionada pelas enzimas do metabolismo energético. Portanto, estas reações realizadas sem enzimas na célula exigiriam uma temperatura corpórea 10 vezes maior (algo como 370°C) para poderem ocorrer, fato impossível para os seres vivos (pelo menos por aqueles que conhecemos neste planeta).

b) A ação na ordem das reações celulares:

Apesar da pouca energia necessária ser um motivo muito forte para a eficácia das reações enzimáticas, muitas vezes, a reação não-catalisada é impossível em termos fisiológicos devido à rapidez que se espera na formação dos produtos para a continuidade do ciclo biológico, ou mesmo pela necessidade de níveis energéticos de ativação superior ao suportado pela célula.

Ou seja, mesmo que a diferença energética entre a reação catalisada e a não catalisada não se constitua em impedimento para que a reação ocorra, a lentidão na formação dos produtos simplesmente emperraria a maquinaria bioquímica celular, levando a um colapso químico, modificando a ordem de reações devido ao acúmulo do substrato (por ser lentamente degradado) e pela deficiência do produto (já que é lentamente formado). Isto é, na maioria das vezes, simplesmente impossível em termos biológicos ou traz efeitos secundários graves para o organismo.

Por exemplo, a enzima **glicose-6-fosfatase** permite a liberação de glicose do

figado para o sangue. Quando o indivíduo não consegue sintetizá-la em concentrações adequadas (em virtude de uma doença genética denominada de **Doença de von Gierke**) a glicose tende a se acumular nas células hepáticas e acaba sendo degradada por uma outra enzima que, naturalmente, a degradaria em menor velocidade. Esta nova enzima que passa a trabalhar mais, a **glicose-6-desidrogenase**, leva à síntese de pentoses em grande quantidade e esta, por sua vez, acaba sendo convertida em bases nitrogenadas de onde a adenina e a guanina em excesso irão ser convertidas em **ácido úrico** que, finalmente, acaba se depositando nas articulações e causando uma doença extremamente dolorosa denominada **gota**. Esta é apenas uma das muitas rotas metabólicas em que o ácido úrico pode ser sintetizado devido a uma modificação na eficácia de enzimas do metabolismo hepático (maiores detalhes serão abordados no Capítulo sobre metabolismo de bases nitrogenadas).

c) Alta eficiência mesmo em baixas concentrações:

Um outro fator importante na consagração das reações enzimáticas como esteio químico do ciclo da vida celular está no fato das enzimas serem regeneradas ao final do processo, podendo reagir com novas moléculas do substrato sendo necessárias, portanto em quantidades bastante inferiores das do substrato, situação ideal para o meio extremamente diluído do citoplasma exigindo um gasto menor na síntese da enzima pelo mecanismo genético celular.

d) Especificidade enzima substrato como fator acelerador da reação:

É fundamental para o sucesso da reação enzimática o fato que os substratos permanecem "presos" no sítio catalítico, reduzindo os movimentos aleatórios da molécula (redução da entropia) permitindo a catálise mais rápida.

Além disso, quando se forma o complexo enzima-substrato, as pontes de hidrogênio que venham a se formar fixando o substrato na enzima, ocorrem entre o substrato os grupamentos dos aminoácidos do sítio catalítico (e na molécula do co-fator) e quase nunca

com a água do meio reacional. Esta ação é denominada **retirada da capa de solvatação** e diminui a resistência física das moléculas dos substratos em reagirem.

Também é fundamental para a eficácia da reação enzimática, a modificação tridimensional que a molécula da enzima sofre no momento que se liga com o substrato, favorecendo a formação das ligações necessárias para que os produtos sejam liberados, com o alinhamento das partes afins das moléculas com o gasto mínimo de energia. A falta de especificidade entre o sítio catalítico da enzima com o produto formado é fundamental para a liberação da enzima para nova reação (Figura 5-4).

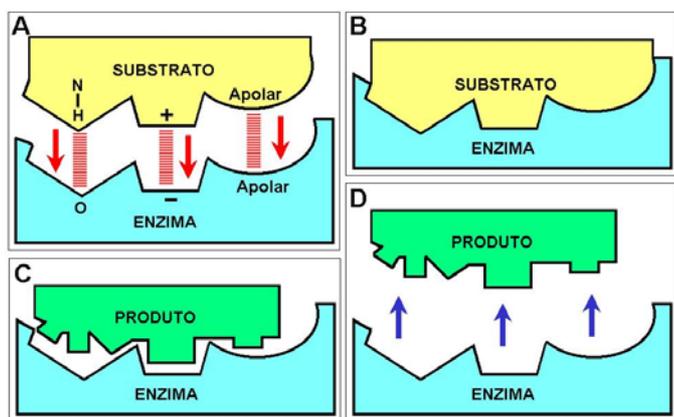


Figura 5-4 – Representação da complementaridade espacial e química entre enzima e substrato. A) regiões do substrato possuem regiões complementares no sítio catalítico da enzima (aqui representado uma ponte de hidrogênio, atração iônica e interações fracas apolares); B) o complexo enzima-substrato se forma com a retirada da capa de solvatação, o que diminui a resistência da molécula; C) o produto formado não tem especificidade com a enzima; D) as regiões que antes se atraíam, agora se repelem, regenerando a enzima.

Quando há a formação do complexo enzima-substrato o cenário molecular está armado para que haja a formação dos produtos. Note que estes fatos ocorrem de uma maneira muito rápida e dentro no sítio catalítico e a especificidade das ligações fracas que ocorrem entre os grupamentos da enzima (e cofator) com o(s) substrato(s) proporcionam um aumento da velocidade da reação.

e) A ação das enzimas é regulável:

Uma vez são produzidas, as enzimas iniciam sua ação catalítica até que a última molécula de substrato seja convertida em produtos. Esta fato pode ser fatal para a célula

por retirar um composto (o substrato) que pode ter outras vias metabólicas importante e produzir uma quantidade exagerada de um composto (os produtos) que podem ser indesejáveis à célula. Logo, não basta que uma enzima deixe de ser sintetizada para que ela pare de fazer efeito, uma vez que é continuamente regenerada. Portanto, um mecanismo de regulação da ação enzimática torna-se indispensável para o sucesso da ação catalítica. Em outras palavras, a enzima tem se “saber” quando parar e quando começar a trabalhar.

Isto ocorre graças a vários mecanismos de controle onde o principal é uma diminuição (ou aumento) de sua atividade de acordo com o aumento (ou diminuição) de compostos relacionados com o produto da reação, o que estabelece um mecanismo de **feedback** (retroalimentação, ou seja, informação a algo de trás por algo da frente) que pode ser **negativo** ou **positivo**, de acordo com a natureza da reação.

Por exemplo, o aumento da concentração de ATP celular favorece a inibição da atividade da maioria das enzimas do metabolismo energético através de um mecanismo de feedback negativo o que impede que as moléculas energéticas produzam indefinidamente ATP o que levaria à destruição da célula pelo excesso de calor liberado no processo. No entanto, não há a necessidade do longo processo de síntese de mais enzimas para reiniciar o processo em virtude de a queda de ATP ativar as enzimas do metabolismo energético induzindo a produção de mais ATP (esse processo é denominado de regulação **alostérica** e será melhor detalhado ainda neste capítulo).

Mecanismos de ação enzimática

Vários mecanismos para a reação enzimática são propostos a partir da natureza química dos substratos e cada reação enzimática possui uma peculiaridade que a torna única. Entretanto, podemos agrupar os mecanismos de reação enzimática em três mecanismos principais que abrangem a maioria das reações enzimáticas. São eles:

a) Catálise ácido-básica:

Utiliza os íons H^+ (catálise ácida) ou OH^- (catálise básica) da água, ou a propriedade ácido-básica de alguns aminoácidos, para promover a formação de um intermediário entre os substratos e os produtos que se quebra rapidamente impedindo o retorno à forma de substrato (Figura 5-5).

É uma reação dependente do pH uma vez que o grupamento R de vários aminoácidos varia sua carga elétrica com o pH o que interfere neste tipo de catálise. Os aminoácidos Aspartato, Glutamato, Histidina, Lisina, Cisteína e Tirosina são os que, freqüentemente, estão presentes no sítio catalítico de enzimas que funcionam através deste mecanismo de ação.

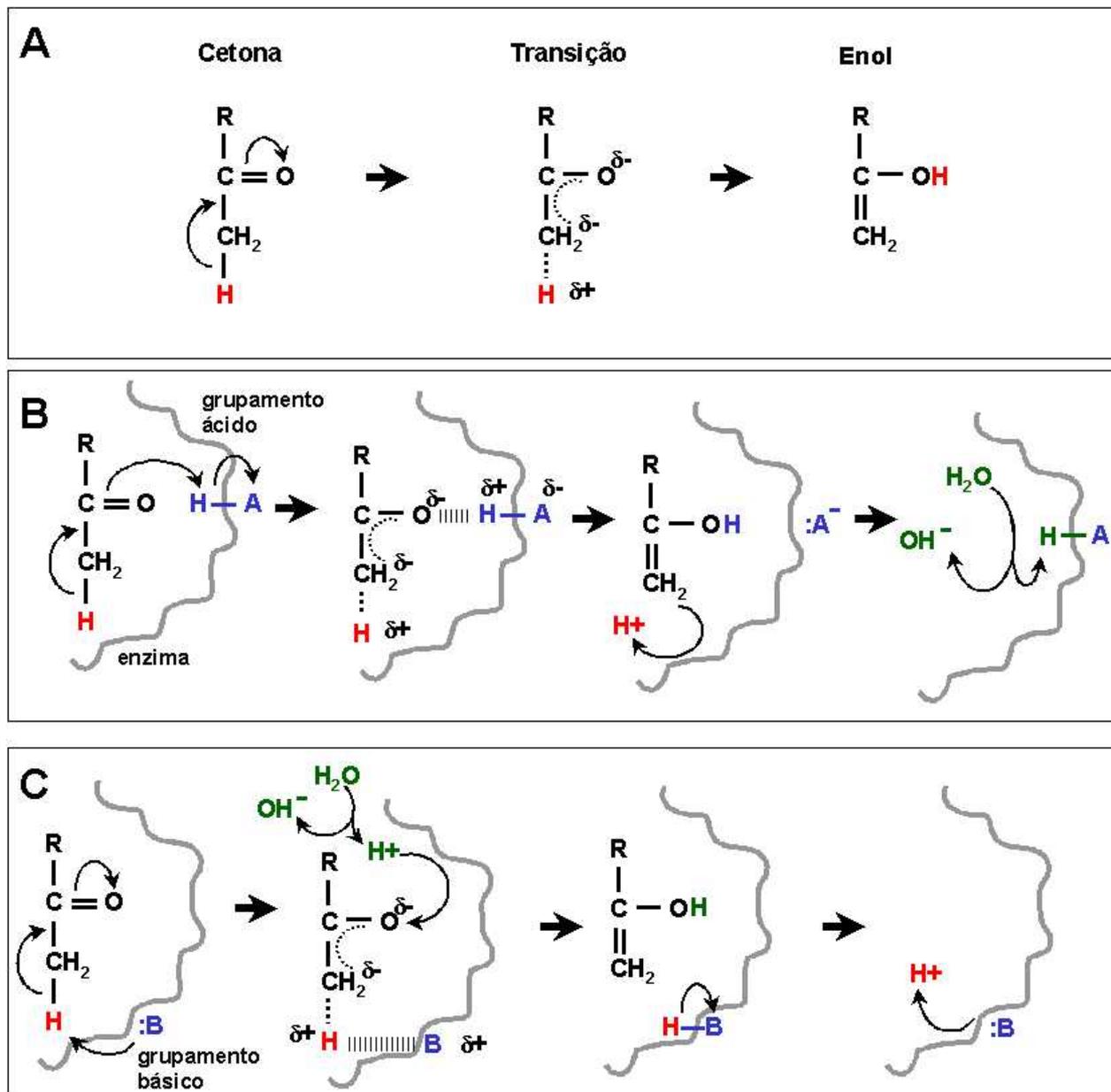


Figura 5-5 – Modelo de catálise ácido-básica de conversão de uma cetona em um enol. A) a reação não catalisada ocorre espontaneamente somente com alta energia de ativação; B) modelo de catálise ácida com o grupamento ácido representado por A-H ligado ao sítio ativo da enzima (curvas sinuosas em cinza); C) modelo de catálise básica onde :B é o grupamento básico ligado à enzima. Tanto em B quanto em C, há o envolvimento do H^+ da água que é estequiometricamente regenerada ao final ($OH^- + H^+$) assim como a enzima em sua configuração original ácida ou básica. Observe que há a formação de um composto transitório onde o substrato está ligado por ponte de hidrogênio à enzima. (Adaptado de Voet & Voet, 2000).

Este tipo de reação enzimática é bastante comum e o grupamento ácido da enzima é representado **A-H** e o grupamento básico por **:B**, representando o H^+ da enzima que se ligará com o substrato e o ponto de ligação da enzima com um H^+ do substrato, respectivamente. Os demais mecanismos de ação enzimáticos têm sempre alguma semelhança à catálise ácido-básica.

Uma reação que exemplifica bem este tipo de catálise é a conversão espontânea de cetonas a enol, cuja energia de ativação é muito alta sem a catálise enzimática. Na presença de enzimas, a reação ocorre com menor gasto energético para a formação do complexo de transição.

b) Catálise Covalente:

Há a formação de uma ligação covalente entre a enzima (ou o co-fator) e o substrato impedindo que haja a regeneração do substrato e a rápida formação dos produtos. Portanto, há sempre a necessidade de uma reação adicional que permita a regeneração da enzima.

A catálise covalente ocorre sempre entre um **agente nucleofílico** (afinidade por prótons) da enzima e um **agente eletrofílico** (afinidade por elétrons) do substrato. Os principais nucleófilos são a **hidroxila** ($-OH$), **sulfidril** ($-SH$), **amino** ($-NH_3^+$) e o **imidazol** (da histidina). Esses nucleófilos estão presentes em aminoácidos polares, conforme pode ser observado na figura ver figura 4.2 do Capítulo sobre Aminoácidos e Proteínas.

Os eletrófilos mais comuns nos substratos são o **íon hidrogênio** (H^+), **cátions metálicos**, o **carbono da carbonila** ($-COO^-$) e **iminas** ($R_2-C=NH^+$, também denominada de **Base de Schiff**).

Normalmente, este tipo de reação ocorre em três etapas: 1) o nucleófilo (enzima) se liga com o eletrófilo (substrato), formando a ligação covalente; 2) retirada de elétrons pelo eletrófilo; e 3) reversão da primeira etapa com a saída do catalisador.

Este tipo de reação é semelhante à catálise básica, envolvendo a adição de H^+ ao substrato, havendo a retirada e posterior (e posterior adição) de $-OH$. A diferença deste mecanismo de ação para a catálise básica é

formada uma ligação covalente entre a enzima e o substrato no composto intermediário.

Na Figura 5-6, está exemplificada uma reação enzimática por catálise covalente na conversão de oxalacetato (ácido carboxílico) em acetona pela perda de CO_2 , reação extremamente lenta sem a ação enzimática.

c) Catálise por íon metálico:

Os íons presentes na molécula da enzima (ou do co-fator, principalmente Fe^{+2} , Fe^{+3} , Cu^{+2} , Zn^{+2} , Mn^{+2} e Co^{+2}) ou captados do meio no momento da formação do complexo enzima-substrato (Na^+ , K^+ , Mg^{+2} ou Ca^{+2}), favorecem o alinhamento tridimensional do substrato, estabilização do complexo transitório ou mediar reações de oxi-redução.

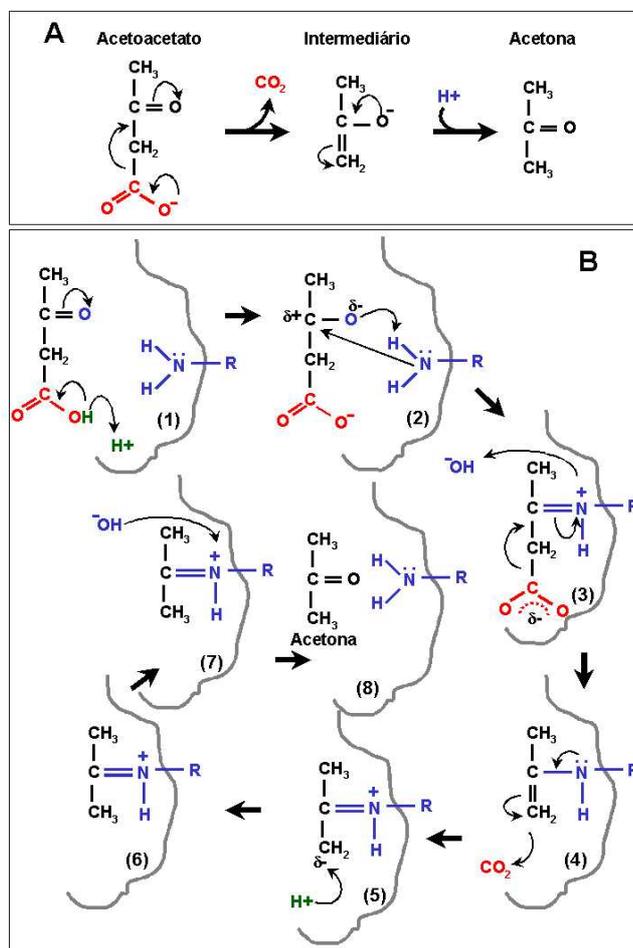


Figura 5-6 – Catálise covalente. A) reação de descarboxilação espontânea não catalisada de oxalacetato em acetona; B) pormenorização dos passos da reação catalisada enzimaticamente, onde os diversos híbridos de ressonância formados permitem a ligação covalente do substrato com a enzima (3) e a total regeneração da enzima, quebrando a ligação covalente e liberando o produto (8). Note que há saída e entrada de íons H^+ e OH^- (1, 3, 5 e 7) resultantes da ação enzimática.

Esta interação favorece uma maior estabilidade eletrostática, o que permite que a reação ocorra com menor necessidade energética para atingir o estado de transição.

O papel desses íons metálicos é semelhante ao íon hidrogênio nas reações enzimáticas, ligando-se a grupos carregados negativamente (p.ex.: a $-OH$ da H_2O) e transferindo-os para o substrato (mecanismo que lembra a catálise ácida). Porém, os íons metálicos são mais eficazes por que podem estar presentes em concentração maior que os H^+ sem modificar o pH, além do que podem possuir carga positiva maior que +1, favorecendo uma reação mais eficaz.

Um mecanismo clássico por catálise por íon metálico é a hidratação de CO_2 em bicarbonato (HCO_3^-) mediada pela **anidrase carbônica** (Figura 5-7). A reação não catalisada forma ácido carbônico somente em altas concentrações de CO_2 o que acarreta a necessidade de altas condições de pressão, incompatível com o ambiente celular. Entretanto, a anidrase carbônica possui um íon Zn^{+2} em seu sítio ativo que permite a transferência de $-OH$ para o substrato (CO_2) favorecendo a formação do bicarbonato e liberando o H^+ para o meio.

Mecanismos que aceleram a reação enzimática

Os mecanismos de ação enzimática baseados na catálise ácido-básica, catálise covalente e catálise por íons metálicos explanam a grande maioria das reações enzimáticas. Porém, algumas condições adicionais favorecem um aumento considerável na velocidade da reação enzimática, quando presentes na molécula de enzima.

É o caso da existência de pontos de atração eletrostática entre a enzima e o substrato que excluem totalmente a água no sítio de ligação favorecendo uma reação em condições de extrema rapidez devido à aproximação máxima entre enzima e substrato. A ausência de água no sítio ativo leva a reação à condição de reação orgânicas em meio apolar que são mais rápidas que as que ocorrem em meio aquoso. Este tipo de mecanismo é denominado de **catálise eletrostática** e é verifi-

cado em várias enzimas, apesar de não ter seu mecanismo totalmente elucidado através de experimentos laboratoriais.

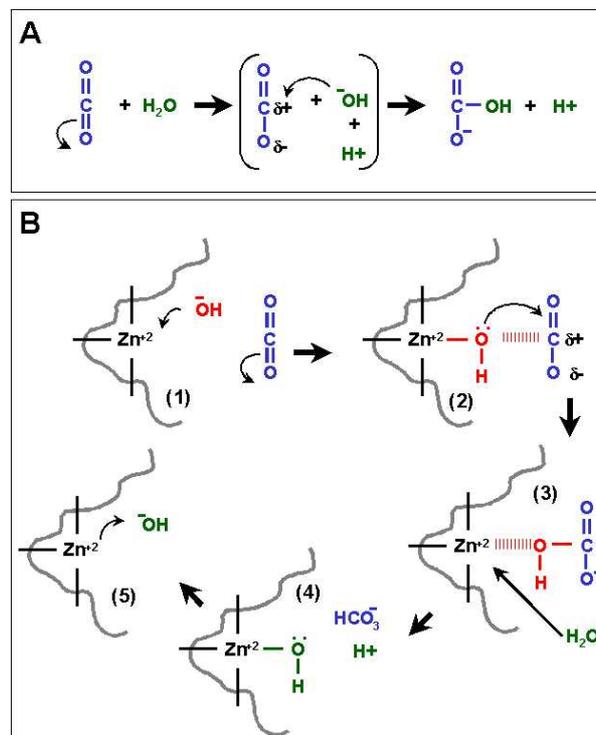


Figura 5-7 – Catálise por íon metálico. A) a hidratação de dióxido de carbono (CO_2) em bicarbonato (HCO_3^-) não catalisada; B) a catálise da reação pela enzima **anidrase carbônica**. O Zn^{+2} no sítio ativo (1) absorve $-OH$ da água o que permite a atração do CO_2 (2). A absorção de nova $-OH$ pelo Zn^{+2} (4) favorece a liberação do HCO_3^- e a regeneração da enzima (5). Observe que somente uma molécula de H_2O é degradada por mol de bicarbonato formado.

Um outro tipo de mecanismo de reação que incrementa a velocidade da reação é observado quando estão envolvidos mais de um substrato e as enzimas favorecem um alinhamento tridimensional entre as moléculas estabelecendo um grau de torção ideal para que os substratos reajam entre si de maneira mais rápida e com menor necessidade de energia para atingir o estado de transição. Este tipo de mecanismo é denominado de **catálise por efeitos de proximidade e orientação** e é uma maneira eficaz de acelerar a velocidade da reação enzimática.

Por fim, um efeito fundamental para a garantia de uma alta eficácia catalítica está atrelado ao fato de a enzima possuir maior afinidade pela molécula do estado de transição do que pelo substrato. Este mecanismo de

ação de **catálise por ligação preferencial à molécula do estado de transição** facilita a formação rápida do estado de transição para diminuir a tensão energética causada pela ligação com o substrato. Observe que as enzimas que possuem tal propriedade possuem alta afinidade pelo substrato, mas afinidade ainda maior pela molécula do estado de transição, porém promovem sua liberação, uma vez que o estado de transição é um estágio rápido onde logo se forma o produto, com a enzima liberando-o e se regenerando rapidamente.

Cinética enzimática

Como já percebemos, a velocidade da reação não é proporcional a existência de um equilíbrio de reação favorável, ou seja, a formação de produtos em níveis de energia livre (ΔG) mais baixos que os substratos. A diminuição da energia de ativação (ΔG_{At}) é o principal efeito da ação enzimática. A velocidade da reação está atrelada, portanto, não a um valor negativo alto de ΔG , mas uma menor variação de ΔG_{At} , como é observado na reação enzimática.

Qualquer reação química tem sua velocidade aumentada pelo aumento da concentração dos reagentes. Nas reações catalisadas por enzimas, um aumento da concentração do substrato também aumenta a velocidade de reação, mas somente até um determinado ponto que corresponde a um valor da concentração do substrato em que a capacidade catalítica da enzima está no máximo e a reação atinge, portanto, sua velocidade máxima, não aumentando mesmo que se aumente a concentração do substrato (Figura 5-8).

Na prática, isto acontece quando existe mais enzima disponível que substrato, ou seja, quando a concentração da enzima está saturada em relação ao substrato.

Quando os substratos estão em concentração bastante inferior a da enzima, há a predominância da forma livre da enzima uma vez que poucas moléculas de enzimas são necessárias para as poucas moléculas de substrato.

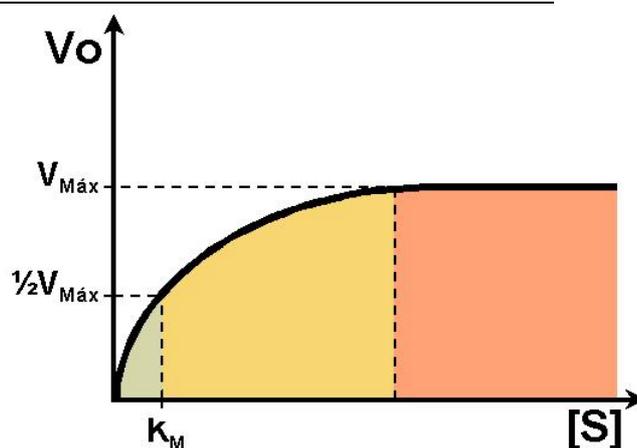


Figura 5-8 - A velocidade da reação enzimática aumenta com o aumento da concentração do substrato até o ponto em que atinge sua velocidade máxima. A partir deste ponto, a velocidade torna-se constante, independente do aumento da concentração do substrato. K_M (constante de Michaelis-Menten) corresponde à concentração de substrato suficiente para atingir a metade da velocidade máxima. O valor de K_M é igual a $[S]$ quando a enzima encontra-se na metade de sua velocidade máxima.

Há a um aumento da velocidade da reação com o aumento da concentração do substrato devido ainda haver enzima disponível para a catálise. Isto, entretanto, ocorre até um determinado ponto onde há a equivalência entre a concentração da enzima e do substrato, o ponto de saturação da enzima. Na verdade, a saturação da enzima não ocorre quando há partes equivalentes entre o substrato e a enzima, uma vez que há uma relação distinta entre as concentrações necessárias de enzima para degradar o substrato em uma unidade de tempo, usualmente, um minuto.

Assim, algumas enzimas estão funcionando a pleno vapor quando existem, por exemplo, 3 moles de enzima para cada três moles de substratos ou, ainda, 5 moles de substratos para cada mol de enzima. Na Figura 5-9 está representada a variação da velocidade da reação enzimática em função da concentração do substrato, para uma enzima hipotética que trabalhe em concentrações fictícias de 1 mol de enzima degradando 1 mol de substrato em um minuto.

Como pode ser observado, quando há a saturação da enzima, a adição de mais substrato não promove o aumento da reação, no entanto, a enzima poderá degradar todo o substrato adicionado, desde que tenha tempo disponível para isso. Esta observação acres-

centa um fator fundamental para o estudo da cinética enzimática: o **tempo**.

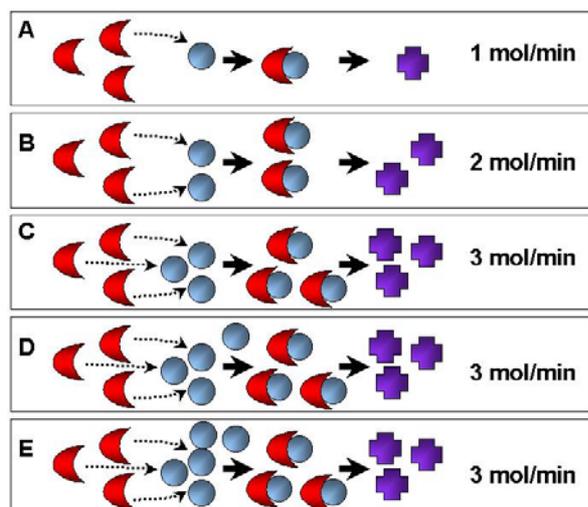


Figura 5-9 – Representação esquemática da velocidade de reação enzimática. As figuras de A a E representam a adição crescente de substrato (círculo) em relação a uma concentração constante de enzima (meia lua) formando um complexo enzima substrato e liberação do produto (cruz). A partir de C, a enzima encontra-se saturada e a velocidade máxima de 3 moles/min não se altera.

Na Figura 5-8, note que existe um valor de concentração de substrato $[S]$ em que é atingida a velocidade máxima ($V_{\text{máx}}$). Obviamente a concentração da enzima $[E]$ permanece constante durante a análise, pois se aumentar $[E]$, a tal ponto de ela não se encontrar saturada, a velocidade da reação também aumentará atingindo a velocidade máxima em outro patamar de $[S]$.

Ainda no gráfico da figura 5-8, observa-se que existe um determinado valor da concentração do substrato que é necessário para se atingir a metade da velocidade máxima ($1/2V_{\text{máx}}$). Este valor de $[S]$ é denominado de K_M , a **constante de Michaelis-Menten**, casal de pesquisadores que determinou a expressão quantitativa da relação de $[S]$ e a velocidade da reação enzimática, através da equação geral:

$$V_o = \frac{V_{\text{máx}}[S]}{K_M + [S]}$$

Onde:

V_o = velocidade inicial de uma reação enzimática

$V_{\text{máx}}$ = velocidade máxima da reação

K_M = constante do equilíbrio estacionário de Michaelis-Menten

$[S]$ = concentração do substrato

Uma correlação matemática importante é observada no caso especial em que a velocidade inicial da reação é exatamente a metade da velocidade máxima, isto é, quando $V_o = 1/2V_{\text{máx}}$, então teremos:

$$\frac{V_{\text{máx}}}{2} = \frac{V_{\text{máx}}[S]}{K_M + [S]}$$

Deduzindo esta fórmula, teremos que $K_M = [S]$, conforme demonstrado na análise gráfica da Figura 5-8. Podemos afirmar, então, que a constante de **Michaelis-Menten** é igual à concentração de substrato na qual a velocidade inicial da reação é metade da velocidade máxima. Esta constante é um valor importante na caracterização da cinética enzimática, pois uma enzima pode ter a mesmo valor de velocidade máxima que outra enzima, porém dificilmente terá o mesmo valor de K_M , que irá indicar que a concentração de substrato necessária para saturar a enzima é diferente. Desta forma, reações enzimáticas que possuam baixo K_M irão atingir a velocidade máxima em valores de $[S]$ bem menor, o que indica que a enzima será bem mais rapidamente saturada com o substrato do que uma enzima que tenha o K_M maior, indicando que quanto maior o K_M mais lenta é a reação enzimática.

Esta e outras observações são melhores visualizadas através de uma modificação do gráfico da Figura 5-7 através do gráfico do **duplo-recíproco de Lineweaver-Burk** descrito na Figura 5-10. Este tipo de gráfico é resultante da relação dos **valores inversos** dos dois eixos cartesianos, no caso a velocidade inicial (V_o) e a concentração do substrato $[S]$.

Esta correlação permite que seja visualizado ponto importante no estudo da cinética enzimática através da simples inversão dos termos na equação geral e Michaelis-Menten:

$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_M + [S]}{V_{\text{máx}}[S]}$$

Ou, deduzindo a expressão:

$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_M}{V_{m\acute{a}x}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{m\acute{a}x}}$$

Este tipo de análise gráfica permite determinar com mais precisão a $V_{m\acute{a}x}$, o que se torna difícil pela análise dos valores verdadeiros da equação de Michaelis-Menten.

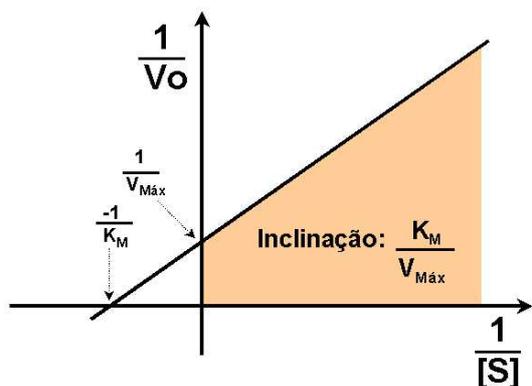


Figura 5-10 – O gráfico do duplo-recíproco de Lineweaver-Burk onde são determinados pontos importantes no estudo da cinética enzimática. Os valores de $1/V_{m\acute{a}x}$ são visualizados na interseção no eixo da $1/V_o$, enquanto que o valor de $-1/K_M$ corresponde à interseção com o eixo de $1/[S]$. Como correspondem a valores inversos, quanto maior o K_M , mais para a esquerda o ponto de interseção e quanto menor a velocidade máxima, mais abaixo o ponto de interseção, e vice-versa.

Por essa análise, o gráfico adota uma configuração linear onde a inclinação corresponde a relação $K_M/V_{m\acute{a}x}$. Note que como os valores plotados são os inversos dos reais, quanto maior a inclinação para cima, maiores serão os maiores os valores do eixo $1/V_o$, ou seja, menor a velocidade e, portanto, mais lenta será a reação enzimática. Logo, quanto maior a inclinação para baixo, mais veloz a reação. Da mesma forma, quanto mais para a direita, menor o valor de K_M .

Portanto, como a inclinação está diretamente relacionada com o K_M uma queda em seu valor leva a uma queda na inclinação do gráfico o que revela que quanto maior for o K_M , mais lenta será a velocidade reação.

Esta queda na velocidade pode ocorrer, ainda, sem a modificação do valor do K_M , bastando para isso que diminua somente o valor da velocidade máxima, mantendo-se o K_M inalterado, como é o caso de certos inibidores que se ligam ao sítio ativo da enzima e a impedem de catalisar a reação.

A análise do gráfico duplo-recíproco de Lineweaver-Burk será melhor esplanada durante o estudo dos inibidores enzimáticos, ainda neste capítulo.

Regulação enzimática

Como na célula existe um verdadeiro emaranhado de reações químicas onde os produtos de uma reação são os substratos de outras, é muito comum que uma das enzimas de uma via metabólica determine a velocidade de todo o processo diminuindo a velocidade da reação, limitando a velocidade para o conjunto de reações seguidas. Este fator provoca o cúmulo do substrato e o seu deslocamento para outras vias metabólicas acessórias.

A atividade enzimática também pode sofrer alterações com a variação do pH intracelular. Todas as enzimas possuem um pH ótimo de atuação onde qualquer variação para mais ou menos, modifica a eficácia da reação enzimática. Isto se deve pelo fato de haver aminoácidos cujo radicais R funcionam como ácidos ou bases, doando ou cedendo prótons para o meio. Em vista disso, há a alteração da carga no sítio catalítico ou na conformação tridimensional da proteína de maneira que impeça a ligação de forma eficaz com o substrato. Variações na temperatura também diminuem a eficácia da reação enzimática por modificar o equilíbrio químico.

Variações extremas de pH (geralmente abaixo de 4,0 e acima de 8,0) e temperatura (acima de 56°C) *in vitro* terminam por desnaturar de maneira irreversível as enzimas

Existem vários tipos de enzimas de regulação, dos quais enfatizaremos três:

a) Enzimas alostéricas:

Neste importante tipo de regulação, há a formação de uma ligação não-covalente e reversível da enzima com o seu produto ou (mais freqüentemente) com um dos produtos das reações seguintes, levando a desestabilização da sua forma tridimensional o que impede a regeneração para consumir nova molécula do substrato.

Na molécula da enzima há um ponto especial para o encaixe com esse metabólito regulador, denominado **sítio de regulação** ou

alostérico (do latim *alos* = outros e *estereo* = espaço, lugar). Ocorre um feedback negativo entre o produto e a enzima, impedindo que nova molécula de produto seja produzida. Esse regulador pode ser um ativador da atividade enzimática aumentando a velocidade da reação por aumentar a especificidade com o substrato (feedback positivo).

O próprio substrato pode desempenhar o papel de regulador (nas enzimas ditas **homotrópicas**). Quando o regulador é diferente do substrato, a enzima é denominada de **heterotrópica**.

O término da regulação ocorre com a retirada do regulador da molécula da enzima, uma vez que a ligação que os une não é covalente irreversível. Esta saída está condicionada ao requerimento da molécula reguladora para a via metabólica e se dá quando sua concentração cai o que vai estimular a enzima (que estava inibida) a produzir mais produto. Esta regulação paradoxal onde o produto inibe sua própria síntese é extremamente eficaz e controla a velocidade de formação do produto e degradação do substrato.

Um exemplo clássico deste tipo de regulação é observado durante o metabolismo energético, onde o ATP promove a inibição alostérica na maioria das enzimas na via metabólica do ciclo de Krebs (ver Capítulo sobre Bioenergética).

b) Enzimas reguladoras por ligações covalentes reversíveis:

Há a formação de uma enzima inativa pela adição de grupamentos fosfato inorgânico ($\text{Pi} = \text{PO}_3^-$), AMP (adenosina mononucleotídeo fosfato), UMP (uridina mononucleotídeo), ADPribose (adenosina difosfato + ribose) ou metil ($-\text{CH}_3$), através de ligação covalentes por intermédio de outras enzimas.

Este tipo de regulação gera enzimas inativas quando ligadas ao grupamento, havendo sua ativação com a retirada do grupamento. É um método, também, bastante eficaz uma vez o grupamento adicionado pode ser o produto de sua própria via metabólica (uma regulação alostérica) ou, mais frequentemente, o produto de uma via metabólica paralela sujeita à regulação própria.

A ativação e inativação das enzimas da **glicogenólise** (degradação do glicogênio) através de enzimas fosforilases oriundas de via metabólica regulatória do metabolismo de hormônios como o glucagon é um bom exemplo deste tipo de regulação (ver o Capítulo sobre metabolismo de carboidratos).

c) Enzimas reguladas por clivagem proteolítica:

Neste tipo de regulação, há a participação de um precursor inativo da enzima, denominado **zimogênio** que corresponde a uma enzima com aminoácidos a mais dos que os necessários para a função catalítica. Na forma de zimogênio, esses aminoácidos adicionais impedem a ação catalítica da enzima.

Esse tipo de enzimas regulador retira peptídeos ou aminoácidos do zimogênio proporcionando a sua ativação. Note que a retirada dos aminoácidos é mediada por enzima que possuem mecanismos próprios de regulação, na maioria das vezes alostéricos.

Uma bom exemplo deste tipo de regulação é o mediado pela enzima **renina**, produzida pelas células justaglomerulares renais, que retira aminoácidos da molécula de **angiotensinogênio** (o zimogênio) e a converte em **angiotensina I**. Ainda nesta mesma via metabólica, a angiotensina II tem aminoácidos retirados por outra enzima, a **ECA** (enzima conversora de angiotensina) gerando a **angiotensina II**, potente vasoconstritor e ativador de outras reações biológicas.

Além desses três mecanismos básicos, a atividade enzimática também pode sofrer alterações com a variação do pH intracelular. Todas as enzimas possuem um pH ótimo de atuação onde qualquer variação para mais ou menos, modifica a eficácia da reação enzimática. Isto se deve pelo fato do grupamento funcional estar ionizado nas ligações peptídicas (ver Capítulo 4 sobre proteínas) e de haverem aminoácidos cujo radical R funcionam como ácidos ou bases, doando ou cedendo prótons para o meio.

Em vista disso, há a alteração da carga no sítio catalítico ou na conformação tridimensional da proteína de maneira que impeça a ligação de forma eficaz com o substrato.

Variações na temperatura também diminuem a eficácia da reação enzimática por modificar o equilíbrio químico.

Variações extremas de pH (geralmente abaixo de 4,0 e acima de 8,0) e temperatura (acima de 56°C) *in vitro* terminam por desnaturar de maneira irreversível as enzimas.

Entretanto, a variação de pH e temperatura não podem ser encarados como um mecanismo regulador, uma vez que há o decréscimo generalizado de todas as enzimas dentro de uma mesma via metabólica. Tais fatores são, portanto, acessórios no estudo da regulação enzimática.

Mecanismos de inibição enzimática

A reação enzimática pode, ainda, sofrer ação de **agentes inibidores** que diminuem a velocidade da reação, agindo por mecanismos diversos que podem ser produtos do próprio metabolismo celulares ou externas ao organismo, como é o caso de vários tipos de medicamentos. Essa ação inibidora, longe de ser um empecilho à reação, mostra um eficaz mecanismo de regulação quando associado a uma via metabólica onde o inibidor é um dentre os muitos produtos da via.

Os mecanismos de inibição são, em sua maioria, reversíveis, havendo a regeneração da ação enzimática quando cessa ação do inibidor.

Entretanto, alguns inibidores agem de forma mais drástica ligando-se irreversivelmente à enzima, destruindo sua ação catalítica. Neste caso, somente a síntese de nova molécula de enzima restaura sua ação, o que nem sempre é possível, pois a inibição pode levar à morte da célula como é o caso de vários antibióticos desenhados para destruir enzimas chaves do metabolismo bacteriano.

Os principais tipos de inibição podem ser agrupados em três grupos distintos:

a) Inibidores enzimáticos competitivos:

Reagem reversivelmente com a enzima livre no sítio catalítico em competição com o substrato, para formar um complexo **enzima-inibidor**.

A inibição ocorre em virtude de uma extrema similaridade tridimensional do inibidor

com o substrato, entretanto a enzima não promove sua quebra, ao invés disso fica impedida de ligar-se com o substrato, que passa a se acumular. Com o aumento da concentração do substrato, aumenta a probabilidade da enzima ligar-se ao substrato e não ao inibidor o que leva ao fim da inibição.

Desta forma, o efeito inibidor se dá de maneira mais eficaz em concentrações baixas do substrato e é revertido por grandes concentrações de substrato. Esses efeitos podem ser observados no gráfico de velocidade de reação (Figura 5-11) onde o ponto chave da análise fica por conta da não mudança da velocidade máxima da reação, que se torna, entretanto, mais lenta devido à diminuição do valor do K_M , conforme discutido anteriormente.

b) Inibidores não-competitivos:

Reagem com a enzima livre, mas não no sítio catalítico. É o tipo clássico de regulação alostérica.

Como a ligação do inibidor não se faz no sítio catalítico, não há diminuição da inibição com o aumento da concentração de substrato como na inibição competitiva. Logo, a única maneira de reverter a inibição é a retirada do inibidor da molécula da enzima, o que é feito, geralmente, por ação de outra enzima.

Como a queda na velocidade da reação ocorre independentemente da concentração do substrato, o K_M sofre mínima ou nenhuma variação, o que indica que o aumento da inclinação do gráfico de Lineweaver-Burk (queda na velocidade) é induzido pela queda da $V_{m\acute{a}x}$. Na Figura 5-12 estão descritas as implicações de uma inibição não competitiva na análise gráfica da cinética enzimática.

Alguns tipos de inibidores não competitivos podem combinar-se reversivelmente com o complexo enzima-substrato ao invés do substrato, evitando a formação de produtos. Este tipo de inibição é frequentemente denominada de **incompetitiva** e obedece aos mesmos princípios cinéticos da inibição não-competitiva.

c) Inibidores irreversíveis:

Promovem uma alteração permanente, química, de algum grupo funcional essencial na molécula da enzima. Muitos medicamentos modernos são inibidores irreversíveis de uma

reação enzimática específica o que confere uma alta especificidade e poucos efeitos colaterais.

A destruição do sítio catalítico promove a queda sumária da velocidade da reação enzimática, com a observação do aumento do valor de K_M e a queda da $V_{máx}$. Este efeito é o mesmo observado quando se analisa uma mesma reação enzimática frente a concentrações diferentes de enzima, devido ao efeito inibitório ser definitivo e retirar as enzimas do meio.

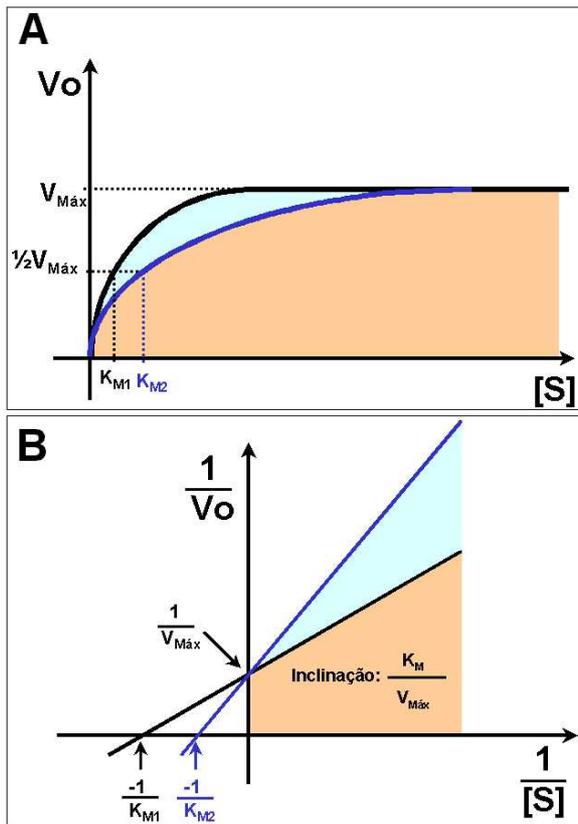


Figura 5-11 – Análise gráfica da ação de inibidores enzimáticos competitivos. A) o efeito do inibidor leva a uma queda na curva, com aumento do K_M e manutenção dos valores de $V_{máx}$; B) gráfico de Lineweaver-Burk onde os valores inversos da velocidade e de $[S]$ revelam que a inibição competitiva ocorre com o aumento do K_M (aumento da inclinação).

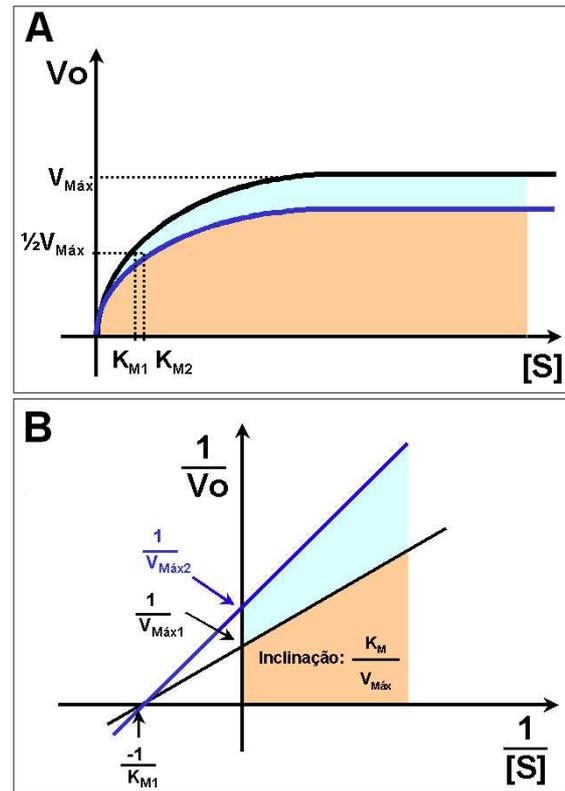


Figura 5-12 – O efeito de inibidores não-competitivos na análise gráfica da cinética enzimática. A) devido ao impedimento no sítio catalítico, a enzima inibida não pode atingir a velocidade máxima e um aumento de substrato não reverte a inibição. B) a queda da $V_{máx}$ é a causa do aumento da inclinação do gráfico enquanto que o valor de K_M apresenta pouco ou nenhum aumento.

EXERCÍCIOS

1. Descreva a estrutura molecular básica das proteínas.
2. Conceitue isoenzimas, co-enzimas e holoenzimas.
3. No que se baseia a classificação das enzimas?
4. Quais as principais classes enzimáticas?
5. Por que as enzimas são catalizadores tão eficazes?
6. Descreva os mecanismos de ação enzimática.
7. Comente sobre alguns fatores que aceleram a ação enzimática.
8. Quais as características básicas da cinética enzimática?
9. Quais os mecanismos de regulação enzimática?

Para navegar na internet

Fundamentos de Bioquímica

www.fundamentosdebioquimica.hpg.com.br

Image Library of Biomolecules:

www.imb-jena.de/IMAGE.html

Webioquímica

www.pucpr.br/disciplinas/bioquimica/Webio1.html

3D Images of proteins

www.imb-jena.de/IMAGE.html

Capítulo 6

Carboidratos

Os carboidratos (também chamados sacarídeos, glicídios, oses, hidratos de carbono ou açúcares), são definidos, quimicamente, como poli-hidróxi-cetonas (**cetoses**) ou poli-hidróxi-aldeídos (**aldoses**), ou seja, compostos orgânicos com, pelo menos três carbonos onde todos os carbonos possuem uma hidroxila, com exceção de um, que possui a carbonila primária (grupo aldeídico) ou a carbonila secundária (grupo cetônico) (Figura 6-1).

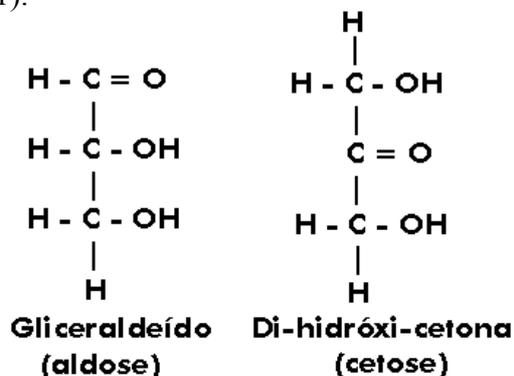


Figura 6-1 - Os monossacarídeos mais simples. Como os demais monossacarídeos, aqueles que possuem o grupo funcional aldeído são denominados **aldoses** e os que contêm o grupo cetona são as **cetoses**. O gliceraldeído já demonstra uma importante propriedade dos carboidratos, a isomeria óptica graças ao seu carbono 2 assimétrico.

Os carboidratos mais simples possuem de três a oito carbonos, os **monossacarídeos**, e possuem a fórmula empírica $\text{C}_n(\text{H}_2\text{O})_n$. A grande informação embutida por detrás desta fórmula geral, na verdade, é a origem dos carboidratos nos fenômenos fotossintéticos dos vegetais (Figura 6-2). Devido esta origem, os carboidratos contêm na intimidade de sua molécula a água, o CO_2 e a energia luminosa do sol utilizados em sua síntese.

A organização mais complexa entre mais de uma molécula de carboidrato, gerará polímeros formado pela perda de uma molécula de água o que confere a fórmula geral $\text{C}_n(\text{H}_2\text{O})_{n-1}$ própria para esses carboidratos. Alguns carboidratos, porém, possuem em sua estrutura nitrogênio, fósforo ou enxofre não se adequando, portanto, à fórmula geral.

A conversão da energia luminosa em energia química faz com que esses compostos fotossintéticos funcionem como um verdadeiro combustível celular, liberando uma grande quantidade de energia térmica quando quebrado as ligações dos carbonos de sua molécula, liberando, também, a água e o CO_2 que lá se encontravam ligados.

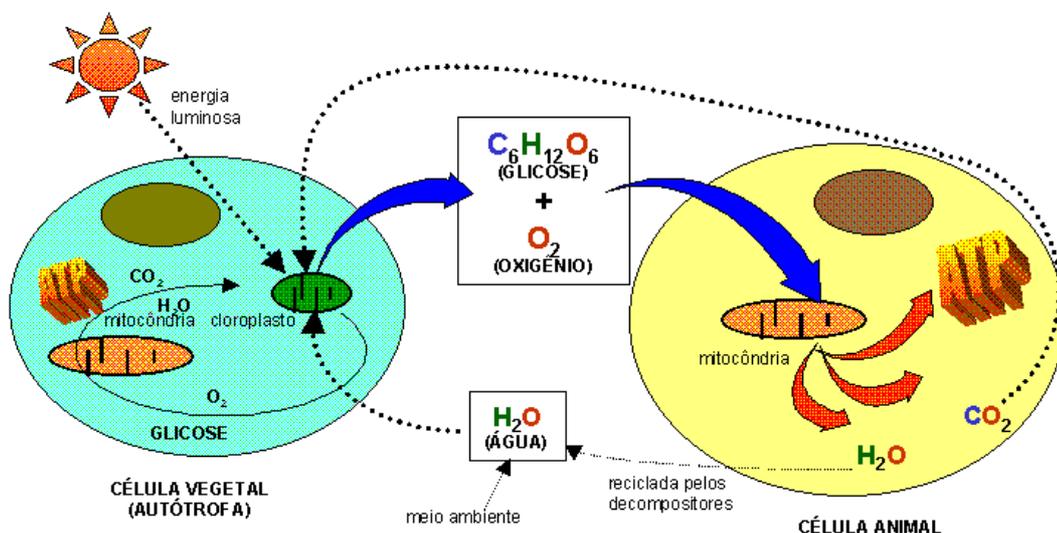


Figura 6-2 - Os carboidratos são as biomoléculas energéticas que garantem a reciclagem do carbono na biosfera. Na figura está representada a participação de mitocôndrias e cloroplastos na reciclagem do carbono.

De fato, desde a bactéria mais simples e antiga até os animais mais jovens na escala evolutiva (entre eles, certamente, o homem) contém as enzimas necessárias para a quebra da molécula da **glicose**, uma hexose, o principal representante dos carboidratos.

Todo o metabolismo energético celular gira em torno dos processos metabólicos da glicose e vários distúrbios patológicos são evidenciados quando há uma deficiência nas vias metabólicas da glicose, como é o caso da **diabetes mellitus** doença de alta incidência mundial caracterizada pela deficiência na função do hormônio pancreático insulina, responsável pela regulação da glicose sanguínea.

Os animais não são capazes de sintetizar carboidratos a partir de substratos simples não energéticos, como os vegetais. Desta forma, precisam obtê-los através da alimentação, produzindo CO₂ (excretado para a atmosfera), água e energia (utilizados nas reações intracelulares).

Os lipídios são sintetizados nos vegetais e animais a partir da **acetil-CoA**, o produto principal do metabolismo aeróbico da glicose, sendo utilizados como fonte de energia quando há escassez de carboidratos. Da mesma forma, as proteínas são utilizadas como fonte energética alternativa. Desta forma, principalmente os animais, lipídios constituem reserva energética sintetizada diretamente a partir do metabolismo da glicose.

Nos animais, há um processo de produção de intermediários metabólicos da glicose que simulam uma síntese, chamado **neoglicogênese** que fornece carboidratos a partir de precursores não glicídicos. Porém tal processo só é possível a partir de substratos provenientes de um prévio metabolismo glicídico, lipídico ou, principalmente, protéico, o que não supre a necessidade de obtenção de carboidratos pela alimentação, o que torna os animais dependentes dos vegetais em termos de obtenção de energia.

De fato, os vegetais são privilegiados no sentido que garantem seu combustível celular através da fotossíntese. A **clorofila** presente nas células vegetais é a única molécula da natureza que não emite energia em forma de calor imediatamente após ter tido seus elétrons excitados pela luz: ela utiliza esta energia para movimentar elétrons

para movimentar elétrons em uma rede de enzimas transportadoras de elétrons que garantem ATP suficiente para unir átomos de carbono do CO₂ absorvido, armazenando a energia solar nas moléculas de glicose sintetizadas neste processo fotossintético.

O sistema metabólico celular tem como base a utilização da energia contida nas moléculas de carboidratos e nas biomoléculas a eles relacionados, no intuito de liberar energia térmica para as reações bioquímicas da célula.

Esta energia térmica, por fim, é convertida em ligações altamente energéticas de fosfato na molécula de ATP durante o processo de respiração celular (fosforilação oxidativa) tornando o ATP um verdadeiro armazém da energia solar que se conservou através de todo esse fantástico processo biológico.

Os monossacarídeos

São os carboidratos mais simples. Possuem de 3 a 8 carbonos, sendo denominado, respectivamente, trioses, tetroses, pentoses, hexoses, heptoses e octoses.

Têm uma única unidade cetônica ou aldeídica, possuindo pelo menos um átomo de carbono assimétrico (C*) existindo, portanto, formas estereoisoméricas, com exceção da di-hidróxi-cetona, que não possui C* (ver Figura 6-1).

Os C* possibilitam a existência de isômeros ópticos e caracterizam a região da molécula denominada **centro quiral**, do latim *quiros* = mão, em referência a conformação isomérica semelhante a duas mãos que não se superpõem mas são idênticas (Figura 6-3).

Os monossacarídeos possuem, portanto, inúmeros isômeros estruturais e ópticos, com os quais compartilham a prioridade nos processos bioenergéticos. Como todo composto orgânico que possui carbono assimétrico, o número de isômeros ópticos é determinado por 2^n (n = número de C* da molécula). A glicose (como todas as hexoses) possui 16 isômeros ópticos devido possuir 4 carbonos assimétricos, logo $2^4 = 16$.

Este grande número de isômeros leva a ocorrência de uma mistura racêmica quando os carboidratos encontram-se dissolvidos em

água. Entretanto, o equilíbrio tende para a forma mais estável que é obtida por uma reação intramolecular que ocorre entre a carbonila do grupamento funcional com uma das muitas hidroxilas da molécula, formando um composto cíclico denominado **hemiacetal**.

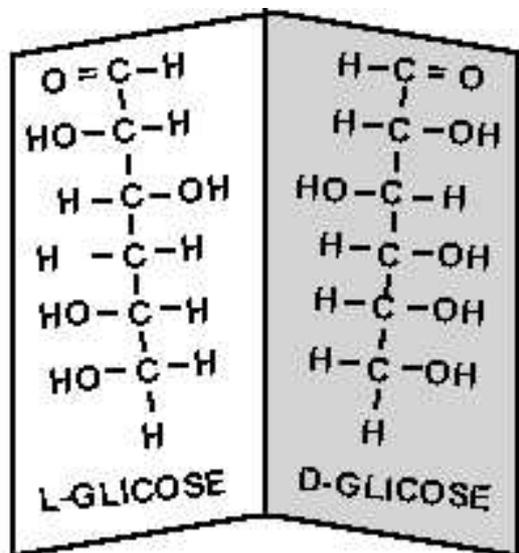


Figura 6-3 - A glicose, como todos os monossacarídeos, possui isômeros ópticos devido a presença carbonos assimétricos.

Esta forma cíclica dos monossacarídeos é possível graças à grande diferença de eletronegatividade do oxigênio e os átomos de carbono e hidrogênio da molécula, que dá aos carbonos e hidrogênio uma carga elétrica parcialmente positiva e aos oxigênios uma carga parcialmente negativa (Figura 6-4). Entretanto, devido à configuração espacial final da molécula de hexoses e pentoses, há a possibilidade de reação intramolecular entre o grupamento funcional e um dos carbonos mais distantes, formando um composto cíclico (hemiacetal) que se mostra mais estável que a forma aberta, não cíclica.

Esta forma de hemiacetal é mais estável e a formação de isômeros deve ser antecedida da quebra do anel o que diminui a probabilidade de encontra-se os demais isômeros ópticos em uma solução de monossacarídeos devido a maior estabilidade do hemiacetal.

Os monossacarídeos de ocorrência natural mais comum, como a **ribose** (5C), **glicose** (6C), **frutose** (6C) e **manose** (6C), existem na forma de hemiacetais quer na formas de **furanose** (um anel de 5 elementos, menos estável) ou de **piranose** (um anel de 6 ele-

mentos, mais estável). Esta denominação está relacionada com a semelhança com o furano e o pirano, poderosos solventes orgânicos mas que não tem nenhuma relação com os monossacarídeos, a não ser a semelhança estrutural (Figura 6-5).

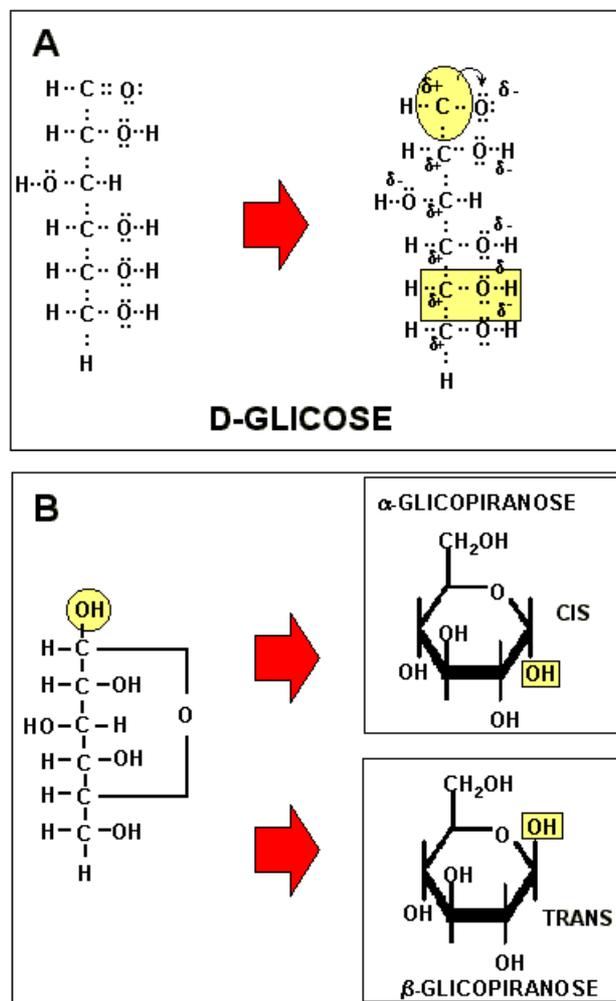


Figura 6-4 - A formação da forma hemiacetal de α e β -glicopiranoose. A) representação do arranjo eletrônico na molécula de glicose. Note que o C1 apresenta-se com maior diferença de carga elétrica que os demais carbonos. B) a união entre o C1 e o oxigênio e C5 forma uma ponte etér entre eles. O C1 passa a ter uma hidroxila que antes não possui, gerando dois isômeros: o α e o β , CIS e TRANS em relação ao C2, respectivamente.

Esta forma estrutural cíclica de hemiacetal, resulta da reação intramolecular entre o grupamento funcional (C1 nas aldoses e C2 nas cetoses) e um dos carbonos hidroxilados do restante da molécula (C4 na furanose e C5 na piranose).

Furanoses e piranoses ocorrem nas formas isoméricas α e β (cis ou trans), conforme a posição da hidroxila do C2 em relação à hidroxila do C1.

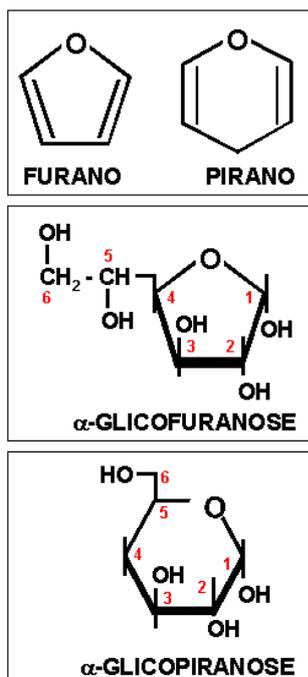


Figura 6-6 - A forma cíclica de hemiacetal adquire semelhança estrutural aos solventes orgânicos furano e ao pirano, de onde sua nomenclatura é derivada. A forma de glicopiranoose é menos estável que a de glicofuranoose devido ser um anel de cinco elementos.

Uma propriedade química importante de monossacarídeos livres ou ligados a outros elementos (inclusive a outros monossacarídeos), é o **poder redutor** (são oxidados) se o C1, na forma de hemiacetal, apresentar hidroxila livre, ou seja não esteja ligado a nenhum composto. Este poder redutor pode ser comprovado ao reagir um carboidrato (p.ex.: a glicose) com um reagente suscetível a redução (um oxidante), como o Cu^{+2} , que se reduz a Cu^{+1} . Essas reações clássicas de oxidação-redução foram um dos primeiros métodos de identificar glicose em líquidos orgânicos.

O poder redutor da glicose revela, também, a sua capacidade de se oxidar durante o processo metabólico. a oxidação química da glicose no C1 fornece o ácido glicônico (Figura 6-7), enquanto o produto final da oxidação enzimática completa no metabolismo celular é CO_2 e H_2O .

Uma implicação importante deste poder redutor é comprovada na caracterização do poder redutor em cetoses (normalmente, cetonas não são redutores, aldeídos sim). Isto pode ser explicado pelo fato de cetoses e aldoses se interconverterem através de um fenômeno químico chamado **tautomeria**, devida a um rearranjo molecular entre o C2 e o C1 das cetoses, formando seu isômero aldose. Assim a frutose, por exemplo, converte-se em glicose e, como tal, apresenta poder redutor

(Figura 6-8). De fato, uma solução de glicose contém na verdade uma mistura em equilíbrio de glicose e frutose.

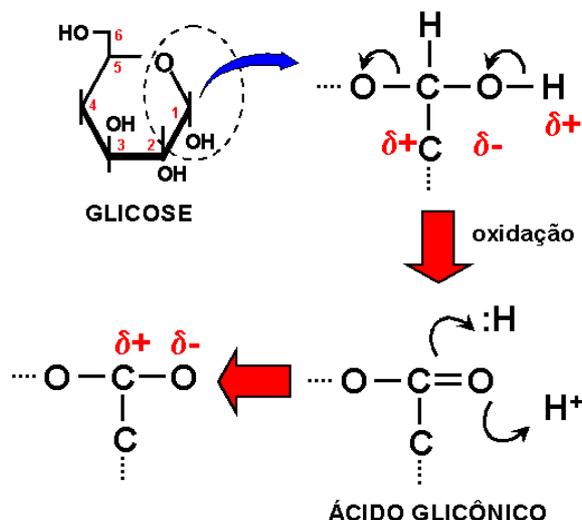


Figura 6-7 - Poder redutor da glicose. Há a perda de prótons e elétrons que são captados pelos agentes reduzidos durante a oxidação da glicose.

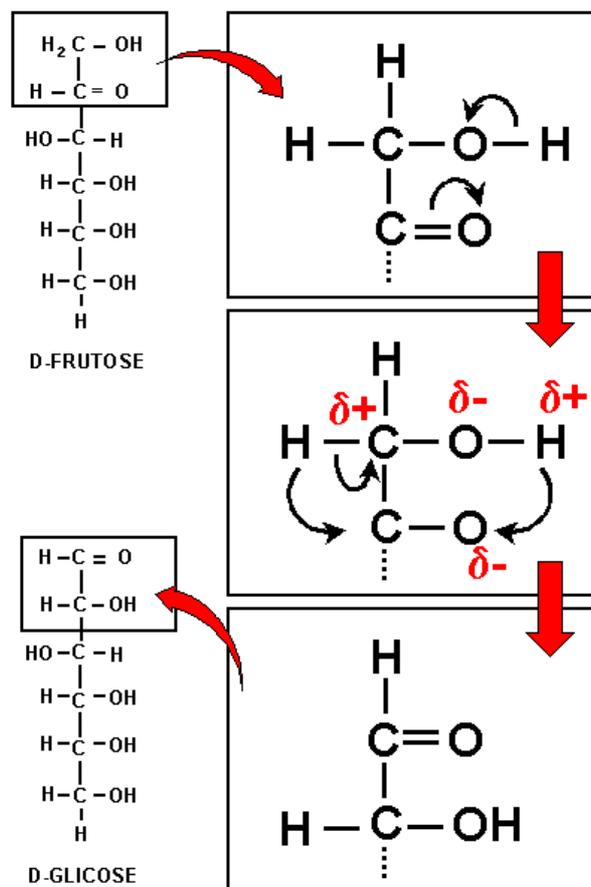


Figura 6-8 - A frutose em glicose é convertida por tautomeria entre o C1 e o C2. A reação é reversível e justifica o poder redutor das cetoses.

Todos os monossacarídeos possuem inúmeros isômeros ópticos, estruturais e de função, mas apenas a α -D-glicopiranosose possui uma via metabólica comum a todos os seres vivos. Este fato faz deste monossacarídeo o mais importante para o metabolismo energético, com os demais tendo que ser convertido em glicose ou em intermediários de seu metabolismo.

O fato de a glicose ser o carboidrato de eleição para o metabolismo energético celular tem uma justificativa evolucionária, onde se atribui o sucesso de sua utilização pelas células primordiais tendo favorecido as gerações que apresentaram enzimas adaptadas à forma tridimensional da α -D-glicopiranosose ao invés dos demais isômeros.

Na Figura 6-9 estão representados alguns monossacarídeos de importância biológica, dentre os inúmeros existentes.

Dissacarídeos

São formados por dois monossacarídeos unidos por ligação covalente (**ligação glicosídica**). A ligação glicosídica ocorre entre as hidroxilas do C1 de um monossacarídeo com qualquer um outro carbono do outro monossacarídeo.

Esta ligação pode ocorrer entre carbonos que estejam no mesmo plano espacial (cis ou α) ou entre carbonos em diferentes planos (trans ou β).

Existem vários dissacarídeos presentes na alimentação, como, por exemplo:

- Trealose** = glicose + glicose $\alpha(1\rightarrow1)$;
- Celobiose** = β -glicose + β -glicose $(1\rightarrow4)$;
- Maltose** = glicose + glicose $\alpha(1\rightarrow4)$ presente no malte.
- Iso-maltose** = isômero $\alpha(1\rightarrow6)$ da maltose (subproduto da digestão do amido e glicogênio);
- Lactose** = glicose + galactose $\beta(1\rightarrow4)$ - é o principal carboidrato do leite;
- Sacarose** = glicose + frutose ($\alpha 1\rightarrow2$), a forma mais comum de açúcar, obtida da cana-de-açúcar, beterraba etc.

Os dissacarídeos são importantes fontes de carboidratos na alimentação, como é o caso da lactose que é o principal carboidrato da dieta dos mamíferos na fase de amamentação. Posteriormente, a maioria dos animais perde a capacidade de degradar a lactose devido à queda na produção intestinal da enzima que a degrada, a **lactase** (em humanos, isto ocorre, freqüentemente, na velhice).

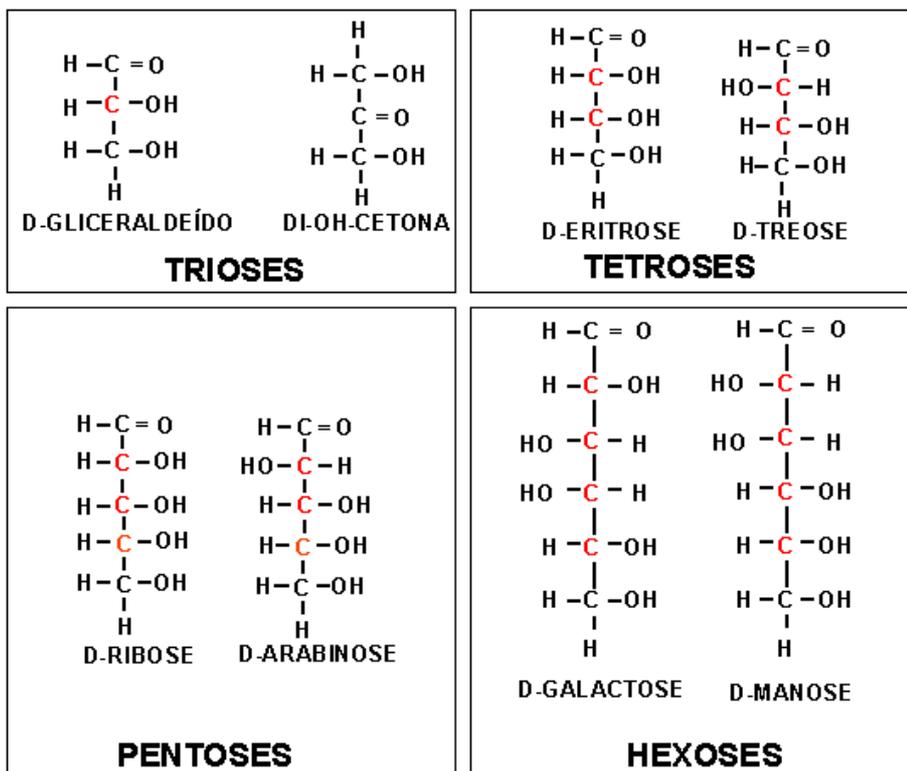


Figura 6-9 - Os monossacarídeos apresentam vários isômeros ópticos devido a presença de centros quirais devido a seus carbonos assimétricos (marcados em vermelho).

A sacarose é o dissacarídeo mais consumido o principal composto de sabor adocicado adicionado à alimentação humana.

A maltose é o principal substrato para a produção de cervejas fermentadas, como a cerveja e destilados como o uísque.

Na Figura 6-10 estão representadas as estruturas das moléculas dos principais dissacarídeos.

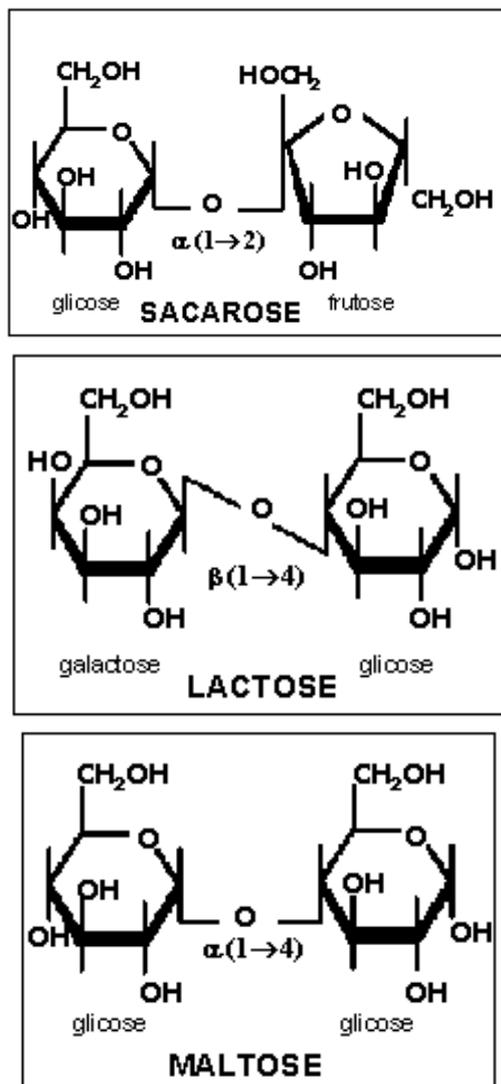


Figura 6-10 - Os principais dissacarídeos da dieta humana.

Polissacarídeos

Os **polissacarídeos** ou **glicanas** são polímeros de monossacarídeos (hexoses) unidos por ligação glicosídicas na forma α ou β . Alguns funcionam como reserva de carboidratos, outros atuam na morfologia celular.

Os **polissacarídeos de reserva** mais importantes são o **amido** e o **glicogênio** (Figura 6-11), ambos de alto peso molecular e polímeros da glicose em ligações $\alpha(1\rightarrow4)$ nas cadeias principais e ligações $\alpha(1\rightarrow6)$ nos pontos de ramificação, sendo o glicogênio mais compacto por apresentar mais ramificações em sua molécula.

Apenas a forma de **amilose** do amido não é ramificada, pois possui somente ligações do tipo $\alpha(1\rightarrow4)$; a forma **amilopectina** do amido é semelhante à molécula de glicogênio (ramificada).

Outros polissacarídeos possuem papel estrutural nas paredes celulares. A **celulose** (Figura 6-12) é formada por moléculas de glicose unidas por ligações $\beta(1\rightarrow4)$ e é o principal constituinte estrutural da parede celular dos vegetais, responsável por extrema resistência.

Graças à natureza da ligação $\beta(1\rightarrow4)$ entre as unidades de glicose, há a formação de pontes de hidrogênio dentro da molécula, o que torna a molécula de celulose bastante rígida e plana, permitindo o empilhamento de várias cadeias formando uma estrutura polimérica extremamente resistente.

É impregnada por outras substâncias poliméricas, não sendo digerida pelos animais, que não apresentam enzimas para quebrar este tipo de ligação, a exceção de animais herbívoros e cupins, que possuem bactérias e protozoários que digerem a celulose no aparelho digestivo desses animais (para maiores detalhes, ver Capítulo sobre metabolismo de carboidratos).

A celulose, como fibras vegetais, é importante na composição dos alimentos por manterem o trânsito intestinal e melhorar o metabolismo de proteínas, carboidratos e lipídios (ver Capítulo 2 sobre Alimentos).

As paredes porosas e rígidas das bactérias possuem **peptidoglicanas**, que são polissacarídeos lineares formados por unidades alternadas de ácido **N-acetil-murâmico** e **N-acetil-glicosamina** (derivados de carboidratos) interligados por cadeias polipeptídicas curtas.

O tecido conjuntivo dos animais possui vários **mucopolissacarídeos** (um tipo de glicoproteína) ácidos (p.ex.: o ácido hialurô-

nico), formados por unidades de açúcar alternadas, uma das quais contém o grupamento ácido. Estas estruturas, nas quais a porção polissacarídica predomina, são chamadas proteoglicanas.

A carapaça dos insetos contém **quitina**, um polímero de N-acetilglicosamina) que dá resistência extrema ao exo-esqueleto (Figura 6-13).

É grande a semelhança entre a estrutura molecular da quitina e da celulose, ambas isômeros $\beta(1\rightarrow4)$, o que as coloca como os polissacarídeos mais resistentes da Terra e, sem dúvida, os mais abundantes, haja vista o grande número de insetos e vegetais.

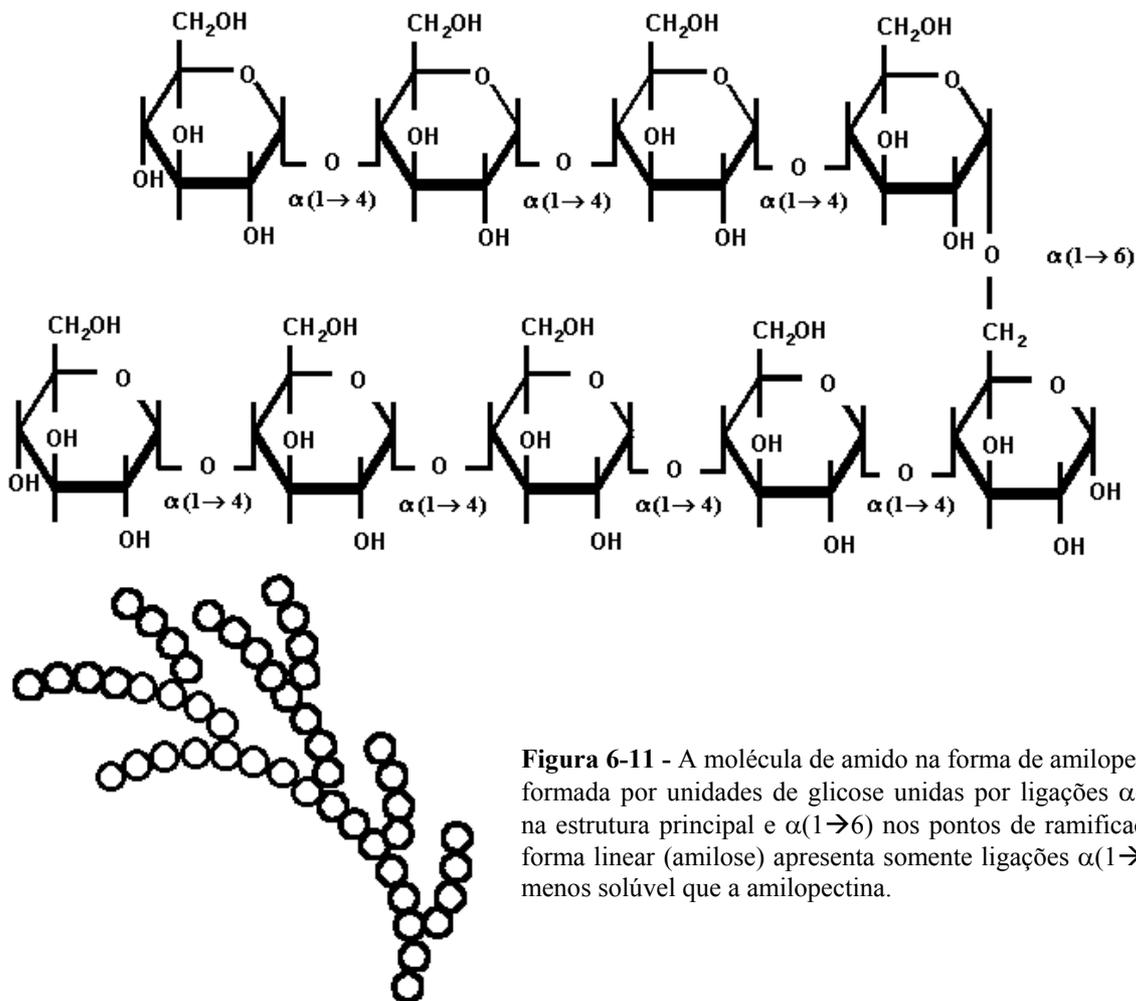
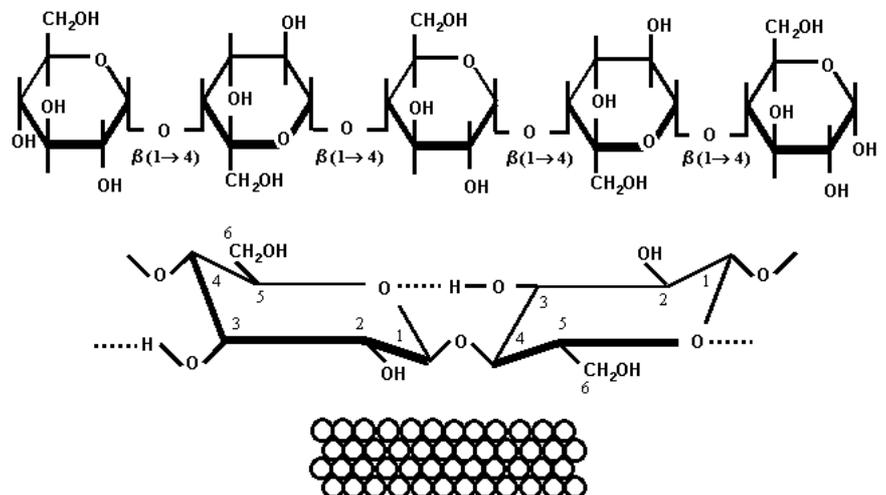


Figura 6-11 - A molécula de amido na forma de amilopectina é formada por unidades de glicose unidas por ligações $\alpha(1\rightarrow4)$ na estrutura principal e $\alpha(1\rightarrow6)$ nos pontos de ramificação. A forma linear (amilose) apresenta somente ligações $\alpha(1\rightarrow4)$ e é menos solúvel que a amilopectina.

Figura 6-12 - A estrutura molecular da celulose. As ligações $\beta(1\rightarrow4)$ não são quebradas pelas enzimas digestivas dos animais e a disposição das unidades de glicose na molécula permite a formação de pontes de hidrogênio e o empilhamento de cadeias, o que torna a celulose extremamente resistente.



As células animais têm um revestimento externo (**glicocálix**) macio e flexível formado por cadeias de oligossacarídeos (pequenos polissacarídeos) ligadas a lipídeos e proteínas.

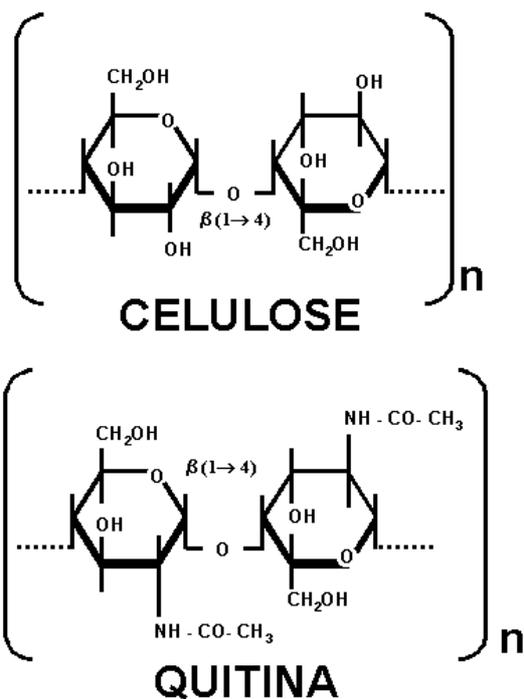


Figura 6-13 - A extrema semelhança entre a estrutura molecular da celulose e da quitina justifica sua larga distribuição como polissacarídeo estrutural em vegetais e insetos. A celulose é um polímero $\beta(1 \rightarrow 4)$ de glicose e a quitina um polímero $\beta(1 \rightarrow 4)$ da N-acetilglicosamina).

As glicoproteínas possuem um ou mais carboidrato em sua composição molecular sendo que a maioria das proteínas da superfície celular são glicoproteínas.

O ponto de ligação destas glicoproteínas pode ser o nitrogênio ou o oxigênio (N ou O-ligadas).

Nas glicoproteínas N-ligadas, há uma conformação estrutural única, onde o monossacarídeo liga-se com a proteína em sua forma β para C1 e o aminoácido de ligação sempre é a asparagina, seguida de um aminoácido qualquer (exceto prolina e aspartato) e, em seguida, serina ou treonina. Esta ligação de carboidratos e proteínas tão específica ocorre durante a síntese da proteína, sendo que quando termina a síntese protéica, o carboidrato já está ligado.

As glicoproteínas O-ligadas são, quase em sua totalidade, formadas por um dissacari-

deo formado pela **galactose** (ver Figura 6-9) ligada por ligação $\beta(1 \rightarrow 3)$ com a **N-acetilglicosamina** (a mesma unidade monomérica da quitina, ver Figura 6-13). Este dissacarídeo liga-se ao aminoácido serina ou treonina das proteínas. Outros carboidratos, como a galactose, a manose e a xilose, podem estar O-ligados a proteínas, porém são mais raros.

Os **glicolipídios** correspondem a compostos existentes na superfície celular que possuem função de marcador imunológico, como é o caso dos antígenos do sistema sanguíneo ABO que possuem a galactose, a N-acetilglicosamina e a fucose os carboidratos ligados aos lipídios da membrana.

Outro polissacarídeo importante é a **heparina**, que possui função anticoagulante nos vasos sanguíneos dos animais; é formada por **glicosamina + ácido urônico** + os aminoácidos **serina ou glicina**.

EXERCÍCIOS

1. Qual a importância metabólica das formas isoméricas alfa e beta-glicopiranosose?
2. Descreva a estrutura molecular do amido e da celulose.
3. Qual a importância dos dissacarídeos para o metabolismo de mamíferos?
4. Comente sobre a função dos principais polissacarídeos.
5. Qual a origem do poder redutor dos carboidratos e por que alguns não possuem tal característica química?
6. Descreva o processo de formação das formas cíclicas da glicose.

Para navegar na internet

Fundamentos de Bioquímica:

www.fundamentosdebioquimica.hpg.com.br

Glycoscience network page:

www.vei.co.uk/TGN/tgn_main.htm

Gastroinfo:

www.gastroinfo.com.br/01_pancreas.htm

Diabetes:

www.diabetic.com/education/pubs/dcctslid/sld048.htm

Estrutura molecular 3D:

www.udel.edu/Biology/Wags/histopage/modelspage/modelspage.htm

Capítulo 7

Lipídios

Lipídios são biomoléculas caracterizadas pela baixa solubilidade em água e outros solventes polares e alta solubilidade em solventes apolares. São vulgarmente conhecidos como gorduras e suas propriedades físicas estão relacionadas com esta natureza hidrófoba.

São moléculas que possuem uma grande variedade de formas estruturais, tendo em comum somente o fato de serem hidrofóbicas e serem biosintetizadas a partir da **acetil-CoA**. Este fato coloca os lipídios como uma importante molécula dentro do metabolismo energético, uma vez que a acetil-CoA é a molécula que inicia os principais processos bioenergéticos.

De certa forma, os lipídios possuem uma função energética mais reservada ao armazenamento do que o aproveitamento puro e simples de seu poder energético, uma vez que, justamente pelo fato de serem muito calóricos, possuem vias metabólicas alternativas ao metabolismo energético que, muitas vezes, levam a danos ao organismo gerando doenças graves, denominadas **dislipidemias** (ver Capítulo sobre metabolismo Lipídico).

Os lipídios não são biomoléculas poliméricas como os ácidos nucleicos, proteínas e os principais carboidratos, mas possuem uma capacidade de agrupar-se em moléculas complexas e possuem, muitas vezes, longas cadeias carbonadas responsáveis pelas suas propriedades hidrofóbicas.

Na verdade, todas as considerações acerca do metabolismo lipídico advêm da característica hidrófoba das moléculas. Esta propriedade não é uma desvantagem biológica, mesmo o corpo possuindo cerca de 60% de água. Justamente por serem insolúveis, os lipídios são fundamentais para estabelecer uma interface entre o meio intracelular e o extracelular, francamente hidrófilos.

A membrana celular corresponde a esta barreira lipídica onde o impedimento de fluxo livre de compostos hidrossolúveis, coloca as proteínas de membrana como os portais de controle da composição celular.

Possuem funções importantíssimas para o metabolismo celular tanto de eucariotas como procariotas (Figura 7-1), podendo-se relacionar como principais as seguintes:

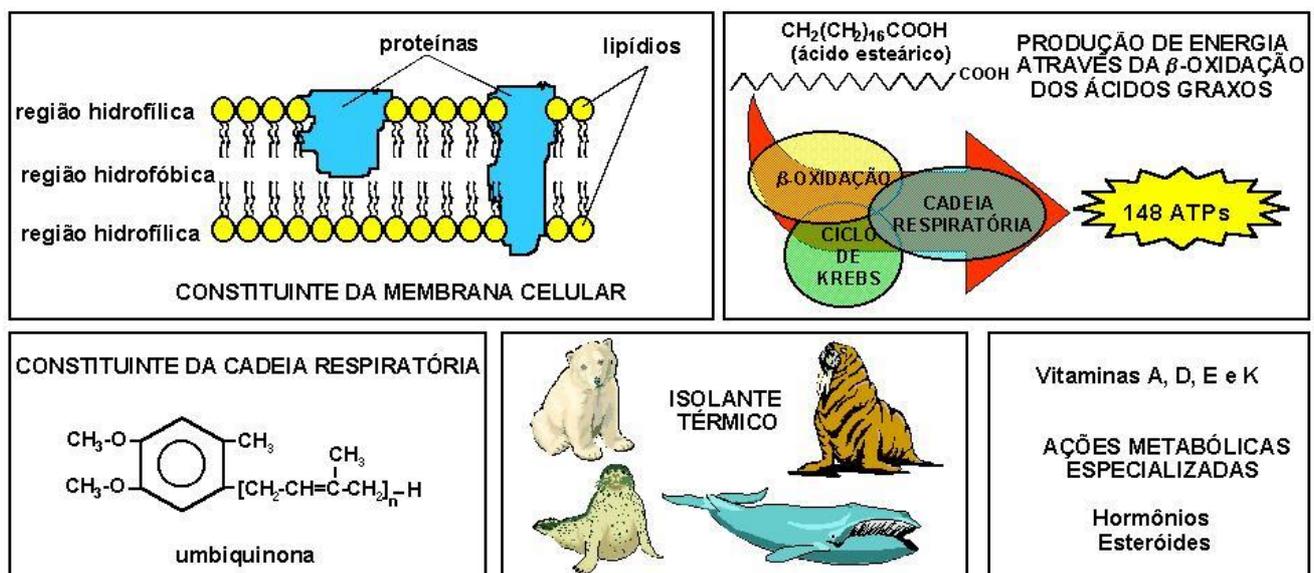


Figura 7-1 – Os lipídios exercem as mais variadas e importantes funções no metabolismo dos seres vivos.

- Composto bioquímico mais calórico em animais e sementes oleaginosas sendo a principal forma de armazenamento (triglicerídeos) e geração de energia metabólica através de via metabólica específica (β -oxidação de ácidos graxos);
- Componentes das membranas celulares, juntamente com as proteínas (fosfolípidios, esfingolípídios e colesterol);
- Componentes de sistema de transporte de elétrons no interior da membrana mitocondrial (umbiquinona);
- Formam uma película protetora (isolante térmico) sobre a epiderme de muitos animais (tecido adiposo);
- Funções especializadas como hormônios, sinalizadores celulares, antioxidantes.

São vários os usos dos lipídios, seja na alimentação (óleos de grãos, margarina, manteiga, maionese), seja como produtos manufaturados (sabões, resinas, cosméticos, lubrificantes). Várias pesquisas nacionais recentes indicam os lipídios como importantes combustíveis alternativos, como é o caso do **óleo vegetal transesterificado** que corresponde a uma mistura de ácidos graxos vegetais tratados com etanol e ácido sulfúrico que substitui o óleo diesel, não sendo preciso nenhuma modificação do motor, além de ser muito menos poluente e isento de enxofre.

A única propriedade química comum aos lipídios é seu caráter hidrofóbico e a presença de uma extremidade na molécula que possui certa polaridade e que possibilita sua ligação com compostos polares, que vão tornar possível seu transporte em meio solúveis.

Caracteriza-se na molécula dos lipídios, assim, uma **cabeça polar** e uma **cauda apolar**, terminologia utilizada aqui exclusivamente com objetivo didático (Figura 7-2). A cabeça polar é, geralmente, a carboxila (p.ex.: nos ácidos graxos), a hidroxila (p.ex.: no colesterol) ou outro composto polar (p.ex.: o grupamento fosfato nos fosfolípidios). A cauda apolar é todo o restante da molécula, formada, predominantemente de carbono e hidrogênio, podendo haver ou não duplas ligações (cadeia insaturada).

Os lipídios em solução aquosa tendem a agregar-se pela cauda apolar deixando a cabeça polar em contato com o meio aquoso,

formando uma molécula globosa denominada **micela** que será tanto mais solúvel, quanto maior for a polaridade da cabeça polar.

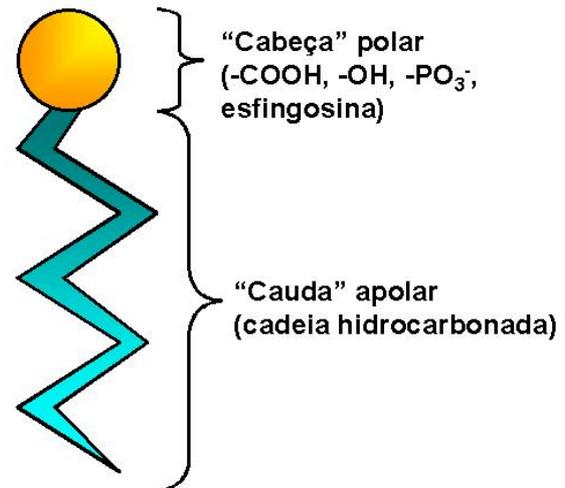


Figura 7-2 – Representação didática de uma molécula de lipídio evidenciando a parte polar e a apolar de sua molécula.

Vários arranjos micelares são possíveis, sendo a própria camada bi-lipídica das membranas celulares um produto deste arranjo (Figura 7-3). Os lipídios com a cabeça polar com pouquíssima capacidade de solubilização (p.ex.: os triglicerídeos, os ésteres do colesterol), necessitam, freqüentemente da adição de compostos **emulsificantes** (solubilizantes de gorduras) para incrementar a formação das micelas. Esses emulsificadores podem ser proteínas (lipoproteínas), carboidratos (glicoproteínas) ou emulsificantes digestivos (sais biliares).

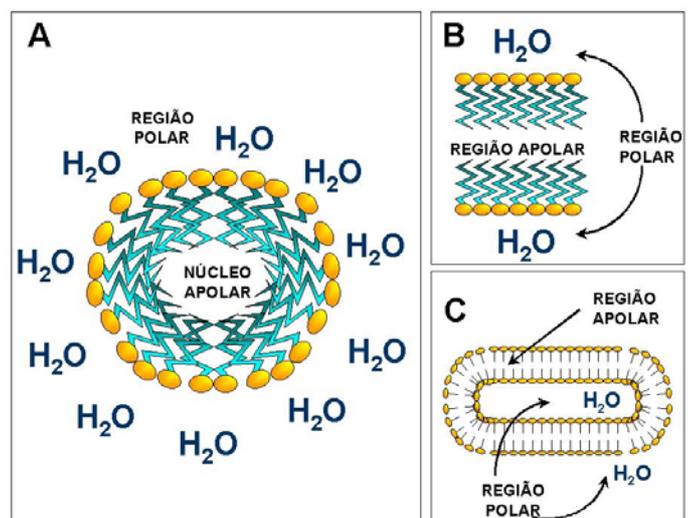


Figura 7-3 – Arranjo estrutural micelar dos lipídios em solução aquosa. A) micela globosa; B) bicamada lipídica; C) bicamada lipídica em forma de membrana separando dois ambientes líquidos distintos.

Classificação

Devido a grande variabilidade estrutural dos lipídios, muitos tipos de classificações são propostas dependendo do ponto de vista, se químico ou biológico.

Adotaremos uma classificação didática que atende a ambos pontos de vista, que agrupa os lipídios de acordo com a presença ou não de **ácidos graxos** em sua molécula.

Os **lipídios que possuem ácidos graxos** (ácidos carboxílicos com grande cadeia carbonada) são **saponificáveis**, uma vez que reagem com bases fortes formando sabões. São lineares em sua maioria, podendo ser saturados ou insaturados. Possuem função energética e estrutural. São os **acilgliceróis, fosfolipídios, esfingolipídios e ceras**.

Os **lipídios que não possuem ácidos graxos** em sua molécula, não são saponificáveis e não são energéticos. A maioria possui função estrutural ou especializada (hormônios, vitaminas, anti-oxidantes), desempenhando papel chave em várias vias metabólicas. São os **terpenos, esteróides e Eixos-nóides**.

A seguir, passaremos a apresentar as principais características de cada tipo de lipídios, a começar por aqueles que os caracterizam, os ácidos graxos.

Ácidos Graxos

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos de cadeia longa que pode ser saturada ou insaturada e quase sempre de número par de carbonos e de cadeia não linear.

A grande frequência de ácidos graxos de número par de carbonos dá-se ao fato da síntese ocorrer por adição de acetil-CoA, que possui dois carbonos (ver Capítulo sobre metabolismo lipídico). A maioria dos ácidos graxos são lineares, porém existem alguns, (principalmente de origem vegetal) que são **ramificados**, geralmente com grupamentos metil como ramificação (p.ex.: o fitol, componente da clorofila), mas são agrupados dentro de um grupo a parte denominados terpenos, que serão estudados ainda neste capítulo. Outros ácidos graxos ramificados mais simples são sintetizados em animais, como é o

caso do **ácido isovalérico** que está presente no aparelho auditivo de mamíferos marinhos

Os ácidos carboxílicos já apresentam severa diminuição em sua solubilidade acima de oito carbonos, apesar de serem mais frequentes na natureza os com mais de 14C e menos de 20C.

Apesar de a maioria dos ácidos graxos possuírem nomes vulgares de largo uso na prática diária, a nomenclatura oficial obedece às regras para ácidos carboxílicos, com a terminação **-óico** adicionada o número de carbonos. A existência de dupla ligação é indicada entre parênteses após o número de carbonos do ácido graxo indicada pela letra grega **delta** (Δ) adicionada ao número do carbono onde está a dupla ligação.

Desta forma, o **ácido láurico** (nome vulgar) é denominado ácido duodecanóico (12:0), ou seja, um ácido graxo saturado de 12 carbonos. O **ácido linoléico** é o ácido octadecanóico (18: 2 ^{Δ 9,12}), ou seja, um ácido graxo insaturado de 18 carbonos e com as duplas ligações nos carbonos 9 e 12.

Na tabela 7-1 estão citados os principais ácidos graxos e suas nomenclaturas vulgar e oficial.

Tabela 7-1 – Relação dos principais ácidos graxos de importância biológica.

Nomenclatura Vulgar	Nomenclatura Oficial
Láurico	Dodecanóico (12:0)
Mirístico	Tetradecanóico (14:0)
Palmítico	Hexadecanóico (16:0)
Palmitoléico	Hexadecanóico (16:1 ^{Δ9})
Esteárico	Octadecanóico (18:0)
Oléico	Octadecanóico (18:1 ^{Δ9})
Linoléico	Octadecanóico (18:2 ^{Δ9, 12})
α -Linolênico	Octadecanóico (18:3 ^{Δ9, 12, 15})
γ -Linolênico	Octadecanóico (18:3 ^{Δ6, 9, 12})
Araquídico	Eicosanóico (20:0)
Araquidônico	Eicosanóico (20:4 ^{Δ5, 8, 11, 14})
Beênico	Docosanóico (22:0)
Lignocérico	Tetracosanóico (24:0)
Nevrônico	Tetracosanóico (24:1 ^{Δ15})

Os ácidos graxos saturados podem ser denominados acrescentando-se **-enóico** depois da indicação do número de duplas ligações e em quais carbonos estão localizadas. Assim, o ácido araquidônico é o **ácido 5,8,11,14-eicosatetraenóico**.

Uma maneira muito freqüente de se denominar os ácidos graxos insaturados é a contagem dos carbonos por letras gregas, sendo o carbono α (alfa) o da carbonila, o β (beta) o segundo na seqüência e ω (ômega) o último da cadeia. As duplas ligações costumam a ser indicadas a partir do carbono ômega, o que faz com que o ácido oléico seja também denominado de ácido octadecanóico ômega-9.

Os **ácidos graxos saturados** são sintetizados tanto por vegetais quanto por animais, o que lhes dá larga distribuição na natureza. Possuem uma boa estabilidade estrutural devido organizarem-se em camadas de grande adesividade devido a forma linear das cadeias hidrocarbonadas.

Esta alta estabilidade lhes confere altas temperaturas de fusão, ou seja, em temperatura ambiente, eles estão no estado sólido (o ácido láurico possui a mais baixa temperatura de fusão: 44°C enquanto que o ácido lignocérico liquefaz-se somente em 84,2°C).

Esta propriedade permite que os lipídios ricos em ácidos graxos saturados tenham o aspecto de gordura sólida (*sebo*), o que é comum nas gorduras animais.

A Figura 7-4 representa o arranjo estrutural entre os ácidos graxos que lhes confere o estado físico de gordura sólida ou de óleo.

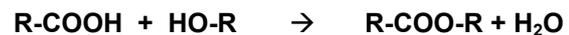
Os **ácidos graxos insaturados** possuem um arranjo estrutural menos estável, devido à dupla ligação que desestabiliza as camadas de lipídios, conferindo uma temperatura de fusão bastante baixa (no ácido nevrônico a temperatura de fusão é de 39°C enquanto que no ácido araquidônico é de -49,5°C). Desta forma, os lipídios ricos em ácidos insaturados possuem o estado líquido (óleos) em temperatura ambiente, o que é próprio das gorduras vegetais.

Os mamíferos não possuem enzimas que sintetizam ácidos graxos insaturados (**dessaturases**) cuja dupla ligação esteja abaixo do C16, o que torna os ácidos graxos insaturados com dupla ligação abaixo do C16, impossíveis de serem sintetizados pelos mamíferos, tornando-se essenciais na dieta. Os ácidos araquidônico, linoléico, linolênico e oléico são considerados **ácidos graxos essenciais** justamente por esse motivo e associado

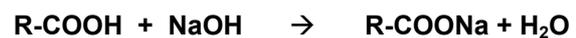
ao fato de possuírem funções especialíssimas na biologia celular. Uma alimentação isenta de gorduras levará à carência desses ácidos graxos com conseqüências patológicas severas, como dermatite, desidratação, má cicatrização e até a morte (para maiores detalhes ver Capítulo sobre metabolismo dos ácidos graxos).

Os ácidos graxos sofrem vários tipos de reações químicas, dentre as quais podemos citar:

- **Esterificação:** ácidos graxos ligam-se a álcoois formando ésteres:



- **Saponificação:** ácidos graxos reagem com bases fortes gerando um sal (sabão) que possui propriedades emulsificantes (solubilizantes de gorduras).



- **Hidrogenação:** ácidos graxos insaturado (com duplas ligações) recebem H_2 e convertem-se a ácidos graxo saturado. A hidrogenação severa pode converter ácidos graxos em álcoois graxos.

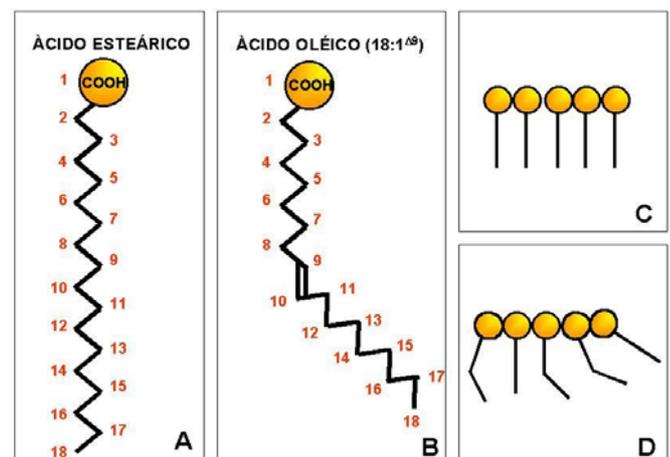
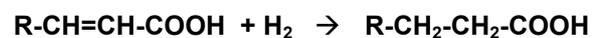


Figura 7-4 – Representação esquemática do arranjo das cadeias saturadas e insaturadas em lipídios. A) ácido graxo saturado; B) ácido graxo insaturado; C) arranjo mais estável entre as moléculas de ácido graxo saturado, tornando mais difícil a desordenação das moléculas, o que lhes confere necessidade de maior energia para quebrá-la; D) os ácidos graxos insaturados estão no estado líquido em temperatura ambiente devido à maior instabilidade dos arranjos entre suas moléculas, sendo necessário menor energia para quebrar o arranjo estrutural.

Acil-gliceróis

São assim denominados por se tratarem de moléculas compostas por grupamentos **acil** (R-COO-) ligado ao **glicerol**.

São formados pela esterificação de um, dois ou três ácidos graxos (saturados ou insaturados, iguais ou não) com uma molécula de glicerol, formando **mono**, **di** ou **tri-acil-glicerol**, comumente denominados de **mono**, **di** ou **triglicerídeos**, denominação vulgar e quimicamente incorreta, mas de grande uso na prática clínica e laboratorial sendo a denominação utilizada neste capítulo (Figura 7-5).

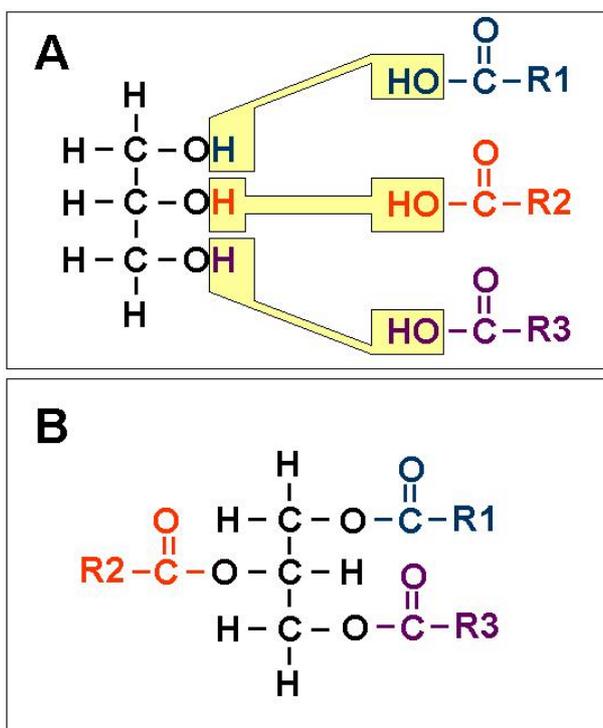


Figura 7-5 - Os triglicerídeos são os principais acil-gliceróis. A) uma molécula de glicerol une-se a três moléculas de ácidos graxos através ligações éster. B) O triglicerídeo formado possui o primeiro e terceiro ácido graxo no mesmo plano, opostos ao segundo ácido graxo.

Os triglicerídeos são os principais lipídios de reserva tanto de animais quanto de vegetais, o que os coloca como uma das moléculas mais calóricas utilizadas no metabolismo celular. São uma espécie de “reserva molecular de ácidos graxos”, sendo necessária a quebra da ligação éster por enzimas hidrolíticas denominadas, genericamente, **lipases** liberando os ácidos graxos de sua molécula.

Em animais, são armazenados no tecido adiposo, que tem a capacidade de absorver grande quantidade dos triglicerídeos proveni-

entes da alimentação, além de sintetizar novas moléculas a partir de outros substratos (ver Capítulo sobre Metabolismo Lipídico). A deposição do tecido adiposo promove, ainda a formação de uma camada protetora contra a perda de calor, indispensável para animais que vivem em clima frio.

Os triglicerídeos são encontrados tanto em gorduras animais quanto em óleos vegetais, havendo apenas uma predominância de ácidos graxos insaturados nos triglicerídeos de origem vegetal, devido a incapacidade dos animais em sintetizar a maioria dos ácidos graxos insaturados necessários para o metabolismo. Os ácidos graxos insaturados presentes nos triglicerídeos de origem animal geralmente são derivados da alimentação e não da síntese endógena.

Os **mono-acil-gliceróis** e os **di-acil-gliceróis** estão presentes em concentrações muito baixas no organismo, sendo resultantes de processos intermediários do metabolismo de triglicerídeos ou de outros lipídios, como é o caso do di-acil-glicerol que é um segundo mensageiro de algumas reações celulares, liberado após a degradação de fosfolipídios, como será visto a seguir.

Fosfolipídios

São derivados dos triglicerídeos, onde o terceiro ácido graxo é substituído por uma cabeça extremamente polar contendo fosfato (PO_3^{2-}) ligado a um composto X que pode ser de várias origens (Figura 7-6). Geralmente o segundo carbono é um ácido graxo insaturado (frequentemente o ácido araquidônico).

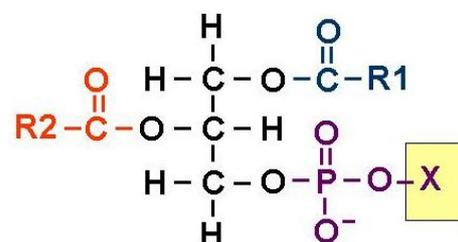


Figura 7-6 - Os fosfolipídios possuem estrutura semelhante aos triglicerídeos. O grupo X pode ser o -H (ácido fosfatídico, o mais simples), etanolamina, colina, serina, inositol, glicerol ou fosfatidilglicerol. A nomenclatura será fosfatidil + nome do X (p.ex.: fosfatidiletanolamina). A lectina e a cardioplipina são denominações vulgares da fosfatidilcolina e do difosfatidilglicerol, respectivamente.

A denominação correta desses compostos é a de **glicerofosfolipídeos** (ou, ainda, **fosfoglicerídeos**), entretanto neste texto será utilizada a denominação vulgar de fosfolipídios em virtude do largo uso na prática clínica e laboratorial.

Graças à grande cabeça polar, os fosfolipídios são importantes constituintes da membrana celular, onde o contato com o líquido intracelular e o extracelular é viabilizado pela formação a bicamada lipídica. As proteínas da membrana celular também associam-se fortemente às frações polares e apolares dos fosfolipídios.

Apesar da grande importância com lipídios estruturais da membrana, os fosfolipídios possuem papel fundamental em outros processos biológicos.

É o caso do **dipalmitoil-fosfatidilcolina** (a fosfatidilcolina cujos ácidos graxos são o ácido palmítico) que é o principal componente da substância surfactante pulmonar que impede o colabamento (união das superfícies internas) dos alvéolos pulmonares. Esta substância ajuda a diminuir, também, o efeito físico da pressão dos gases respiratórios sobre o alvéolo. A produção desta substância surfactante, entretanto encontra-se em plena produção somente após o nascimento, o que leva a crianças que nascem prematuramente, portanto com pouco surfactante pulmonar, a desenvolverem um quadro sério de insuficiência respiratória devido a dificuldade de encher os alvéolos colabados. Esta condição patológica (conhecida como **síndrome da angústia respiratória**) também pode se estabelecer em adultos sempre que diminui a produção desse fosfolipídio.

Quando há a retirada de um dos ácidos graxos da molécula de um fosfolipídio, a molécula resultante (**fosfolisolipídio**) possui potente ação detergente e, realmente, destrói a membrana, provocando, obviamente, a morte celular. Enzimas que possuem essa função (**fosfolipase A₂**) estão presentes em venenos de cobra e de abelhas, justificando a potente ação lítica tecidual. Outras enzimas que retiram a cabeça polar (**fosfolipase C**) geram diacil-gliceróis que agem como segundo mensageiros de alguns hormônios. A ação dessas enzimas será melhor estudada no Capítulo sobre metabolismo lipídico.

Esfingolipídios

São formados por um ácido graxo ligado a uma molécula de **esfingosina** (um aminoálcool) e uma cabeça polar X (Figura 7-7).

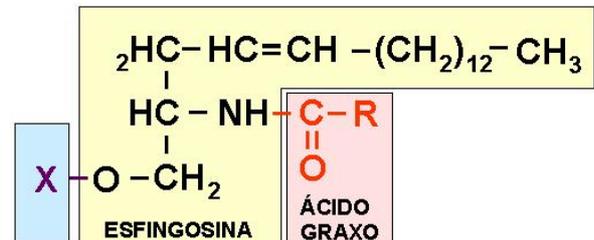


Figura 7-7 – A molécula de esfingolipídio é constituída pela esfingosina ligada a somente um ácido graxo e uma cabeça polar X. O mais simples possui X = –H (ceramida) e é a base dos demais esfingolipídios.

Dependendo da natureza de X, têm-se diversos tipos de esfingolipídios. A **ceramida** possui o –H como cabeça polar, enquanto que os demais possuem grupamentos bem definidos, agrupando-se em três classes distintas: esfingomielinas, cerebrosídeos e gangliosídeos.

Os **esfingomielinas** (ou **esfingofosfolipídios**) possuem como X, grupamentos fosfatados como a fosfoetanolamina e a fosfocolina. Esses esfingolipídios possuem função de proteção e revestimento elétrico dos axônios neuronais, sendo os principais constituintes da bainha de mielina dos neurônios.

Nos **cerebrosídeos** (ou **esfingoglicolipídios**) o X é um carboidrato. São importantes constituintes da bainha mielinica cerebral.

Os **gangliosídeos** possuem estrutura molecular complexa, devido o X ser um polímero de carboidratos (ou derivados) unidos ao ácido siálico (um derivado da glicose). Possuem função estrutural importante da superfície das membranas celulares, com a cabeça polar de carboidratos projetando-se para o meio extracelular funcionando como receptores celulares.

Uma doença genética grave conhecida como **doença de Tay-Sachs** é decorrente do acúmulo excessivo de gangliosídeos no tecido nervoso, levando ao retardo mental e graves distúrbios neurológicos.

Ceras

São misturas álcoois graxos (com cadeia longa de 16 a 20C) e ácidos graxos (com cadeia de 16 a 30C). Possuem função estrutural bem definida na formação de favos em colméias de insetos sociais.

As baleias do tipo cachalote possuem grande quantidade de ceras e outros lipídios em uma enorme cavidade nasal especializada que funciona como órgão flutuador, de acordo com o fluxo sanguíneo. Essa mistura de lipídios foi utilizada durante quase todo o século XVII como produto de beleza capilar pela sociedade européia e americana, conhecido como **espermacete de baleia**, além, é claro, da utilização como combustível juntamente com a gordura do tecido adiposo da baleia. Este fato levou quase à extinção desses animais e ao conseqüente declínio da economia (na sociedade norte-americana, a indústria baleeira foi a principal base da economia durante vários anos) fato superado graças à invenção de máquinas movidas à combustível fóssil.

Lipídios esteróides

Também chamados de **esteróis**, este grupo de lipídio não saponificável possui como estrutura molecular básica o **núcleo-pentano-per-hidro-fenantreno** (Figura 7-8). Possuem função diversificada que vai desde estrutural até a especializados hormônios e vitamina (Vitamina D).

O **colesterol** é o principal representante deste grupo e é sintetizado exclusivamente em animais, possuindo função importante na formação da membrana celular e na síntese de ácidos biliares e hormônios esteróides (p.ex.: os hormônios sexuais). Um similar vegetal do colesterol, o **fitosterol**, não é absorvido durante a digestão não possuindo, portanto função metabólica ou patológica em seres humanos.

O conhecimento do metabolismo das lipoproteínas que transportam o colesterol plasmático corresponde em importante passo no estudo da bioquímica aplicada a clínica de pacientes com hipercolesterolemia, como será abordado com maiores detalhes no Capítulo sobre metabolismo lipídico.

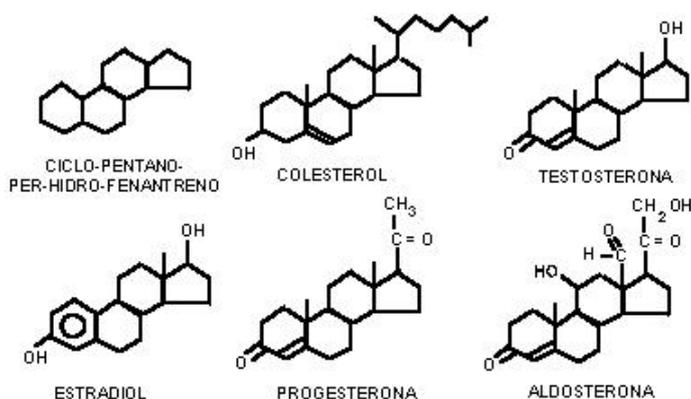


Figura 7-8 – Os principais esteróides.

Terpenos

São lipídios não saponificáveis que possuem como estrutura base a **unidade isoprenóide** (Figura 7-9).

São, geralmente, de origem vegetal e muitos possuem propriedades organolépticas (sabor e odor agradável) sendo utilizadas como especiarias na culinária mundial. Nos vegetais, esses terpenos possuem função protetora contra microorganismos, uma vez que não possuem sistema imunológico.

As vitaminas E e K são terpenos de função bioquímica especializada (ver Capítulo 8 sobre Vitaminas).

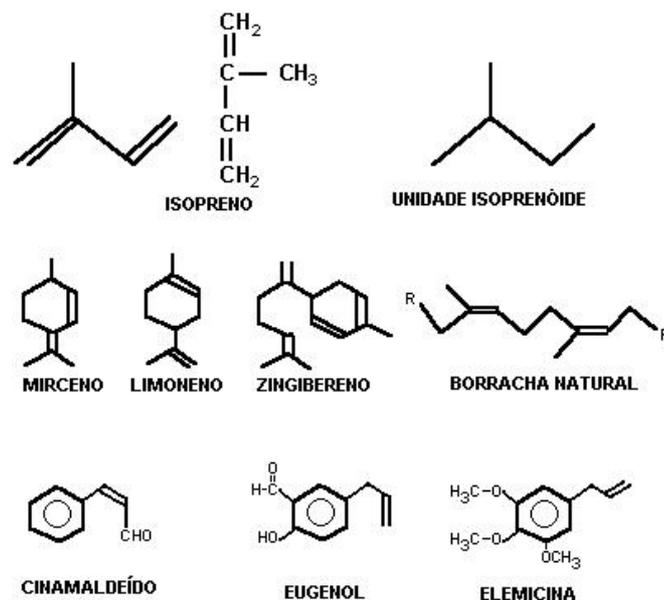


Figura 7-9 – Os terpenos constituem-se lipídios cujos principais representantes são de origem vegetal e possuem características organolépticas. O mirceno (folha de louro), limoneno (limão) e zingibereno (gingibre), o látex da borracha natural (*sis-poli-terpeno*), cinamaldeído (canela), eugenol (cravo) e elemicina (noz-moscada) são exemplos de terpenos ou derivados.

Eicosanóides

São lipídios não saponificáveis derivados do **ácido araquidônico** de 20C (*eicos* = vinte em grego) (Figura 7-10).

São importantes hormônios locais, produzidos no local de uma reação inflamatória e responsáveis pela potencialização do sinal químico da inflamação, não sendo disseminado pela corrente sanguínea como os hormônios clássicos. Outras funções primordiais são desempenhadas pelos diferentes tipos de eicosanóides.

As **prostaglandinas** são produzidas em quase todos os tecidos e estão envolvidas nos processos de sono e vigília, resposta inflamatória e contração dos músculos lisos do útero.

As **tromboxanas** são produzidas pelas plaquetas e atuam na diminuição do fluxo sanguíneo e na formação de trombos (tampões celulares que impedem a hemorragia de pequenos vasos).

Os **leucotrienos** são produzidos pelos leucócitos atuando na contração da musculatura lisa dos pulmões.

A maioria dos medicamentos que atuam inibindo o processo de dor (analgésicos não derivados de esteróides) é inibidor da via de síntese das prostaglandinas. Os medicamentos que inibem a síntese de leucotrienos são excelentes anti-asmáticos e os que inibem a síntese de tromboxanas acarretam uma diminuição da formação de trombos, útil para quem tem problemas de coagulação intravascular disseminada (uma doença que possibilita o despreendimento de trombos e a obstrução de vasos sanguíneos).

A biossíntese dos eicosanóides constitui-se importante capítulo na compreensão da farmacologia desses medicamentos e será abordado no Capítulo sobre metabolismo lipídico.

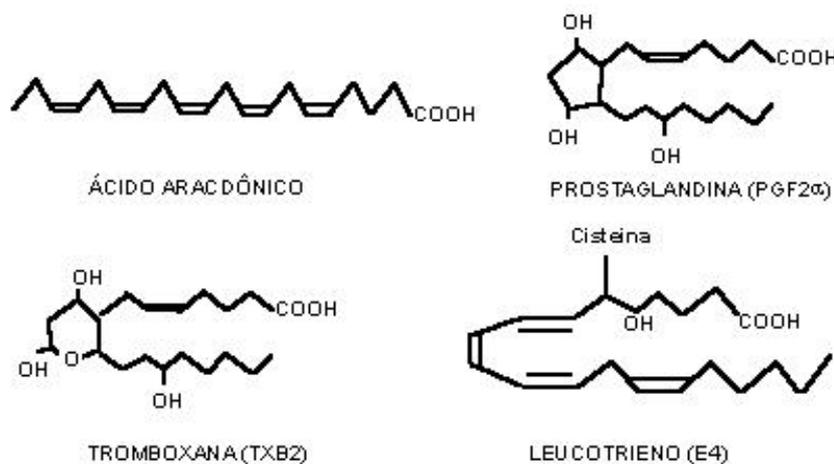


Figura 7-10 – Os eicosanóides são derivados do ácido araquidônico (20:4^{Δ5,8,11,14}).

EXERCÍCIOS

1. Que relevância tem para o metabolismo celular o fato de os lipídios serem insolúveis em água?
2. Quais as principais funções dos lipídios?
3. Comente sobre a classificação dos lipídios e as principais características estruturais de cada classe.
4. No que consiste a organização micelar dos lipídios e qual a importância desta propriedade para o metabolismo celular?

Para navegar na internet

Fundamentos de Bioquímica:

www.fundamentosdebioquimica.hpg.com.br

Estrutura molecular 3D:

www.udel.edu/Biology/Wags/histopage/modelspage/modelspage.htm

Sociedade Portuguesa de Cardiologia

<http://www.spc.pt/publico/principal.htm>

Biobrás:

<http://www.biobras.com.br>

Capítulo 8

Vitaminas

Em 1911, Casimir Funk isolou um composto cristalino do material extraído da casca do arroz, utilizado para curar uma doença de pombos denominada polineurite. A este composto deu o nome de **vitamina** em virtude de ser considerada uma substância vital e possuir a característica química de amina. Esta vitamina, hoje em dia denominada vitamina B1, foi apenas a primeira de uma série de 13 compostos que se descobriu que os seres humanos (e muitos animais) não são capazes de sintetizar, sendo indispensáveis na alimentação, mesmo que em doses diminutas, para garantir a realização de várias reações bioquímicas, além de serem agentes de patologias diversas quando há uma carência nutricional.

Apesar de somente no início do século XX ter sido isolado a primeira vitamina, o conhecimento da existência de fatores nutricionais causadores de doenças quando ausentes na alimentação remonta de muitos séculos atrás. Hipócrates (300 a.C) já havia descrito um tipo de cegueira que era revertida com a alimentação de fígado de animais, numa clara alusão a deficiência de vitamina A.

No século XVI, as longas navegações transoceânicas dos exploradores, revelaram que os marinheiros sofriam de uma doença descrita como **escorbuto**, caracterizada por sangramento gengival, hoje conhecida como consequência da hipovitaminose C. O interessante é que os oficiais destes navios, muitas vezes não apresentavam esses sintomas, fato que levou, em 1729, o médico inglês Jackson Smith determinar a obrigatoriedade da ingestão de suco de limão durante as viagens, como medida preventiva contra o escorbuto, pois ele observou que a alimentação da tripulação era diferenciada no que diz respeito a sucos cítricos. Esta medida foi suficiente para erradicar o escorbuto.

Da mesma forma, o **béri-béri**, doença carencial da vitamina B1, era freqüentemente relatada entre marinheiros japoneses cuja ali-

mentação básica era de arroz sem casca e cozido excessivamente que destruía, por aquecimento, os resquícios de vitamina B1 do arroz sem casca, além do peixe cru que comiam em excesso e que possui enzimas que destroem a vitamina B1.

Atualmente, entretanto, as doenças carenciais vitamínicas são, na maioria das vezes, observações raras visto que só se observam os sintomas característicos quando há a hipovitaminose exclusiva da vitamina em questão, como descrito acima. O mais comum é a verificação de síndrome de desnutrição com sintomatologia complexa, resultante da combinação de hipovitaminoses e carência de nutrientes como os carboidratos, lipídios e proteínas.

As vitaminas são encontradas na maioria dos vegetais (principalmente cereais, folhas verdes e legumes) e produtos animais (principalmente leite, ovos e fígado), com exceção da vitamina B12 que é produzida somente por microorganismos mas que é armazenada em tecidos animais (especialmente no fígado), encontrada, portanto, nesses alimentos além de produtos da fermentação por microorganismos (como o iogurte, por exemplo).

São classificadas em hidro e lipossolúveis, de acordo com sua característica química de solubilidade. Exercem várias funções nos organismo, com uma alimentação contendo cereais, vegetais verdes, legumes, carne e suco de fruta suficiente para suprir as necessidades diárias.

Muitas das vitaminas são **termolábeis**, (sensíveis ao calor) e **fotolábeis** (sensíveis a luz), o que torna necessário que o alimento que as contém seja ingerido cru (o cozimento destrói essas vitaminas) e deva ser armazenado ao abrigo da luz. Os alimentos industrializados que devem ser esterilizados pelo calor precisam ser adicionados de quantidades significativas dessas vitaminas para garantir sua qualidade nutricional.

Algumas possuem a capacidade de serem produzidas no próprio organismo a partir de precursores, como é o caso da vitamina D a partir da pró-vitamina D (um derivado do colesterol) ativada pela radiação ultravioleta e a vitamina B3 que é sintetizada a partir do triptofano, um aminoácido essencial. Outras possuem uma grande reserva hepática o que as torna disponível por muito tempo depois de suspensa a ingestão (como é o caso da vitamina B12 suficiente por até 3 anos e as lipossolúveis).

Popularmente, as vitaminas são conhecidas como compostos energéticos e sinônimo de saúde e vigor físico. Independente de seu caráter obrigatório na alimentação, deve-se esclarecer que as vitaminas atuam principalmente como cofatores de reações bioquímicas e não como substrato das reações.

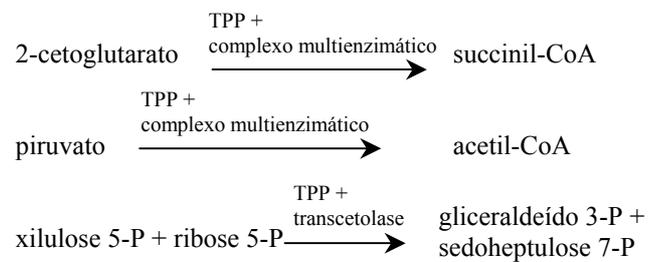
Apesar algumas possuírem papel fundamental no processo de estabilização de radicais livres (vitaminas C, E e A), logo importantes como atenuantes do processo de envelhecimento celular e os processos relacionados aos radicais livres, a maioria das vitaminas possui ação terapêutica inespecífica a sua ação biológica (a vitamina B6, por exemplo, é cofator de reações de transaminação de aminoácidos e é utilizada terapêuticamente em vertigens e dores musculares).

O uso terapêutico é realizado em altas doses acima das necessidades diárias e só podem ser adquiridos através de medicamentos uma vez que seria necessária uma quantidade enorme das fontes naturais para atingir a concentração terapêutica (com exceção da vitamina C), o que pode levar ao aparecimento de efeitos adversos típicos da hipervitaminose.

Vitaminas Hidrossolúveis

1. Vitamina B1 (tiamina):

Durante a absorção intestinal, é fosforilada a **tiamina pirofosfato (TPP)**, sua forma ativa, que vai ser grupamento prostético das enzimas *2-cetoglutarato desidrogenase* e *transcetolase*.



É uma vitamina termolábil e sensível a variação de pH, sendo inativa em soluções alcalinas.

A sua deficiência resulta em **béri-béri**, uma doença de sintomas cardioneurológicos e motores. Em alcoólatras a carência de tiamina expressa-se na **síndrome de Wernik-Korsakoff**, cujas causas está atrelada à insuficiência hepática que dificulta o armazenamento e absorção não só da tiamina mais de quase todas as vitaminas do complexo B.

Uma ingestão acentuada de peixe cru pode levar a uma maior destruição de tiamina devido a presença de enzimas **tiaminases** que hidrolizam a enzima no trato digestivo, inativando-a.

Seu uso terapêutico específico está associado a reversão da sintomatologia neuromuscular de algumas doenças genéticas onde há a diminuição da atividade das enzimas onde ela é co-fator. Frequentemente, é utilizada em associação com as demais vitaminas do complexo B para a melhoria de sintomas de fraqueza muscular de causas variadas.

A Figura 9-1 representa a forma alimentar da tiamina.

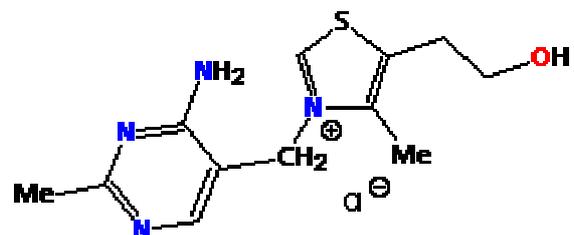


Figura 9-1 - Estrutura molecular da tiamina. A forma ativa de tiamina pirofosfato (TPP) é obtida pela adição de dois fosfato na OH terminal.

2. Vitamina B2 (riboflavina):

A forma ativa é o FAD (flavina adenina nucleotídeo) e o FMN (flavina adenina mononucleotídeo), que recebem e prótons e elétrons, convertendo-se de formas oxidadas (FAD⁺ e FMN⁺) para reduzida (FADH₂ e FMNH₂).

FMNH₂). O FAD é um importante transportador de elétrons e prótons na cadeia respiratória mitocondrial.

É uma vitamina de cor amarelada, termoestável, porém fotolábil, que perde essa cor quando exposta a luz ou submetida a radiação (um procedimento industrial comum para aumentar a quantidade de vitamina D no leite).

Nenhuma doença específica está associada à sua carência, mas são observadas rachaduras no canto da boca, seborréia e anemia. Seu uso terapêutico é em associação com as demais vitaminas do complexo B.

Na Figura 9-2 pode ser observada a forma alimentar da riboflavina.

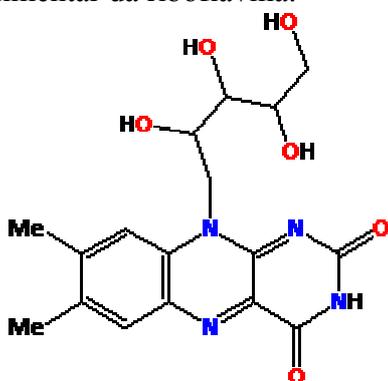


Figura 9-2 - A estrutura molecular da riboflavina. A forma ativa é o FMN onde a última hidroxila é adicionada ao fosfato (formando o FMN) ou ao ADP (formando o FAD).

3. Vitamina B3:

Presente nos alimentos na forma de **niacinamida** (uma amida) e **ácido nicotínico** (ou **niacina**, um ácido carboxílico), esta vitamina, que pode ser sintetizada a partir do aminoácido triptofano, participa da molécula de NAD (nicotinamida adenina dinucleotídeo), importantíssimo transportador de prótons e elétrons no metabolismo energético mitocondrial (Figura 9-3).

É foto e termoestável e tem na **pela-gra** a forma clássica de carência alimentar cuja expressão sintomatológica é de fácil reconhecimento pela presença de dermatite, denúncia e diarreia. Pode ocorrer quando o alimento está contaminado com fungos produtores de micotoxinas que destroem a vitamina B3.

Outras doenças onde o metabolismo do triptofano é comprometido se expressam

com a pelagra. É o caso do erro inato do metabolismo conhecido como **doença de Hartnup** onde o triptofano (e outros aminoácidos) possuem a absorção diminuída. Em alguns tipos de câncer desenvolve-se a **síndrome carcinóide** onde há o aumento do catabolismo do triptofano, o que leva a pelagra.

Seu uso terapêutico está associado ao combate dos sintomas causados pela sua deficiência, sendo que o uso terapêutico em outras manifestações clínicas é desaconselhado, não devendo estar presente em doses acima de 200mg/dia nos "coquetéis" de vitamina do complexo B, pois a hipervitaminose está relacionada à lesão hepática e hiperpigmentação da pele, além de vasodilatação (que induz a queda da pressão arterial e faces rubras) e distúrbios no metabolismo da glicose e ácido úrico, levando a hiperglicemia e hiperuricemia.

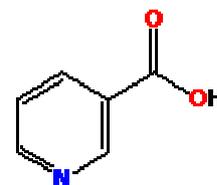


Figura 9-3 - Estrutura molecular da vitamina B3 na forma de ácido nicotínico ou niacina. A niacinamida possui a função amida (substituição do -OH por -NH₂).

4. Ácido pantotênico:

Já foi denominada de vitamina B5, esta vitamina faz parte da molécula de coenzima A (CoA) e é responsável por reações de acetilação (advindo daí o termo A da coenzima A) (Figura 9-4).

Outra enzima que possui o ácido pantotênico é a proteína transportadora de grupos acil na síntese de ácidos graxos. Entretanto, a CoA é a forma mais abundante e importante de ação dessa vitamina, sendo responsável pelo transporte de grupos carbonados (como o acetil e o acil) para o metabolismo energético.

Nenhuma doença carencial é descrita, porém foi relatada uma **síndrome do pé ardente** descrita em pelotões da segunda grande guerra cuja ração apresentava uma deficiência em ácido pantotênico. Uma forma sintética da vitamina, o ômega-pantotenato, possui ação antagonista diminuindo a ação do ácido pan-

totênico ingerido naturalmente na alimentação.

Essa vitamina possui uma certa termolabilidade, com cerca de 1/3 sendo perdido com o cozimento dos alimentos.

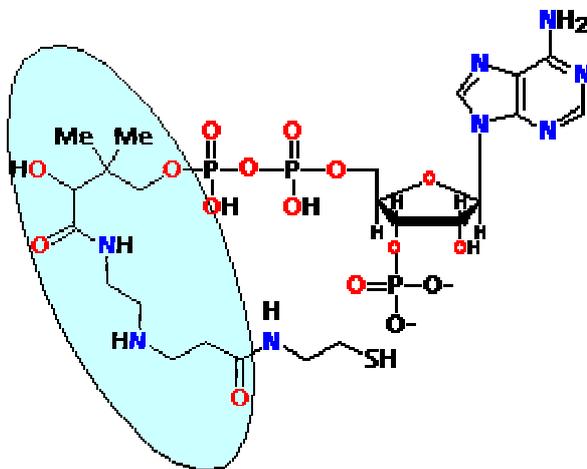


Figura 9-4 - Estrutura molecular da coenzima A. A região em destaque corresponde ao ácido pantotênico.

5. Vitamina B6:

É encontrada nos alimentos em três formas: **piridoxina** (um álcool), **piridoxal** (um aldeído) e **piridoxamina** (uma amina) (Figura 9-4).

É coenzima em reações do metabolismo dos aminoácidos, como por exemplo as transaminações.

É uma vitamina foto e termolável (principalmente a forma de piridoxal) o que faz com que haja perda considerável com o cozimento dos alimentos. É estável em meio ácido, sendo inativada em pH alcalino.

É rara a deficiência de vitamina B6, não havendo uma doença carencial específica. Entretanto, são descritos sintomas de dermatite, glossite e neuropatias relacionadas a sua deficiência em pacientes que fazendo uso de certos quimioterápicos (ciclosserina, isoniazida e penicilamina).

Seu uso terapêutico é como anti-neurítico e na prevenção de enjôos. Existe a probabilidade de reações alérgicas quando se faz uso de altas dosagens.

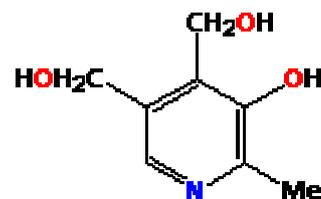


Figura 9-5 - Estrutura molecular da vitamina B6 em sua forma de piridoxina. Na forma de piridoxal o $-CH_2OH$ é substituído por $-CHO$ e na forma de piridoxamina por $-CH_2NH_2$.

6. Vitamina B12 (cobalamina):

Possui íon cobalto ligado a um anel tetrapirrólico no centro da molécula, muito semelhante à ligação do ferro da hemoglobina e do Mn na clorofila (Figura 9-5). A forma mais comum é a de **cianocobalamina** onde o $-CN$ liga-se ao cobalto, existindo ainda as formas de **hidroxicobalamina**, **aquocobalamina** e **metilcobalamina** com o $-OH$, H_2O e $-CH_3$ ligados ao cobalto, respectivamente.

É cofator de reações de reorganização estrutural (conversão de metil-malonil-CoA em succinil-CoA) e reações de metilação (conversão de homocisteína em metionina). A succinil-CoA é fundamental para a síntese de ácidos graxos e de aminoácidos e a metionina é indispensável para a síntese das purinas (adenina e guanina) e, por sua vez, para a síntese de ácidos nucleicos.

A carência de vitamina B12 promove alterações no metabolismo lipídico e de aminoácidos, além de diminuir a síntese de DNA na medula óssea, o que leva a diminuição no metabolismo dos eritrócitos, levando à **anemia peniciosa** ou **megaloblástica**.

Necessita de uma proteína sintetizada no estômago denominada **fator intrínseco (FI)** para ser absorvida e transportada. A ligação com o FI, entretanto, é dificultada no meio ácido gástrico, o que torna necessário a presença de uma proteína presente na saliva e no estômago (a proteína R) que se liga com a vitamina B12 no estômago, é digerida no intestino e, somente assim, o FI liga-se à vitamina B12 e pode ser absorvido.

A vitamina B12 é sintetizada somente por microorganismos, principalmente os presentes no sistema digestivo de herbívoros. É a vitamina que é requerida em menor quantidade diária, fato que, associado ao acúmulo no

figado e músculos em grandes reservas, torna o animal independente de grandes fontes alimentares. Os vegetais não sintetizam vitamina B12, e por isso, os pacientes vegetarianos restritos possuem o risco maior para a anemia perniciosa. Os vegetarianos que comem ovos e/ou leite (chamados ovo, lacto ou ovo-lacto vegetarianos) possuem menor risco.

A vitamina B12 é uma vitamina termoestável, porém fotolábil.

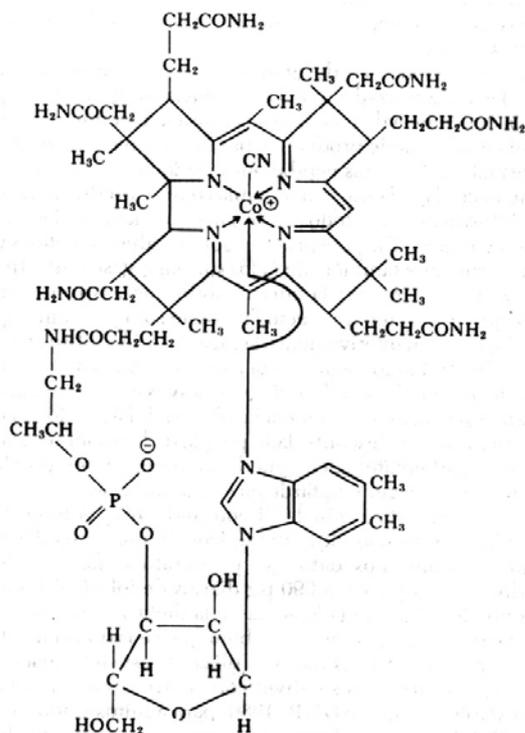


Figura 9-6 - A estrutura molecular da vitamina B12 em sua forma de cianocobalamina.

7. Vitamina C (ácido ascórbico):

Essa é a vitamina que possui a estrutura molecular mais simples (Figura 9-7), derivada da glicose e presente na maioria de animais e vegetais. Na verdade, somente poucos animais (homem, porquinho-da-índia, morcego das frutas e certas aves e peixes) não a sintetizam, isso devido à ausência da enzima *L-gulonolactona*, responsável pela sua síntese a partir de derivados da glicose.

Sua principal função bioquímica é converter o aminoácido prolina em hidroxiprolina na formação do colágeno. No entanto, é potente anti-oxidante, agindo como protetora da morte celular por ação de radicais livres.

É termo e fotolábil, sendo destruída gradativamente caso o alimento que a contêm fique exposto a ação do sol ou se cozido.

O **escorbuto** é a manifestação patológica clássica da carência de vitamina C e caracteriza-se por sintomatologia relacionada à diminuição da síntese de colágeno (de hemorragias a queda de cabelos e dentes).

É usada, terapeuticamente, em altas doses para prevenir a formação de radicais livres, combatendo o envelhecimento celular. O uso como antigripal não possui fundamento científico, até o momento.

Normalmente, as doses acima de 400mg/dia já são compatíveis com a excreção urinária, porém doses de até 12 mg/dia são prescritas em pacientes que deseja-se diminuir a ação do estresse oxidativo dos radicais livres, como no caso de pacientes idosos.

Não há evidências acerca de sua toxicidade, porém o risco de cálculos renais não deve ser desprezado em virtude do oxalato ser o produto final de seu metabolismo, quando em excesso.

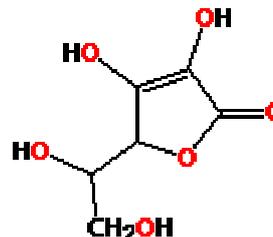


Figura 9-7 - A estrutura molecular da vitamina C.

8. Ácido Fólico (folacina):

Sua forma ativa é como **tetra-hidrofolato** (THF) contém um carbono extra que doa em reações enzimáticas (Figura 9-8). O THF é produzido a partir da ação da enzima *tetra-hidro-folato redutase*. Existem seis formas de THF, dependendo da forma como o carbono extra que é doado durante a reação por ela catalizada: -CH₃ (metil), -CH₂- (metileno), -CH=O (formil no N5 ou no N10 da molécula), -CH=NH (formimino) e -CH= (metenil).

É importante na síntese de DNA por participar na síntese de purinas e timina. Quando ausente na alimentação, resulta, assim com a vitamina B12, em anemia perniciosa. Porém, enquanto a vitamina B12 possui

reservas que duram anos, o folato pode levar a doença carencial em poucos meses, em virtude de sua baixa quantidade armazenada (5mg). A carência de vitamina B12 leva a um "aprisionamento" do folato pois a ativação pela tetra-hidro-folato redutase depende de etapas do metabolismo da vitamina B12, o que potencia os efeitos da anemia perniciosa.

O ácido fólico encontra-se presente principalmente em vegetais folhosos (daí seu nome); é uma vitamina termo e fotoestável.

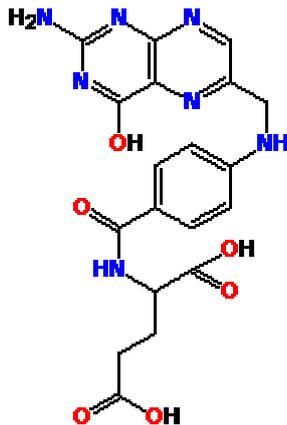
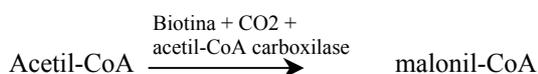
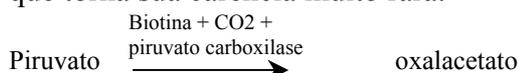


Figura 9-8 - Estrutura molecular do ácido fólico.

9. Biotina:

Também conhecida como **vitamina H**, é coenzima de enzimas *carboxilases*, *des-carboxilases* e *transcarboxilases* transportando o CO₂ para os substratos (Figura 9-9). É produzida em grande quantidade pela flora bacteriana intestinal normal do ser humano, o que torna sua carência muito rara.



A deficiência de biotina é muito rara, porém na clara do ovo existe a proteína **avidi-na** que impede a absorção intestinal da biotina o que faz com pessoas que se alimentam de maneira exagerada com ovos crus (o cozimento destrói a avidina) desenvolvam alguns sintomas inespecíficos como anorexia, náusea, vômito, palidez, depressão, dermatite e glossite.

É uma vitamina termo e fotoestável.

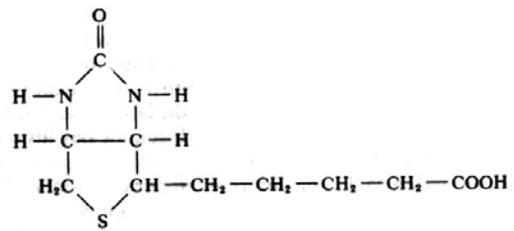


Figura 9-9 - Estrutura Molecular da biotina.

Vitaminas Lipossolúveis

1. Vitamina A:

Na retina, faz parte dos pigmentos fotorreceptores **rodopsina** e **iodopsina**, que modifica sua conformação espacial (de *cis* para *trans*) que desencadeia o processo de transmissão do impulso nervoso da visão.

É encontrada na forma de **retinol** (um álcool) e de **retinal** (um aldeído), também chamadas de vitamina A1 (Figura 9-10). Existe, ainda, a forma de **3-desidro-retinol**, denominada vitamina A2. É uma vitamina termoestável, porém fotolável a luz UV e a exposição ao oxigênio atmosférico.

É obtida, principalmente, na forma de beta-carotenos, pigmentos amarelados de vegetais.

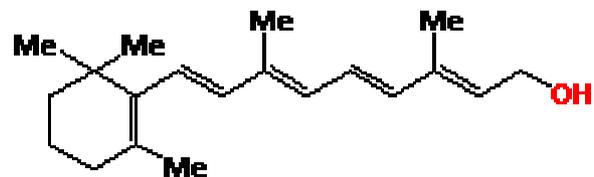


Figura 9-10 - Estrutura molecular do retinol (Vitamina A1). O retinal é um tipo de vitamina A1 onde a OH terminal é substituída por um grupamento aldeído (CHO). A forma de 3-desidro-retinol, o C3 apresenta dupla ligação.

A **xerofltmi** e a **cegueira noturna** são processos patológicos resultantes da sua carência alimentar.

É um potente antioxidante, sendo recitado para este fim, inclusive para fins cosméticos melhorando a consistência de cabelos e pele. Em aplicações subcutâneas, retarda o envelhecimento da pele e melhora a regeneração tecidual.

Excesso de ingestão alimentar de carotenóides leva a deposição desses pigmentos na pele dando-lhe um tom amarelado. Em, altas doses, apresenta efeitos colaterais neurológicos severos, além de manifestações sistêmicas como náuseas, dores abdominais, vômito, cefaléia intensa.

São necessárias em doses diárias muito pequenas na ordem de 1,5 mg/dia, expressas em 5.000 **unidades internacionais** (1 UI = 0,3 µg).

2. Vitamina D:

É produzida no organismo a partir da ativação pela UV do 7-desidrocolesterol formando o **colecalfiferol** (vitamina D3) que é convertido em 1,25-di-hidróxi-colecalfiferol por enzimas hepáticas e renais. Existe, ainda, a forma de **ergocalciferol** (vitamina D2) que é formada após a ativação ergosterol presente em leveduras (Figura 9-11).

É necessária em dosagens diárias de 400UI (1 UI = 0,025µg) o que é obtido facilmente por síntese endógena.

Não é uma vitamina verdadeira, e sim funciona mais como um hormônio. Regula a absorção do cálcio intestinal e o equilíbrio na liberação de cálcio e fósforo nos ossos.

É termo e fotoestável. Altas dosagens induzem a uma hipercalcemia que pode ser fatal ou favorecer processo de calcificação em alguns órgãos.

O **raquitismo** é a principal consequência de uma carência nutricional de vitamina D (nos adultos, **osteomalácia**).

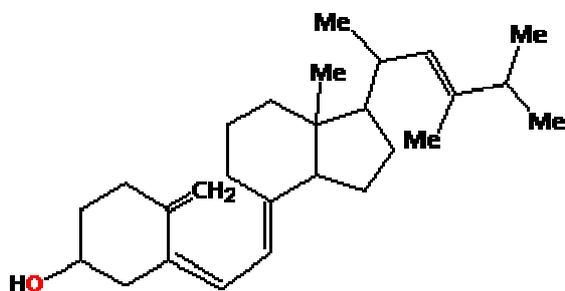


Figura 9-11 - Estrutura molecular da vitamina D2.

3. Vitamina E (tocoferol):

Possui importante função antioxidante protegendo os lipídios de membranas (Figura 9-12). É termo e fotoestável.

Em altas doses, é utilizada terapêuticamente no tratamento da infertilidade agindo como estimulante da espermatogênese, apesar de poder apresentar alguns efeitos colaterais severos na coagulação sanguínea ou na regulação hormonal.

Um efeito interessante do uso excessivo da vitamina E está relacionado com uma parente competição na absorção das demais vitaminas lipossolúveis, o que pode induzir a carência delas.

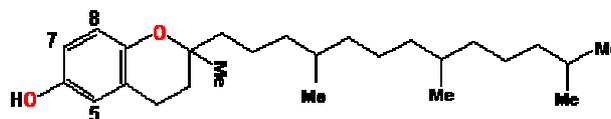


Figura 9-12 - Estrutura molecular da Vitamina E.

4. Vitamina K:

É cofator necessário para o processo de coagulação sanguínea como no processo de carboxilação. É produzida pelas bactérias intestinais, sendo sua carência muito rara ocasiona distúrbios hemorrágicos, apesar de altas doses não prevenir hemorragias e poder induzir à anemias hemolíticas e **kernicterus** (deposito de bilirrubina indireta no tecido nervoso).

Na tabela 8-1, encontra-se um resumo das principais informações sobre as vitaminas.

Tabela 8-1 - Resumo das características principais das vitaminas.

Vitaminas	Forma ativa	Função bioquímica	Necessidades diárias	Fontes	Termolábil	Fotolábil	Doença carencial	Uso terapêutico	Toxicidade
B1 (Tiamina)	Tiamina-Pirofosfato (TPP)	Coenzima na descarboxilação oxidativa de α -cetoácidos	2 mg	Sementes e grãos de cereais, vísceras, carne magra e leite	SIM	NÃO	Béri-béri; Síndrome de Wernik-Korsakoff	Melhoria do estado metabólico geral	Não relatada
B2 (Riboflavina)	Componente de FAD e FMN	Coenzima de transferência de hidrogênio	3 mg	Germe de cereais, vísceras, carne magra e leite	NÃO	SIM	Rachaduras na boca, seborréia.	Melhoria do estado metabólico geral	Não relatada
B3 (Nicotinamida)	Componente do NAD e NADP	Coenzima de transferência de hidrogênio	20 mg	Carne, fígado e grãos de cereais	NÃO	NÃO	Pelagra; síndrome da língua negra em cães	Melhoria do estado metabólico geral	Lesão hepática; hiperpigmentação
B5 (Ácido pantotênico)	Componente da Co-A	Transferência de grupos acil e acetil	10 mg	Levedura, fígado, ovos, carnes e leite	SIM	NÃO	Síndrome do pé ardente	Melhoria do estado metabólico geral	Não relatada
B6 (Piridoxina)	Piridoxal Fosfato (PALP)	Transaminação e descarboxilação de aminoácidos	2 mg	Sementes e grãos de cereais, carne, víscera, ovos e leite	SIM	SIM	Dermatite, glossite e neuropatias	Anti-neurítico; anti-enjões.	Reações alérgicas
B12 (Cobalamina)	Coenzima B12 (desoxiadenosilcobalamida)	Cofator de reações de metilação	5 μ g	Vísceras e carnes	NÃO	SIM	Anemia perniciosa	Associada ao tratamento da doença carencial	Não relatada
BIOTINA	Biocitina ou Biotinilisina	Transporte de grupos CO ₂ em processos carboxilantes	0,25mg	Sementes e grãos de cereais, carne, víscera, ovos e leite	NÃO	NÃO	Anorexia, náusea, vômito, palidez, depressão, dermatite e glossite	Associada ao tratamento da doença carencial	Não relatada
Ácido fólico	Ácido tetra-hidrofólico (THF)	Transferência de grupos formil (síntese de nucleotídeos)	0,4 mg	Levedura e vegetais verdes	NÃO	NÃO	Anemia perniciosa	Associada ao tratamento da doença carencial	Não relatada
Vitamina C (Ácido ascórbico)	Não precisa ser ativado para exercer sua função	Cofator em reações de hidroxilação	60 mg	Frutas cítricas	SIM	SIM	Escorbuto	Antioxidante; antigripal.	Aumenta o risco de cálculos renais
A (Retinol)	11-cis-retinal	Regula o ciclo visual através da formação de Rodopsina a partir da opsina	5.000 UI	Leite, manteiga, queijo, óleo de fígado de bacalhau, frutas e vegetais ricos em carotenos	NÃO	SIM (luz UV)	Cegueira noturna, xerofthalmia.	Antioxidante;	Reações neurológicas e sistêmicas severas
D (Colecalciferol)	1,25 diidroxicolecalciferol	Regula a concentração de cálcio plasmático	400 UI	Exposição da pele a luz solar, leite, queijo, manteiga, óleo de fígado de bacalhau, óleos vegetais	NÃO	NÃO	Raquitismo osteomalácia.	Associada ao tratamento da doença carencial	Hipercalcemia, calcificação de órgãos moles, cálculos renais
E (α-tocoferol)	Não precisa ser ativado para exercer sua função	Antioxidante protetor dos lipídios insaturados	30 UI	Óleos vegetais	NÃO	NÃO	Desestabilização da membrana celular	Antioxidante; estimula a espermatogênese	Distúrbios hormonais e na coagulação
K (2-metil-1,4-naftoquinona)	Não precisa ser ativado para exercer sua função	Síntese hepática da protombina e fatores VII, IX e X da coagulação sanguínea	1 mg	Vegetais folhosos, flora bacteriana intestinal	NÃO	NÃO	Distúrbios da coagulação	Associada ao tratamento da doença carencial	Anemia hemolítica, kernixterus

EXERCÍCIOS

1. Comente sobre a importância das vitaminas para o metabolismo celular.
2. Comente sobre as vitaminas que possuem uma doença carencial bem características.
3. Quais as ações farmacológicas das vitaminas? Comente sobre o seu efeito tóxico.

Para navegar na Internet

Fundamentos de Bioquímica:

www.fundamentosdebioquimica.hpg.com.br

Vitaminas e Minerais:

www.cyber-north.com/vitamins

Webioquímica

www.pucpr.br/disciplinas/bioquimica/Webio1.html

3D Images of proteins

www.imb-jena.de/IMAGE.html

Capítulo 9

Fundamentos de Bioenergética

As células possuem a capacidade de sobreviverem de maneira independente desde que lhes sejam fornecidos os substratos básicos para as reações químicas intracelulares. Dispondo de alguns compostos carbonados (aminoácidos, carboidratos, lipídios), vitaminas, água e minerais, a célula pode operar o processo de síntese da maioria dos elementos necessários para seu funcionamento, sendo que em organismos complexos, grupos celulares específicos agrupam-se formando os órgãos com as mais diversas funções fisiológicas.

Um grupo de substratos possui uma função primordial para estas funções que é a de fornecer a energia térmica necessária para que essas reações ocorram. São os compostos energéticos (carboidratos, lipídios e proteínas) que são degradados convertendo a energia química que une seus átomos em energia térmica.

Entretanto, esta liberação térmica não acontece de forma indiscriminada, pois haveria a incineração do meio celular se cada molécula energética liberasse todo seu potencial térmico para o meio. Neste momento entra em ação moléculas especializadas em captar esta energia térmica liberada e liberá-la mais facilmente em etapas posteriores, fazendo com que as moléculas energéticas transfiram a energia armazenada na intimidade de suas ligações químicas, para uma única molécula, que passa a funcionar como uma moeda energética: a adenosina-tri-fosfato, o ATP (Figura 9-1).

O ATP é formado a partir da adição de uma molécula de fosfato inorgânico ($\text{Pi} = \text{HPO}_4^-$) a uma molécula de ADP (adenosina-di-fosfato) em um processo **endergônico**, ou seja com a formação de uma molécula que retirou calor do sistema reacional para poder ser sintetizada.

Eligação de alta energia formada (7,3 kcal/mol), é facilmente quebrada na presença

de enzimas especializadas (ATPases), liberando a energia para o sistema reacional, em um processo **exergônico**.

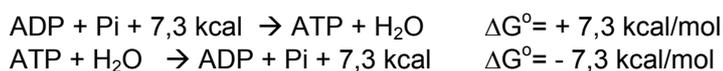
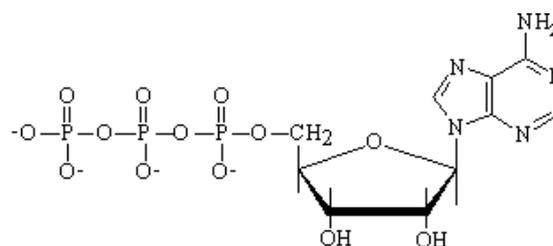


Figura 9-1 - A moeda energética dos negócios intracelulares: o ATP.

Não só o ATP exerce essa função (Tabela 1), mas há uma prevalência de reações intracelulares que o utilizam como a molécula fornecedora de calor para as reações endotérmicas, talvez por um preciosismo evolucionário que “preferiu” utilizar uma “moeda única” para as “transações” energéticas celulares.

A molécula de ATP não é, entretanto, uma molécula de **reserva energética** por excelência, uma vez que perde muito rapidamente seu Pi, sendo, por isso, utilizada mais em reações que necessitem da liberação rápida de calor.

As melhores moléculas de armazenamento real de energia são o amido, glicogênio e triglicerídeos que podem liberar a principal molécula precursora da síntese do ATP, a acetil-CoA (Figura 9-2). Esta molécula é responsável por iniciar o principal grupo de reações bioquímicas que desencadearão a síntese de ATP: o **Ciclo de Krebs**, com a **cadeia respiratória** acoplada.

Muitas são as formas de se produzir acetil-coA na célula, mas o metabolismo dos carboidratos constitui a principal via, quando a **glicólise** prossegue em aerobiose (em anae-

presente na alimentação diária de forma a atender as necessidades individuais, tendo como parâmetro, a produção de energia, levando-se em consideração as necessidades individuais de acordo com o biotipo, estado fisiopatológico, idade, sexo, estilo de vida e, inclusive, características sócio-culturais. Para mais detalhes, ver Capítulo 2 sobre Bioquímica dos Alimentos.

É evidente que toda essa quantidade de energia (ainda mais quando em excesso) não é liberada de uma só vez no organismo, pois isso é incompatível com a vida por gerar calor insuportável pelas células. Desta forma, um emaranhado de reações químicas desenvolveram-se nos organismos vivos como uma forma de desviar a energia livre dos alimentos para moléculas especializadas em armazenar esta energia e liberá-las gradativamente durante o tempo de vida (ATP, liberação mais imediata; glicogênio e ácidos graxos, liberação mais gradativa).

Os carboidratos são os alimentos energéticos por excelência, apesar de os lipídios serem mais calóricos. Isto se dá, provavelmente por terem sido os primeiros compostos fotossintetizados, armazenadores da energia solar na intimidade de suas moléculas. lipídios são compostos primários de reserva energética na maioria dos animais justamente pelo fato de serem primeiro armazenados como indicativo de excesso de calorias na alimentação. Em vegetais, o consumo de lipídios geralmente está atrelado aos processos de manutenção de células germinativas em sementes que ficam longo tempo sem o fornecimento de carboidratos pela fotossíntese, uma vez que são separados do organismo gerador. Mesmo nessas sementes, os carboidratos (na forma de amido) estão presentes como combustível energético.

Os nutrientes energéticos ingeridos diariamente, rapidamente são consumidos. As reservas de glicogênio sintetizado a partir de excesso de glicose duram, no máximo, 24 horas, enquanto que as reservas de lipídios armazenadas nos adipócitos pode fornecer, em tese, energia para cerca de um mês sem a ingestão de alimentos. Entretanto, a produção de compostos secundários a degradação dos lipídios (os corpos cetônicos) possuem ação

danosa ao organismo, o que faz que um animal que não se alimente por mais de duas semanas morra por inanição.

Os animais hibernantes são exceção a essa regra, pois os lipídios armazenados durante as estações quentes, garantem a energia e água necessárias durante o inverno, sem haver a ação danosa dos corpos cetônicos, mas sim seu aproveitamento total no metabolismo energético. O camelo que contém em suas corcovas grandes depósitos de gordura que garante água e energia para as longas travessias do deserto.

Os carboidratos (glicose) são a fonte primária de energia dos neurônios. Em sua ausência, somente há a utilização dos corpos cetônicos, não havendo o metabolismo energético de ácidos graxos.

As proteínas são utilizadas somente de forma terciária para a produção de energia, porém possuem inúmeras funções biológicas que as fazem essenciais na alimentação, apesar de serem “desmontadas” em aminoácidos na digestão e sintetizadas, no fígado, em todas as proteínas plasmáticas.

A utilização de proteínas no metabolismo energético indica um certo desperdício de um substrato tão diferenciado em uma função básica como a produção de energia. Isto só se observa quando há extrema carência energética na ausência de glicose ou lipídios disponíveis para o metabolismo energético ou quando há intensa atividade física.

As moléculas "altamente" energéticas

O ATP não é a única molécula capaz de receber e liberar energia térmica para as reações bioquímicas. A condição primordial para uma molécula ser considerada "altamente" energética é ter a capacidade de transferir grupamentos químicos durante reações bioquímicas, liberando a energia para o meio (reação exergônica) possibilitando que os substratos da reação absorva esta energia para ser produzido os produtos (reação endergônica) num acoplamento entre esses dois tipos de reação.

Na tabela 9-1 estão apresentadas as principais moléculas energéticas e os grupos químicos transferidos durante o processo exergônico. Nas Figuras de 9-3 a 9-5 estão apresentadas duas importantes moléculas transportadoras de elétrons.

Muitas vezes, uma reação química não utiliza totalmente a energia liberada pela molécula energética, havendo o aumento da temperatura no momento da reação. Este efeito pode ser benéfico para a célula, como no processo de manutenção da temperatura corporal nos mamíferos, mas, na maioria das vezes, precisa ser impedido, havendo um processo de regulação onde não há perda da energia em excesso.

Isto quase sempre é observado quando há a liberação de muitas moléculas de acetil-CoA no excesso alimentício de carboidratos, havendo o desvio da acetil-CoA para a síntese de colesterol, triglicerídeos e corpos cetônicos.

Este efeito metabólico também é observado na carência de glicose onde os ácidos graxos passam a liberar grandes quantidades de acetil-CoA para o processo energético, havendo o natural acúmulo de colesterol e corpos cetônicos que trazem problemas fisiológicos importantes para o ser humano como a aterosclerose e a cetoacidose, podendo, inclusive, levar a morte.

A acetil-CoA é utilizada, também, na síntese de alguns aminoácidos, porém como os aminoácidos não se armazenam no organismo, a síntese de lipídios fica privilegiada.

Portanto, um excesso de produção de acetil-CoA não é um processo desejável, havendo um deslocamento constante para a síntese de aminoácidos e outros processos que consomem a acetil-CoA impedindo seu acúmulo, até um limite tolerável pela célula que, geralmente, corresponde a queda do pH devido ao acúmulo dos corpos cetônicos.

As reações enzimáticas

As reações que acontecem no meio intracelular possuem o auxílio indispensáveis de enzimas que não interferem na estrutura molecular dos produtos, mas possibilitam sua rápida formação. Apesar de algumas moléculas de RNA possuírem propriedades enzimáticas (**ribozimas**), as enzimas clássicas são, quimicamente, proteínas que possuem uma estrutura tridimensional complementar a um substrato específico ajustando-se a ele em um modelo chave-fechadura, permitindo a formação dos produtos com um gasto mínimo de energia.

Este processo acontece pela formação de um complexo enzima-substrato que permite que os substratos se encontrem de maneira muito mais rápida e ordenada, diminuindo a energia necessária para que ocorra a reação (**energia de ativação**), liberando a enzima intacta ao final da reação (para maiores detalhes ver Capítulo 5 sobre enzimas).

MOLÉCULA ENERGÉTICA	GRUPO DE TRANSFERÊNCIA	EXEMPLO DE REAÇÕES QUE PARTICIPAM
ATP (adenosina tri--fosfato) UTP (uridina-tri-fosfato) GTP (guanosina-tri-fosfato) Creatinina-fosfato	fosforil (Pi = fosfato inorgânico)	glicólise, cadeia respiratória, ciclo de Krebs, síntese da creatina
NADH (nicotinamida-adenina-dinucleotídeo) NADPH (NAD-fosfato) FADH ₂ (flavina-adenina-dinucleotídeo)	elétrons, hidrogênio	síntese do ácido láctico, cadeia respiratória, ciclo de Krebs
Acetil-Coenzima A (acetil-CoA)	grupo acil (cadeia carbonada)	ciclo de Krebs, β-oxidação, síntese de aminoácidos e lipídios
Biotina	CO ₂	ciclo de Krebs
Tetra-hidro-folato (THC)	carbono simples	síntese de aminoácidos
Tiamina-pirifosfato (TPP)	aldeído	ciclo de Krebs, síntese de acetil-CoA
S-adenosilmetionina (adoMET)	metil	síntese e degradação de aminoácidos
Uridina-bi-fosfato-glicose	glicose	síntese do amido e glicogênio

Tabela 9-1 - Exemplo de moléculas "altamente energéticas" que participam de processos bioquímicos essenciais.

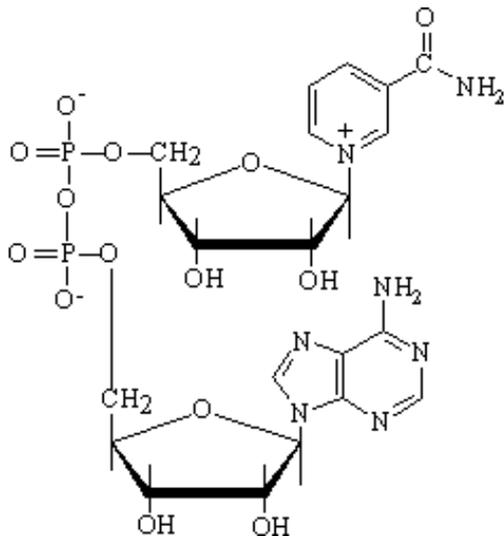


Figura 9-3 - A molécula de NAD^+ é responsável pela captação de um par de elétrons e um H^+ durante reações de desidrogenações, poderosas reações exergônicas. Fazem parte de um complexo transportador de elétrons mitocondrial.

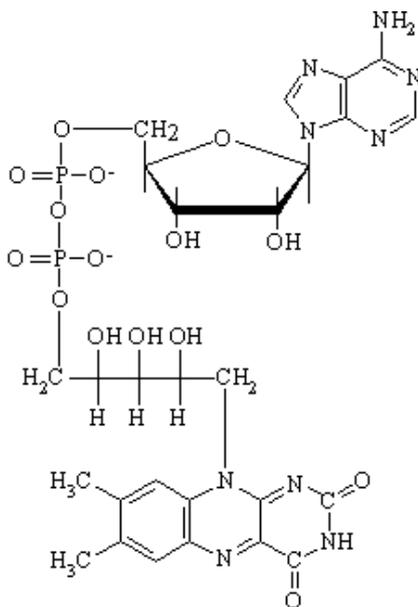


Figura 9-4 - A molécula de FAD^+ recebe um par de elétrons e dois H^+ durante desidrogenações. Junto com o FAD^+ é uma das principais moléculas da cadeia respiratória mitocondrial.

Desta forma, as enzimas tornam-se indispensáveis para os processos biológicos pois poupam um gasto desnecessário de energia, além de permitir a rápida formação dos produtos em um tempo muito menor do que seria se a reação não fosse enzimática e serem

necessárias em pequenas quantidades uma vez que são reaproveitadas ao final da reação. De fato, a maioria das reações biológicas são enzimáticas e não ocorrem na ausência ou inibição da enzima.

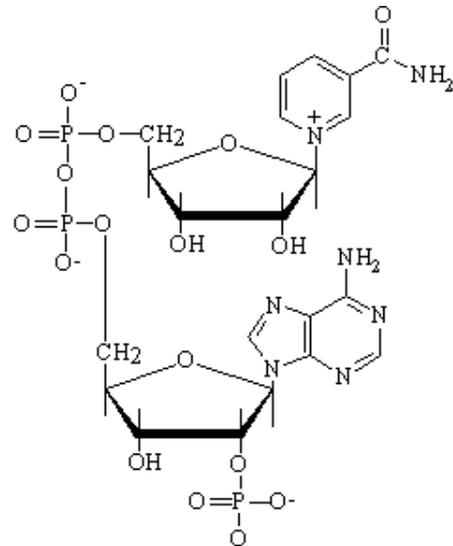


Figura 9-5 - A molécula de NADP^+ não é um bom transportador de elétrons para o metabolismo energético, porém garante o transporte dos elétrons para sistemas que necessitem de potencial redutor (p.ex.: síntese de lipídios, redução do ferro da hemoglobina).

As principais reações bioenergéticas

Os carboidratos constituem os principais compostos energéticos, com a glicose possuindo um mecanismo de degradação presente em todos os seres vivos. De fato, a semelhança entre o processo de degradação da glicose nos seres vivos, indica sua importância no processo metabólico.

As principais reações bioenergéticas, portanto, estão relacionadas com o metabolismo da glicose, onde o passo primordial é a quebra da molécula da glicose, de seis carbonos, em duas moléculas de ácido láctico, de três carbonos. Este processo citoplasmático, a **glicólise**, ocorre em todas os seres vivos, sejam anaeróbios ou aeróbios.

Em aerobiose, particularmente, não há a formação de ácido láctico mas sim de ácido pirúvico, que é devidamente convertido em acetil-coA, iniciando, nas mitocôndrias, o

ciclo de Krebs (ou do ácido tricarboxílico, o ácido cítrico).

Aqui, há a liberação de elétrons que são transportados por compostos especializados gerando energia capaz de unir moléculas de ADP com Pi formando ATP, na chamada **fosforilação oxidativa** ou **cadeia respiratória**.

Quando há um excesso de glicose alimentar, há o estímulo da síntese de glicogênio hepático e muscular (**glicogênese**), além da conversão da acetil-CoA em excesso em triglicerídeos e seu posterior depósito nos adipócitos (ver Capítulo 10 sobre Metabolismo).

Os ácidos graxos correspondem às moléculas de maior poder calórico no metabolismo celular, mas são utilizados secundariamente à glicose. O processo enzimático mitocondrial da **β -oxidação dos ácidos graxos**, produz moléculas de acetil-CoA para o Ciclo de Krebs, além de NADH e FADH₂ para a cadeia respiratória.

O excesso de acetil-CoA é destinado à síntese de corpos cetônicos, outras moléculas energéticas. Os aminoácidos também são utilizados para a produção de energia fornecendo acetil-CoA ou intermediários para a gliconeogênese ou o Ciclo de Krebs.

Outras reações bioquímicas importantes utilizando as moléculas energéticas ocorrem em vários locais da célula de maneira contínua, havendo a regulação da degradação dos substratos através de processos de regulação da atividade enzimática. Na tabela 9-2 estão relacionadas as principais localizações de reações bioquímicas importantes.

Neste capítulo, trataremos das reações do Ciclo de Krebs e Cadeia Respiratória e dos principais processos que antecedem a formação de acetil-CoA (Glicólise e β -oxidação de ácidos graxos).

Glicólise

A glicose é o principal substrato para as reações energéticas, sendo a **glicólise** o principal processo de utilização energética da glicose, presente em todos os seres vivos, desde a mais antiga e simples bactéria até o mais recente e complexo organismo multicelular. A glicólise, entretanto, é um processo

essencialmente anaeróbico, com o metabolismo aeróbico produzindo quase vinte vezes mais energia para os processos metabólicos intracelulares. Desta forma, o **ciclo de Krebs** e a **Cadeia respiratória** correspondem à seqüência natural do metabolismo da glicose e dos demais compostos energéticos (ácidos graxos e aminoácidos).

Tabela 9-2 - Os principais sítios das reações bioquímicas intracelulares.

REAÇÃO BIOQUÍMICA	LOCAL
Glicólise Síntese de ácidos graxos Síntese de corpos cetônicos Síntese do Colesterol Parte do ciclo da uréia Parte da gliconeogênese	citoplasma
Ciclo de Krebs Cadeia respiratória β -oxidação dos ácidos graxos Formação da acetil-CoA Parte do Ciclo da uréia	mitocôndrias
Parte da gliconeogênese Síntese e empacotamento de moléculas complexas (glicolipídios, glicoproteínas, lipoproteínas, hormônios protéicos)	retículo endoplasmático e aparelho de Golgi
Síntese de proteínas	ribossomos
Degradação de moléculas complexas	lisossomos
Síntese de DNA e RNA	núcleo

A glicólise, também conhecida como **via de Ebden-Meyerhof**, é a primeira via metabólica da molécula de glicose e outras hexoses. Todos os seres vivos (a exceção dos vírus) realizam, invariavelmente, a glicólise seja em condições de **aerobiose** ou de **anaerobiose**, com as enzimas glicolíticas presentes no citoplasma.

Primariamente, a glicólise é um processo anaeróbio onde se observa a formação de um produto final estável (**lactato**) e em condições de aerobiose, o metabolismo da glicose prossegue com as demais vias produtoras de energia (ciclo de Krebs e cadeia respiratória) mas somente se a célula possuir mitocôndrias funcionais, uma vez que esses processos são todos intramitocondriais.

A glicólise ocorre em uma seqüência enzimática de 11 reações, divididas em duas fases: a primeira até a formação de duas moléculas de **gliceraldeído-3-fosfato** caracteriza-se como uma fase de gasto energético de 2

ATPs nas duas fosforilações que ocorrem nesta fase (Figura 9-6); a segunda fase caracteriza-se pela produção energética de 4 ATPs em reações oxidativas enzimáticas independentes de oxigênio, utilizando o NADH como transportador de hidrogênios da reação de desidrogenação que ocorre (Figura 9-7).

O rendimento energético final do metabolismo **anaeróbio** da glicose, portanto é:

- 1a. FASE: - 2 ATPs
- 2a. FASE: +4 ATPs (= saldo bruto: 2 por cada lactato formado)
- SALDO: + 2 ATPs (saldo líquido)

Em condições de **aerobiose**, porém, o piruvato não é reduzido e sim **oxidado** nas mitocôndrias pelo complexo enzimático **piruvato-desidrogenase** (também chamado **piruvato-descarboxilase**) havendo a formação de acetil-CoA e a liberação de uma molécula de CO₂ por cada piruvato oxidado.

É formado, também, um NADH na reação de desidrogenação, indo para a cadeia respiratória, uma vez que já está dentro das mitocôndrias.

É importante observar que, sendo oxidado o piruvato, o NADH (produzido na glicólise) que seria utilizado para sua redução, é poupado o que possibilita que os elétrons por ele transportado, possam penetrar na mitocôndria e convertidos em ATP, em última análise, na cadeia respiratória.

A primeira fase da glicólise é uma fase de gasto energético onde os produtos formados são mais energéticos que a glicose. A segunda fase, resgata a energia investida e libera parte da energia contida na molécula de glicose.

As reações irreversíveis impedem a reversão do processo e a liberação de glicose para o meio extra-celular. A neoglicogênese precisará "driblar" essas reações irreversíveis para gerar glicose. As enzimas desta via metabólica permitirão justamente nessa reversibilidade (ver capítulo 10 sobre metabolismo).

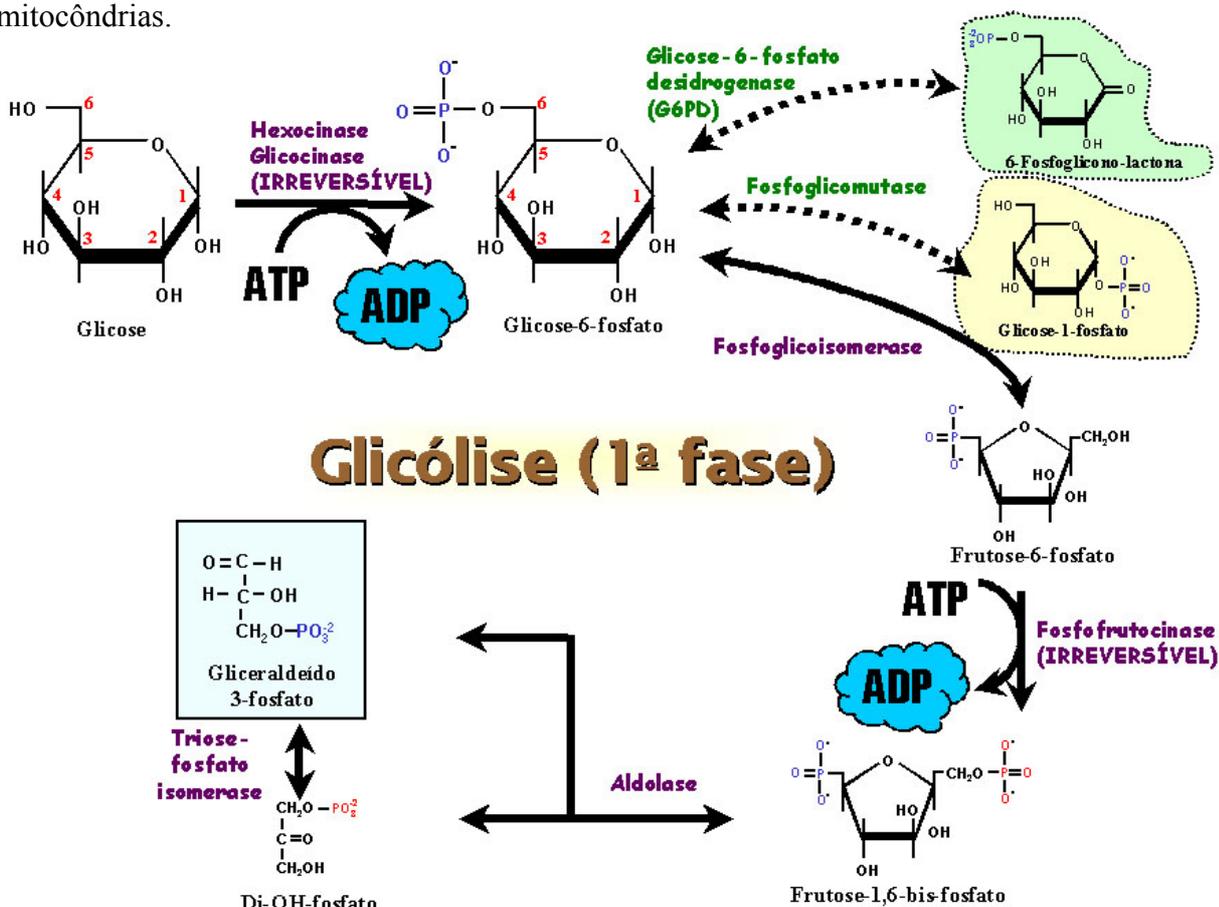


Figura 9-6 - Na primeira fase da glicólise há o gasto da energia da ligação fosfato de duas moléculas de ATP. É uma fase de investimento energético para a produção posterior maior da energia com a quebra da molécula. Duas reações de fosforilações são irreversíveis o que obriga a não formação de glicose a partir do aumento da concentração do produto. Essas reações irreversíveis serão alvo de enzimas da neoglicogênese.

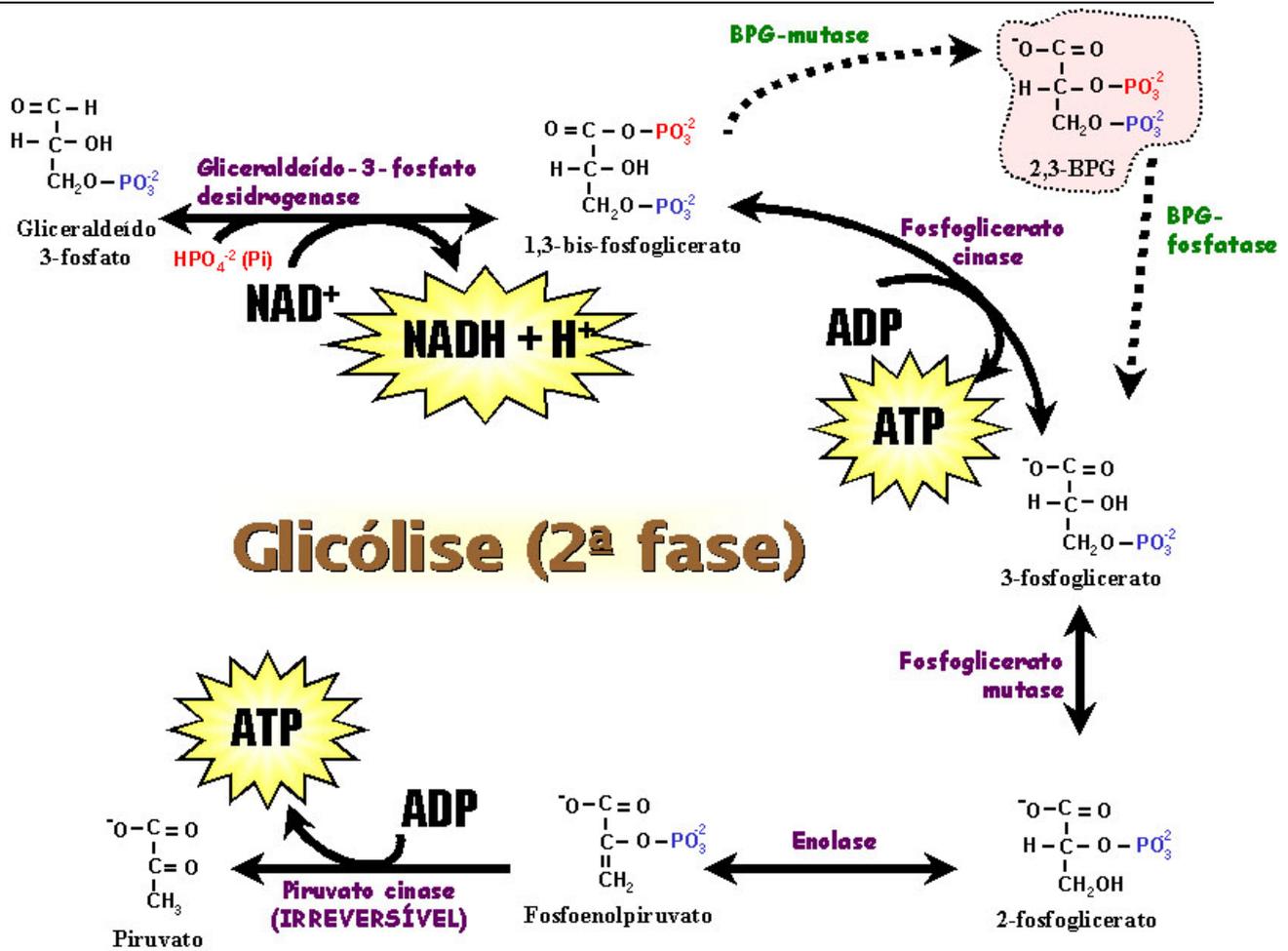


Figura 9-7 -A segunda fase da glicólise é responsável pela produção energética equivalente a quatro ligações de alta energia do ATP mais a formação de dois NADH. Parte do BPG formado é usado como sinalizador para a liberação de O_2 nos tecidos pela hemoglobina.

Alguns fungos possuem um tipo especial de glicólise, denominada **fermentação alcoólica**, pelo fato de degradar a glicose até piruvato (3C) e este até etanol (2C) com a liberação de CO_2 .

Este é o principal motivo de se utilizar fungos (p.ex.: *Sacharomices cerevisiae*) para obter a base para as bebidas alcóolicas e também como fermento de pão (a massa aumenta de volume graças ao CO_2 liberado).

A maioria das bactérias realiza o metabolismo anaeróbico da glicose, mesmo sendo aeróbias, pelo simples fato de não possuírem mitocôndrias. Algumas bactérias, entretanto, possuem na membrana citoplasmática enzimas transportadoras de elétrons que permite o metabolismo aeróbico semelhante ao observado no Ciclo de Krebs e Cadeia Respiratória.

As hemácias realizam, também, somente o metabolismo anaeróbico pelo fato de suas mitocôndrias serem afuncionais.

Nas hemácias, durante a segunda fase da glicólise, o 1,3-bis-fosfo-glicerato pode ser isomerizado em 2,3-bis-fosfo-glicerato (BPG) e se ligar com a hemoglobina induzindo a liberação de O_2 nos tecidos (ver capítulo 20).

Ciclo de Krebs

O **Ciclo de Krebs** (assim denominado em homenagem ao bioquímico alemão Hans Krebs que estabeleceu, em 1937, as seqüências de reações a partir de estudos preliminares), também chamado **Ciclo do Ácido Tricarboxílico** ou **Ciclo do Ácido Cítrico**, é a mais importante via metabólica celular. Ocorre sob a regência de enzimas mitocondriais, em condições de aerobiose, após a descarbo-

xilação oxidativa do piruvato a acetil-CoA, após o final da glicólise.

A acetil-CoA também é originária da degradação de ácidos graxos (β -oxidação) a partir da mobilização dos triglicerídeos armazenados nos adipócitos e também dos aminoácidos originários da degradação das proteínas (alanina, treonina, glicina, serina, cisteína, fenilalanina, tirosina, leucina, lisina e triptofano). Corpos cetônicos também podem ser degradados em acetil-CoA e aproveitados pelos músculos e neurônios.

Todos esses compostos são sintetizados a partir da acetil-CoA e por isso podem ser convertidos nela quando há necessidade energética. Entretanto, isto não é verdade para todas as moléculas originárias da acetil-CoA, como é o caso do colesterol que não possui função energética, correspondendo, portanto a um “beco sem saída” do metabolismo energético a partir da acetil-CoA.

O Ciclo de Krebs está associado a uma **cadeia respiratória**, ou seja, um complexo de compostos transportadores de prótons (H^+) e elétrons que consomem o oxigênio (O_2) absorvido por mecanismos respiratórios, sintetizando água e gerando ATPs através de um processo de **fosforilação oxidativa**.

Esses processos ocorrem dentro das mitocôndrias, com as enzimas do Ciclo de Krebs dispersas na matriz e os transportadores de elétrons estão fixos na cristas mitocondriais (Figura 9-8).

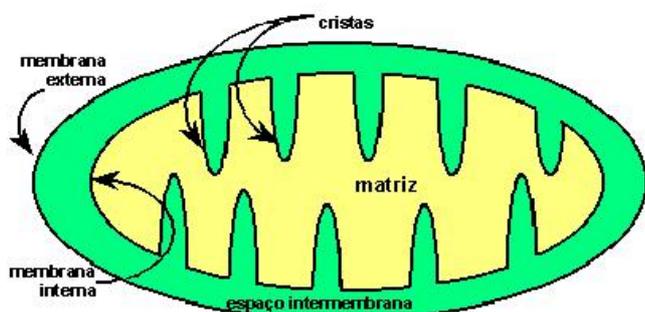


Figura 9-8 – A mitocôndria, sede do metabolismo energético. As enzimas do Ciclo de Krebs estão presentes na matriz mitocondrial, enquanto que os transportadores de elétrons encontram-se nas cristas mitocondriais (invaginações da membrana interna). O fluxo de prótons ocorre da matriz para o espaço intermembrana e daí de volta para a matriz, gerando um potencial prótônico necessário para a síntese de ATP.

As mitocôndrias possuem uma estrutura de membrana peculiar que a assemelha a um organismo particular vivendo dentro de uma célula estranha. De fato, o DNA mitocondrial apresenta diferenças notáveis em relação ao DNA nuclear, assemelhando-se mais com bactérias do que com o próprio organismo na qual estão inseridas, sugerindo que a sua origem é resultante de um processo de endossimbiose ocorrido nos primórdios da evolução.

A membrana externa das mitocôndrias é bastante permeável às moléculas que servem de substratos para as reações energéticas (piruvato, acetil-CoA, ácidos graxos ativados), porém a membrana interna corresponde a uma barreira para a entrada dessas moléculas para o interior da mitocôndria.

É na membrana interna que estão localizadas proteínas especializadas em introduzir os substratos citoplasmáticos para o interior, denominadas, genericamente, como **lançadeiras de substratos** que proporcionam a seleção das moléculas a serem degradadas pelas enzimas mitocondriais. Dependendo do tipo de lançadeira, tem-se processos distintos de captação de moléculas do citoplasma, ou de saída de compostos da matriz mitocondrial para o citoplasma.

O Ciclo de Krebs inicia-se com a união de uma molécula de acetil-CoA (2C) com uma de oxalacetato (4C) gerando o citrato (6C) que possui três carboxilas.

O Ciclo de Krebs pode ser dividido em oito etapas consecutivas:

- 1. INÍCIO: condensação da acetil-CoA com o oxalacetato, gerando citrato:** esta reação é catalisada pela enzima *citrato-sintase* e gera um composto de seis carbonos, uma vez que o *oxalacetato* possui 4C e a *acetil-CoA*, possui 2C que correspondem aos dois últimos carbonos da glicose que ainda estão unidos depois da oxidação do *piruvato*.
- 2. Isomerização do citrato em isocitrato:** esta reação é catalisada pela enzima *aconitase*. Há a formação de *cis-aconitato* como um intermediário ligado à enzima, porém pode ser que ele constitua uma ramificação do ciclo.

3. **Oxidação do citrato a α -cetoglutarato:** catalisada pela enzima *isocitrato-desidrogenase*, utiliza o NADH como transportador de 2 hidrogênios liberados na reação, havendo o desprendimento de uma molécula de CO₂, a primeira da acetil-CoA. Há a formação de *oxalo-succinato* como intermediário ligado à enzima.
4. **Descarboxilação oxidativa do α -cetoglutarato a succinil-CoA:** é catalisada pelo complexo enzimático *α -cetoglutarato-desidrogenase* e utiliza o NADH como transportador de 2 hidrogênios liberados na reação, havendo o desprendimento de mais uma molécula de CO₂ que corresponde ao último carbono remanescente da acetil-CoA, com as reações seguintes reorganizando o estado energético dos compostos com a finalidade de regenerar o *oxalacetato*, molécula iniciadora do ciclo, permitindo o prosseguimento do metabolismo da *acetil-*
5. **Descarboxilação do succinil-CoA até succinato:** a enzima *succinil-CoA sintase* catalisa esta reação de alto poder termogênico, gerando um GTP (guanosina-tri-fosfato) que é convertido em ATP (o único produzido no nível dos substrato do *Ciclo de Krebs*).
6. **Oxidação do succinato a fumarato:** catalisada pela enzima *succinato-desidrogenase*, utiliza o FADH₂ como transportador de 2 hidrogênios liberados na reação.
7. **Hidratação do fumarato a malato:** catalisada pela enzima *fumarase* (ou *fumarato-hidratase*) corresponde a uma desidratação com posterior hidratação, gerando um isômero.
8. **TÉRMINO: desidrogenação do malato com a regeneração do oxalacetato:** catalisada pela enzima *malato-desidrogenase*, utiliza o NADH como transportador de 2 hidrogênios liberados na reação. Na verdade, o *Ciclo de Krebs* não termina, verdadeiramente, com esta reação, pois outra molécula de *acetil-CoA* condensa-se com o *oxalacetato*, reiniciando um novo ciclo.

De uma forma resumida, pode-se dizer que o Ciclo de Krebs é um processo metabó-

lico que inicia-se com a captação de uma molécula de 2C (acetil-CoA) por um composto de 4C (oxalacetato), gerando uma molécula de 6C (citrato) que é trabalhado enzimaticamente para liberar os 2C iniciais como CO₂, regenerando a molécula original de oxalacetato, reiniciando o ciclo.

Durante esta regeneração, são produzidos 4 substratos altamente energético derivados das reações de desidrogenação: 3 NADH e 1 FADH₂, além de um ATP no nível dos substratos.

Na verdade, os carbonos da acetil-CoA incorporados à molécula de citrato só são liberados como CO₂, na segunda volta do Ciclo de Krebs e não imediatamente após a formação do citrato. Entretanto, este detalhe não diminui o fato que cada duas moléculas de CO₂ liberado, corresponde a molécula de acetil-CoA que entrou no Ciclo.

Na Figura 9-9 está representado esta importante via metabólica celular.

Na sua essência, o Ciclo de Krebs representa a forma como a mitocôndria, utilizando poucas moléculas do substrato **oxalacetato** pode converter uma quantidade enorme de **acetil-CoA** já que no final do ciclo, o oxalacetato se regenera e possibilita o a captação de nova molécula de acetil-CoA. Sendo assim, é a acetil-CoA a molécula iniciadora do Ciclo de Krebs, uma vez que o oxalacetato funciona como uma espécie de substrato temporário do ciclo.

Desta forma qualquer biomolécula que ao ser degradada forneça acetil-CoA (p.ex.: glicose, ácidos graxos, certos aminoácidos, etanol, ácido acético) é potencial “combustível” mitocondrial para a formação de ATP pelo Ciclo de Krebs. Entretanto, moléculas que forneçam o oxalacetato ao serem degradadas (p.ex.: alguns aminoácidos), ou qualquer substrato do ciclo de Krebs que converte-se em oxalacetato aumenta apenas a velocidade de formação de ATP, mas não a sua quantidade já que o oxalacetato não é um “combustível” propriamente dito do ciclo de Krebs, mas o substrato para que ele aconteça.

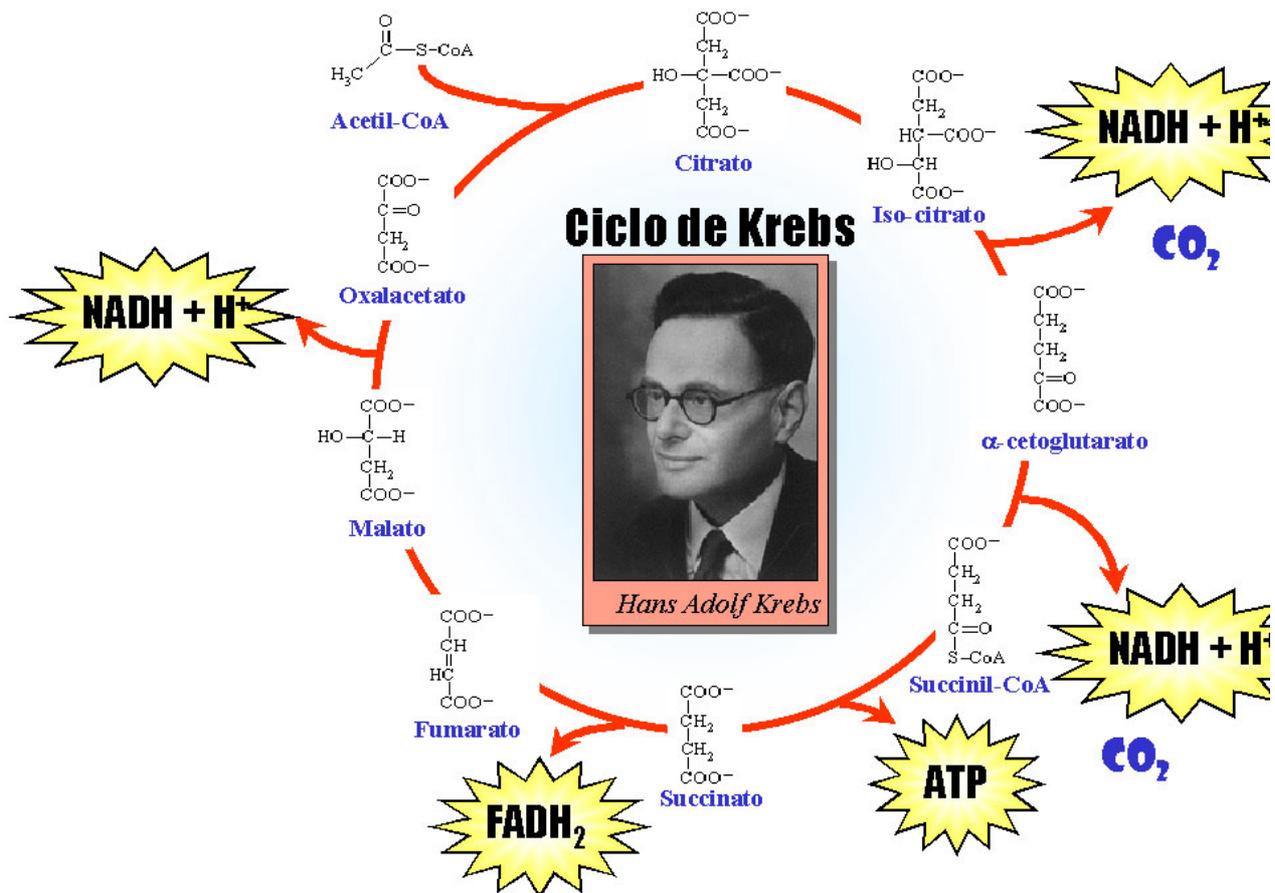


Figura 9-9 - O Ciclo de Krebs. É produzido somente um ATP no nível dos substratos, sendo necessário que os hidrogênios e os elétrons retirados durante o ciclo sejam transportados para a cadeia respiratória para a produção de ATP (3 ATPs por cada par de hidrogênios transportado pelo NADH e 2 por cada FADH₂). Ao centro, a foto do cientista alemão que dá nome a esta importante via metabólica.

A acetil-CoA disponível na mitocôndria possui vários destinos metabólicos, além do Ciclo de Krebs. Dentre eles os principais são:

- 1) dar início à **síntese de ácidos graxos** pela ação da enzima **ácido graxo-sintase** (estimulada pela insulina);
- 2) duas moléculas podem condensar-se originando os **corpos cetônicos**;
- 3) pode ser incorporada, através de uma série de reações enzimáticas, em um núcleo ciclo-pentano-perhidro-fenantreno, indo sintetizar o colesterol.
- 4) pode ser requerida para a **síntese dos aminoácidos cetogênicos**.

As vias de síntese de colesterol e corpos cetônicos compartilham algumas enzimas e a “decisão” que qual via prosseguir dependendo da presença ou não de insulina, visto que a síntese de colesterol é estimulada por esse hormônio.

Todas essas vias alternativas da acetil-CoA, no entanto, não fazem parte da via glicolítica, mas uma espécie de desvio do ciclo de Krebs (ver capítulo 10 sobre metabolismo).

Cadeia Respiratória

Os 4 pares de hidrogênios (e seus elétrons) liberados no ciclo de Krebs são imediatamente transportado para a **cadeia respiratória** que é um processo gerador de ATPs onde o O₂ serve deceptor final dos hidrogênios (e elétrons) gerando uma molécula de H₂O por cada par de elétrons que são transportados pelo NADH e FADH₂, gerados não só do ciclo de Krebs, mas de qualquer outra reação metabólica celular.

A síntese de ATP resultante do transporte de elétrons, ocorre em virtude da energia livre liberada durante o fluxo de prótons que ocorre entre os complexos transportado-

res de elétrons e prótons que comunicam a matriz mitocondrial e o espaço intermembrana.

Quando o NAD^+ se reduz, formando NADH, nas reações de desidrogenação nas quais participa como co-fator enzimático dentro da matriz mitocondrial, há a passagem imediata dos elétrons, que retirou do substrato, para o complexo protéico denominado **Complexo da NADH-desidrogenase** ou **Complexo I**, que é composto por mais de 25 flavoproteínas fixas na matriz mitocondrial que comunicam a matriz com o espaço intermembrana.

Este complexo possui um NAD^+ e sete sítios contendo ferro e enxofre que funcionam como receptores de elétrons, reduzindo-se e oxidando-se quando há o fluxo eletrônico. O receptor final de elétrons, deste complexo, é a **ubiquinona** que converte-se em **ubiquinol** quando recebe os elétrons (se reduz).

Quando os elétrons atravessam o complexo I e são transferidos até a ubiquinona, há a um fluxo de um próton que atravessa a matriz em direção ao espaço intermembrana. Com esta passagem do próton, os elétrons são transportados para o **complexo III**, denominado, também de **Complexo dos Citocromos bc_1** ou **Ubiquinona-citocromo c oxidorreductase**.

A ubiquinona desloca-se do complexo I em direção ao complexo III, correspondendo a um transportador móvel. Este complexo contém os **citocromos b_{562} , b_{566} , c_1 e c** , ligados a uma proteína ferro-enxofre e cerca de outras seis proteínas. Todo este complexo III está fixado na crista mitocondrial e é transmembrana, conectando a matriz e o espaço intermembrana (com exceção do citocromo c que conecta-se apenas com o espaço intermembrana).

O receptor final de elétrons deste complexo é o citocromo c que se reduz e transfere os elétrons para o **complexo IV**, denominado de **Citocromo oxidase**. Nesta transferência, gera-se um fluxo de um próton da matriz para o espaço transmembrana (o segundo fluxo prótonico). O citocromo c , do complexo III, é um transportador móvel que leva os elétrons para o complexo IV.

O **complexo IV** contém os **citocromos a e a_3** que possuem um grupamento heme (com um átomo de ferro) e estão ligados a uma proteína transmembrana que conecta a matriz com o espaço intermembrana e possui dois átomos de cobre que possibilita o transporte de elétrons para o aceptor final, o **oxigênio (O_2)**.

Quando os elétrons atravessam este complexo IV, gera-se um terceiro fluxo de um próton da matriz para o espaço intermembrana, com os elétrons sendo transferidos para o oxigênio, que se reduz formando **água**. Os dois prótons necessários para formar a água são retirados da matriz mitocondrial, ficando a água na mitocôndria podendo atravessar para o citoplasma.

Observe que um único par de elétrons transportado seqüencialmente pelos complexos I, III e IV, geram o fluxo de três prótons para o espaço intermembrana, com a formação de uma molécula de água.

O **complexo II** ou **Complexo Succinato-ubiquinona**, é uma única enzima fixa na crista mitocondrial mas que não comunica a matriz com o espaço intermembrana. Esta enzima é a **succinato-desidrogenase** que participa da 6ª reação do Ciclo de Krebs.

Este complexo é formado um FAD^+ ligado a centros Ferro-enxofre. Ela transfere os elétrons provenientes do FADH_2 para a o complexo III, mas de maneira diferente como os elétrons do NADH são transportados para o complexo III. Em virtude de não ser uma proteína transmembrana, não gera o fluxo de prótons que o complexo I gera, fornecendo um sítio de fluxo de prótons a menos que os elétrons transportados pelo NADH.

Na Figura 9-10, observa-se a representação esquemática dos complexos I, II, III e IV e a relação dos prótons lançados para fora da mitocôndria e os pares de elétrons transportados. O fluxo de prótons gerado pela passagem dos elétrons pelos complexos I, III e IV (conhecidos, por isso, como **bomba de prótons**), fornece energia suficiente para a síntese de três ATPs, o que corresponde a uma relação de uma molécula de ATP para cada próton bombeado ou 3 moléculas de ATP para cada par de elétrons que passe pelos três complexos.

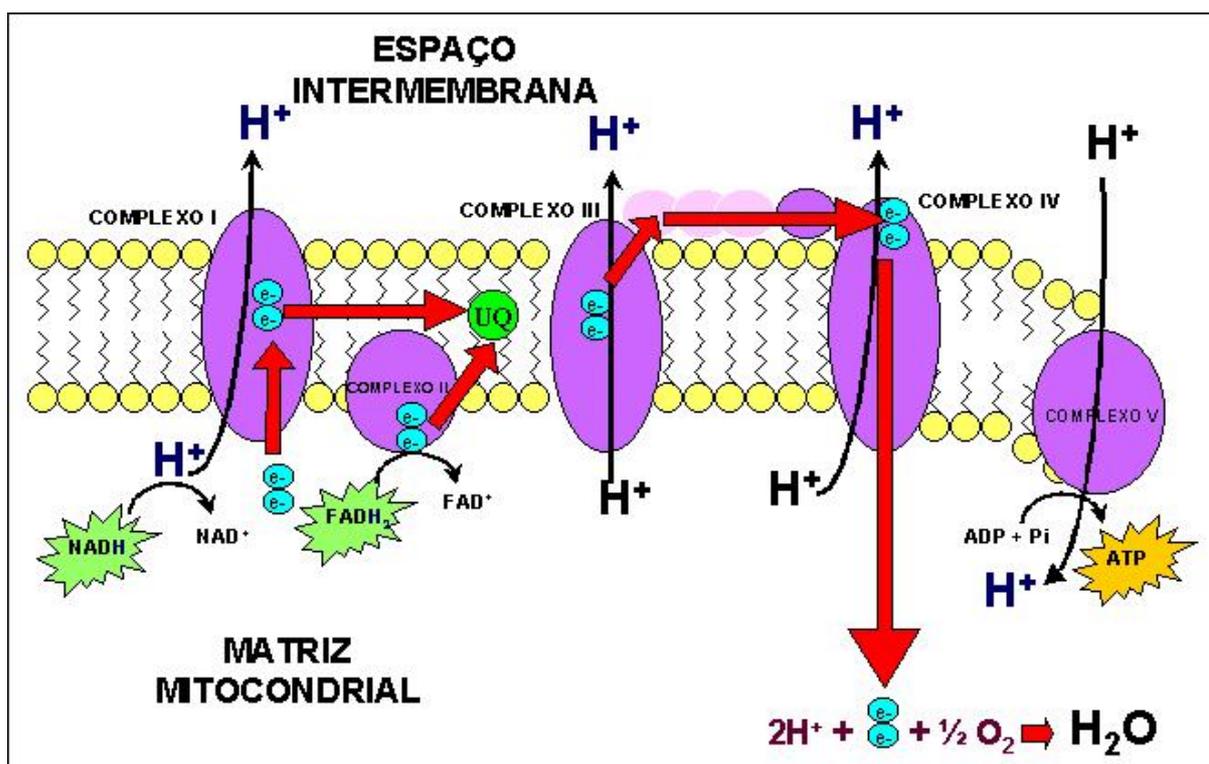
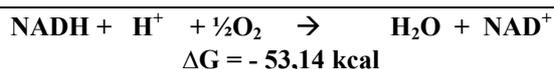


Figura 9-10 – A cadeia respiratória. Os elétrons transportados pelo NADH mitocondrial são doados para o complexo I que favorece a formação de três fluxos de prótons no sentido matriz→espaço intermembrana capazes de gerar, cada fluxo, um ATP com o bombeamento do próton no sentido inverso (espaço intermembrana→matriz). Os elétrons transportados pelo FADH₂ só geram dois fluxos de elétrons. A ubiquinona é um transportador móvel entre os complexos I e II para o complexo III, assim como o citocromo c é entre o complexo III e o IV.

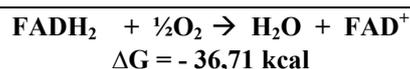
Observe a equação exergônica que demonstra a redução do O₂ a partir dos elétrons transportados pelo NADH, liberando 53,14 kcal de energia.



A energia necessária para a síntese de uma molécula de ATP, *in vivo*, corresponde a 12,51kcal, muito maior que a energia livre padrão de 7,3 kcal necessárias para a síntese de ATP a partir de ADP e Pi. Isto se dá porque as concentrações dos substratos na célula são diferentes do valor de 1M que são utilizados no cálculo, além do que a temperatura intracelular é diferente de 25°C, o pH nem sempre é 7,0 nem a pressão é 1 ATM constantemente (condições padrões de temperatura, pressão e pH).

Desta forma a energia liberada é suficiente para a síntese de até quatro ATPs (53,14 ÷ 12,51 = 4,25) por par de elétrons transportados pelo NADH.

Da mesma forma, a redução do O₂, a partir do par de elétrons transportados pelo FADH₂, libera energia livre na ordem de 36,71 kcal:



O que corresponde a energia suficiente para a síntese de quase três ATPs (36,7÷12,51 = 2,93). Como visto pela estequiometria das reações exergônicas acima descritas, energia livre não é problema para a síntese de ATP na mitocôndria. Entretanto, em estudos experimentais observou-se que há uma proporção de **3 moles de ATPs formados por cada mol de NADH oxidado** (e mol de O₂ reduzido em H₂O, por conseguinte), da mesma forma que **2 moles de ATPs são formados para cada mol de FADH₂ oxidado**.

A **teoria quimiosmótica** que justifica esta proporção, postulada por Peter Mitchell, ainda na década de 60 admite que os prótons bombeados para o espaço intermembrana,

durante o fluxo de elétrons na cadeia respiratória, criam um gradiente de baixo pH (devido à alta concentração de H^+) e carga elétrica positiva no espaço intermembrana. A partir dessas diferenças de gradientes há movimentação de uma outra bomba de prótons, agora no sentido do espaço intermembrana para a matriz mitocondrial, através de um complexo protéico denominado **complexo V** que corresponde à enzima **ATP sintase**.

Esta enzima possui é semelhante a uma maçaneta tanto na forma quanto no movimento rotatório que realiza quando há o fluxo de próton do espaço intermembrana para a matriz mitocondrial. A porção correspondente à cabeça da maçaneta está voltada para a matriz mitocondrial e corresponde à subunidade F1 que contém os sítios de ligação do ADP e Pi para a formação do ATP.

Quando os prótons são jogados para o lado de fora da matriz mitocondrial, há a formação de um potencial eletroquímico positivo externo que favorece a passagem dos prótons de volta para a matriz **por dentro** do complexo V. Nesta passagem há a liberação de calor suficiente para a união do Pi com o ADP para formar o ATP.

Assim sendo, como cada par de elétron transportado pelo NADH produz um fluxo de 3 prótons para fora da mitocôndria, a entrada desses próton pelo complexo IV favorece a síntese de 3 ATPs, bem como os elétrons transportados pelo $FADH_2$ produzem apenas 2 fluxos de prótons para fora da mitocôndria e, portanto, somente 2 ATPs são produzidos.

Desta forma, a cadeia respiratória corresponde a um passo fundamental e decisivo no processo de formação de energia química armazenada no ATP, uma vez que há uma grande produção de NADH e $FADH_2$ nos processos exergônicos da célula.

Um fato importante, entretanto, é que essa relação de 3 ATPs produzidos por cada NADH só é 100% verdadeira quando se trata de NADH produzido dentro da mitocôndria e que transfere seus elétrons para o complexo I.

Alguns NADH produzidos no citoplasma não entram na mitocôndria e tem que “entregar” seus elétrons para uma lançadeira

na membrana interna para poder entrar na cadeia respiratória.

Quando a lançadeira é o **glicerol-3-Pi-desidrogenase**, uma proteína superficial da membrana interna em contato somente com o espaço intermembrana, há a transferência dos elétrons direto par complexo III, via ubiquinona, de forma semelhante aos elétrons transportados pelo $FADH_2$.

Desta maneira, quando há o transporte de elétrons do NADH citoplasmático via esta lançadeira, cada NADH produz somente 2 ATPs. Porém, a maioria das vezes, o NADH citoplasmático transfere seus elétrons diretamente para o complexo I e a produção energética é idêntica ao NADH mitocondrial.

β -Oxidação dos ácidos graxos

Os triglicerídeos são a principal forma de obtenção dos lipídios na alimentação, tanto de origem animal quanto vegetal. Os três ácidos graxos presentes na molécula são os substratos para uma via metabólica de extrema importância quando a glicose não consegue satisfazer as necessidades energéticas ou quando o organismo está sobre intensa carência energética por exercício físico intenso.

A degradação de ácidos graxos é estimulada pelo glucagon, epinefrina e cortisol que promovem a mobilização dos triglicerídeos do tecido adiposo, ativando uma **lipase** intracelular sensível a esses hormônios que libera os ácidos graxos para o sangue onde são transportados para todas as células ligados à albumina.

Uma vez na célula, os ácidos graxos vão ser oxidados na mitocôndria liberando tantas moléculas de acetil-CoA quanto forem o número de carbonos na ordem de uma molécula de acetil-CoA para cada dois carbonos do ácido graxo.

Como o ácido graxo mais simples sintetizado pelos animais contém 16 carbonos, 8 moléculas de acetil-CoA no mínimo são liberadas por cada molécula de ácido graxo oxidada. Portanto, oxidar ácido graxo sempre vai levar a um excesso de acetil-CoA que não pode ser convertida novamente em ácidos graxos nem colesterol, uma vez que no mo-

mento metabólico não existe insulina para estimular essa via.

A via restante é a da síntese de corpos cetônicos que, apesar de possuírem função energética, podem trazer efeitos indesejáveis para o organismo (ver Capítulo 10 sobre Metabolismo).

A β -oxidação ocorre em cinco reações próprias, sendo uma primeira citoplasmática e as demais intramitocondriais.

- 1. INÍCIO: ativação do ácido graxo:** a CoA é adicionada à molécula do ácido graxo formando o ácido graxo ativado ou **acil-CoA** (p.ex.: o ácido palmítico forma o palmitoli-CoA). Esta reação é catalizada pela enzima **acil-CoA sintase** que utiliza duas ligações fosfato de uma única molécula de ATP, gerando AMP + PPi. Na mitocôndria, a acil-CoA penetra com o auxílio de um composto transportador chamado **carnitina**.
- 2. Desidrogenação da Acil-CoA:** catalisada pela enzima **acil-CoA desidrogenase**, utiliza o FADH₂ como transportador dos dois elétrons e dois H⁺ liberados, formando o **enoil-CoA**.
- 3. Hidratação do enoil-CoA:** sob a ação da enzima **enoil-CoA hidratase**, forma o **3-OH-acil-CoA**.
- 4. Desidrogenação do 3-OH-acil-CoA:** a enzima **3-OH-acil-CoA desidrogenase** utiliza o NADH como transportador de dois elétrons e um H⁺ retirados do substrato, formando o **3-ceto-acil-CoA**.
- 5. TÉRMINO: clivagem (quebra) do 3-ceto-acil-CoA:** há a quebra da molécula gerando uma molécula de **acetil-CoA** e o restante do ácido graxo original, agora com dois carbonos a menos, que novamente liga-se a outra molécula de CoA gerando um novo acil-CoA. O ciclo recomeça até a formação da última molécula de acetil-CoA.

A β -oxidação é uma via extremamente eficaz na produção de energia, já que as moléculas de acetil-CoA, NADH e FADH₂ for-

mas já se encontram na mitocôndria e podem seguir para o ciclo de Krebs e cadeia respiratória, rapidamente.

Porém, o excesso da acetil-CoA formado vai obrigar à sua saída para o citoplasma para iniciar a síntese de ácidos corpos cetônicos (ver capítulo 9 sobre Metabolismo).

Os ácidos graxos podem, ainda, ser metabolizados através da α -oxidação, um processo que produz menos energia que a β -oxidação pois fornece apenas 1 NADH por cada carbono oxidado, não produzindo nenhuma acetil-CoA.

Só são α -oxidados ácidos graxos de 13 a 18 carbonos. Geralmente este processo não é completo e gera ácidos graxos de número ímpar.

A maioria dos ácidos graxos possuem número par de carbonos. Entretanto os ácidos graxos de número ímpar quando β -oxidados e formam uma molécula de **propioil-CoA (3C)**.

Os ácidos graxos insaturados produzem um FADH₂ a menos por cada dupla ligação, em relação ao ácido graxo saturado de mesmo número de carbonos.

A ômega-oxidação é uma via muito menos freqüente realizada por **hidroxilases** envolvendo o citocromo P450 do retículo endoplasmático das células animais, não sendo um processo formador de energia, pois gera metabólitos excretados pela urina (ácido adípico e subérico).

Balanco energético do metabolismo da acetil-CoA

Cada reação metabólica de desidrogenação cujos transportadores de elétrons forem o NADH e o FADH₂, correspondem a processos extremamente exergônicos e que favorecem a síntese de ATP na cadeia respiratória. Dentro deste quadro, o **Ciclo de Krebs**, que fornece 3 NADH e 1 FADH₂ para a cadeia respiratória produz, indiretamente, 11 ATPs. Como gera, também, 1 ATP no nível dos substratos (5ª reação), há a formação de 12 ATPs por cada molécula de acetil-CoA que entra no ciclo (Tabela 9-3).

Tabela 9-3 - Saldo energético do ciclo de Krebs e cadeia respiratória a partir de um acetil-CoA.

Ciclo de Krebs	Cadeia Respiratória	TOTAL
3 NADH	x 3 ATPs	9 ATPs
1 FADH ₂	x 2 ATPs	2 ATPs
1 ATP (no nível dos substratos)	-	1 ATP
TOTAL	-	12 ATPs

Como cada molécula de glicose, quando degradada na via glicolítica aeróbica, fornece 2 acetil-CoA e NADH, além de produzir 4 ATPs no citoplasma (gastando 2 no início do processo - ver capítulo 5: Carboidratos), pode-se concluir que o saldo energético total do metabolismo aeróbico de uma molécula de glicose é de 38 ATPs (Tabela 9-4).

Este valor pode descer a 36 ATPs se considerarmos que o NADH citoplasmático produzido na glicólise pode utilizar a lançadeira glicerol-3-Pi-desidrogenase, como visto anteriormente.

Na **β-oxidação dos ácidos graxos**, há a produção de tantas acetil-CoA quantos forem o número de carbonos, além de 1 FADH₂ e 1 NADH para cada vez que as enzimas mitocondriais agem sobre o ácido graxo (o número de NADH e FADH₂ é sempre um a menos que o número total de acetil-CoA - ver capítulo 6: Lipídios).

Desta forma, um ácido graxo de 20 carbonos possui o balanço energético bruto de 165 ATPs, devendo-se descontar desse total a energia correspondente a 2 ATPs gasta no início do processo (Tabela 9-5). **Tabela 9-5** - Balanço energético bruto da β-oxidação de um ácido graxo saturado de 20C.

	Ácido graxo de 20C	ATPs		TOTAL
		Ciclo de Krebs	Cadeia Respiratória	
Nº de moléculas de acetil-CoA	10	12		120
Nº de NADH	9	-	3	27
Nº de FADH ₂	9	-	2	18
TOTAL	-	-	-	165

Nos vegetais e algumas bactérias, a acetil-CoA pode ser metabolizada por uma via alternativa do Ciclo de Krebs chamada **Via do glioxalato** que consome 2 moléculas de *acetil-CoA* formando uma molécula de **succinato** que é convertido em **fosfoenolpiruvato**, que pode ser, finalmente, metabolizada pelas enzimas da glicólise.

O ciclo do Glioxalato é muito ativo nas sementes em germinação onde a acetil-CoA fornecida na β-oxidação dos ácidos graxos são convertidos em moléculas de glicose.

Os animais não realizam este ciclo, pois não possuem as enzimas **isocitrato-liase** e **malato-sintase** que são fundamentais para esta via metabólica.

Tabela 9-4 - Saldo energético total (glicólise + Ciclo de Krebs + cadeia respiratória) do metabolismo aeróbico da glicose.

	ATP no nível dos substratos	NADH	FADH ₂	ATPs gerados na cadeia respiratória	Quantidade total de ATPs
Glicólise (1a. fase)	- 2	-	-	-	- 2
Glicólise (2a. fase)	+ 4	2	-	6	10
Oxidação de Piruvato	-	2	-	6	6
Ciclo de Krebs	+ 2	6	2	22	24
TOTAL	+ 4	10-	2	34	38

Capítulo 10

Metabolismo

Uma das principais funções da bioquímica é estudar o metabolismo celular, ou seja, a maneira como a célula sintetiza e degrada biomoléculas dentro de um processo coordenado para garantir sua sobrevivência com o máximo de economia energética.

O anabolismo (síntese das biomoléculas) é sempre um processo que necessita de energia para que ocorra. Isto é típico de situações onde o estado energético celular está com **excesso** de substratos para a síntese e, portanto, há bastante energia disponível no meio celular.

De maneira inversa, o catabolismo irá liberar energia quando as biomoléculas forem degradadas. Isto acontecerá sempre quando houver necessidade energética e as moléculas degradadas funcionarão como os substratos para a liberação de energia que o meio celular necessita.

As leis da termodinâmica estão intimamente relacionadas com este processo biológico, pois os princípios universais de manutenção das massas e da energia durante as reações bioquímicas são mantidos e garantem que a célula seja um perfeito “tubo de ensaio” para as reações bioenergéticas. Anabolismo e catabolismo correspondem a processos antagônicos, mas que ocorrem de maneira articulada permitindo a maximização da energia disponível dentro da célula. Dentro desse ponto de vista, cada molécula degradada libera energia para o meio que será utilizada por alguma reação de síntese num acoplamento perfeito das reações endergônicas e exergônicas.

As biomoléculas energéticas são os **carboidratos**, **lipídios** e **proteínas** que são obtidas em grandes quantidades durante a alimentação ou são mobilizadas das reservas orgânicas quando são ingeridas em quantidade insuficiente na alimentação ou quando o consumo energético aumenta grandemente (p.ex.: durante a realização de exercícios fisi-

cos). A forma final de absorção da energia contida nessas moléculas se dá na forma de ligações de alta energia do ATP o qual é sintetizado nas mitocôndrias por processos oxidativos que utilizam diretamente o O₂. Desta forma, é essencial a presença de mitocôndrias e de oxigênio celular para o aproveitamento energético completo das biomoléculas. Quando não há mitocôndrias (p.ex.: nas hemácias) ou quando a quantidade de O₂ disponível é insuficiente (p.ex.: em células musculares submetidas a extremo esforço físico), o metabolismo anaeróbico ocorre. Entretanto, enquanto o metabolismo aeróbico é comum a todas as biomoléculas energéticas, o metabolismo anaeróbico é exclusividade dos carboidratos, onde o produto final **lactato** pode ser reciclado e gerar novas moléculas de glicose (através da **neoglicogênese**), num processo que necessita de mitocôndrias. Não só o lactato é convertido em glicose por esta via, mas várias outras moléculas como aminoácidos e o glicerol.

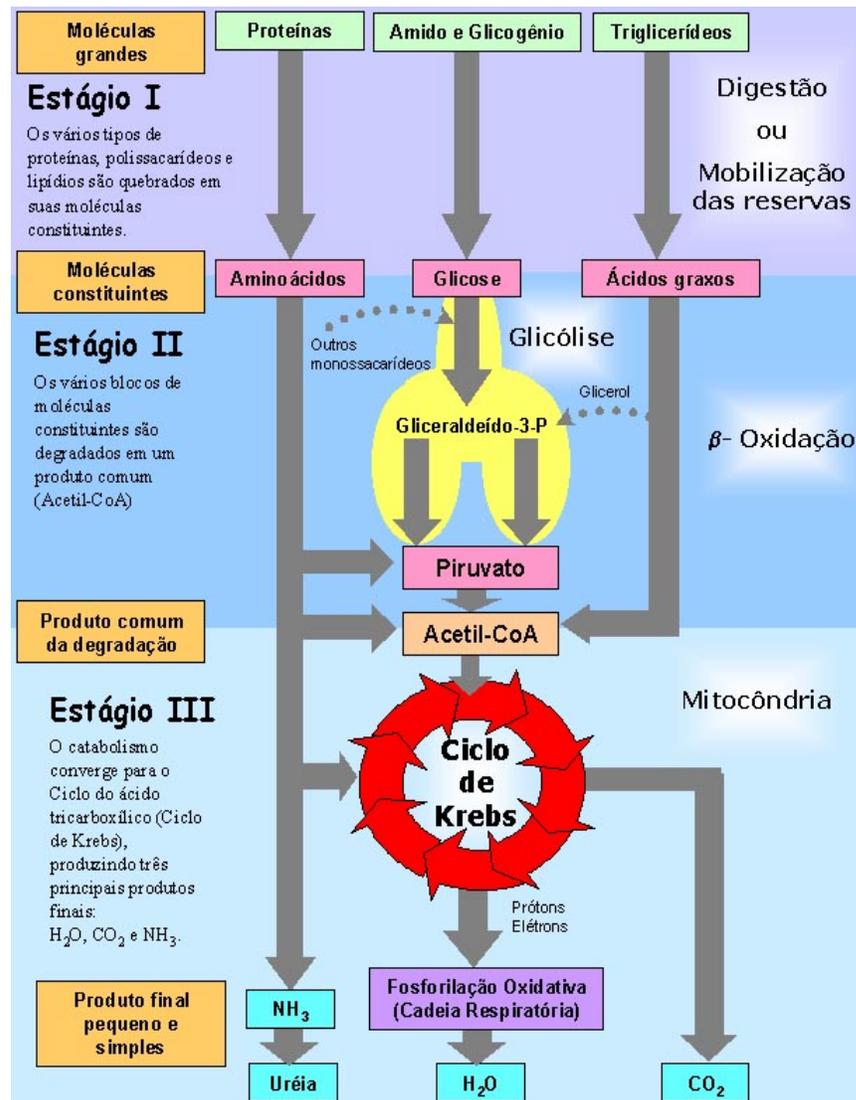
Algumas vias metabólicas são exclusivas de algumas biomoléculas, como é o caso da **síntese de glicogênio** a partir de glicose e da **síntese de uréia** no fígado, a partir do grupamento amino dos aminoácidos. Alguns processos, entretanto são comuns a todas as biomoléculas, como é o caso da neoglicogênese que utiliza como substrato o lactato proveniente do metabolismo da glicose, o glicerol proveniente dos ácidos graxos e vários aminoácidos.

Nas hemácias, em particular, uma via metabólica não mitocondrial (a **via da pentose-fosfato**) produz grandes quantidades de NADPH que possui função antioxidante e constitui importante rota metabólica nesta célula, apesar de também ocorrer em tecidos onde a síntese biológica é alta (p.ex.: nos hepatócitos).

O metabolismo é dividido, didaticamente, em três estágios distintos onde a produção de energia será disponibilizada a partir

de substratos específicos (Figura 10-1). Num primeiro estágio, as biomoléculas grandes são degradadas em suas moléculas constituintes em um processo que corresponde à **digestão**, quando há alimentos disponíveis. Dentro de um ponto de vista de necessidade energética, esses substratos serão mobilizados das reservas biológicas. Esta primeira fase promove a formação de 20 **aminoácidos** a partir da degradação protéica, **ácidos graxos** e **glicerol** a partir dos triglicerídeos e **glicose** a partir do amido alimentar ou do glicogênio muscular e hepático.

Numa segunda fase, essas moléculas simples são degradadas em vias metabólicas específicas onde o produto final principal é a molécula de **acetil-CoA** que é formada dentro das mitocôndrias. As maneiras como a acetil-CoA é formada são muito variadas. De uma forma geral, a **glicólise** forma piruvato a partir da glicose no citoplasma que é convertido em acetil-CoA na mitocôndria (ver capítulo 9 sobre Bioenergética).



(Adaptado de Garrett, R.H. & Grisham, C.M. *Biochemistry*. Saunders College Publishing, USA, 1995, p. 555)

Figura 10-1 – As três fases do metabolismo.

Somente sete aminoácidos geram direito acetil-CoA com os demais gerando intermediários da neoglicogênese. Os ácidos graxos geram acetil-CoA através da **beta-oxidação**, um processo intramitocondrial, mas que se inicia no citoplasma com a ativação dos ácidos graxos.

Esta segunda fase do metabolismo possui uma diversidade muito grande de vias metabólicas próprias de cada biomolécula, porém o produto final comum, a acetil-CoA, faz com que seja necessário perfeita integração para o início da próxima fase mitocondrial.

A terceira e última fase do metabolismo ocorre somente em condições de aerobiose e no interior das mitocôndrias. A acetil-CoA é a molécula que inicia esta fase com o **ciclo de Krebs** a etapa crucial onde a formação de citrato desencadeia o processo que levará a formação de alto potencial redutor verificado na formação de moléculas de NADH e FADH₂, além de ATP formados na matriz mitocondrial.

Associado a este ciclo, uma cadeia de transporte dos elétrons retirados dos substratos pelos NADH e FADH₂, presente na crista da mitocôndria, permite a síntese de ATP em grande escala a partir da oxidação do O₂ proveniente da respiração que se combina com os H⁺ mitocondrial e os elétrons liberados, formando H₂O. Este processo é extremamente eficaz e a concentração de acetil-CoA mitocondrial é fundamental para o sucesso deste processo.

Um excesso de acetil-CoA leva ao desvio da síntese de ATP e síntese de **ácidos graxos, colesterol e corpos cetônicos**. Este desvio do metabolismo energético é muito comum e é uma forma eficaz de impedir o excesso do metabolismo oxidativo mitocondrial com a superprodução de ATP. Apesar da síntese desses compostos ser citoplasmática, é o excesso de acetil-CoA mitocondrial que inicia esta síntese, em um processo ordenado e extremamente eficaz, típico de quando há excesso de substratos energéticos provenientes da alimentação ou da degradação dos ácidos graxos provenientes dos adipócitos. Como vemos, são dois processos de origem diferente, mas fornecem excesso de acetil-CoA.

Muitas doenças metabólicas instalam-se netas vias, principalmente quando há excesso ou falta dos percussores metabólicos o que torna fundamental a compreensão do funcionamento dessas vias metabólicas para poder entender a gênese dessas doenças (p.ex.: diabetes mellitus, aterosclerose coronária, gota etc.).

A seguir, serão detalhadas as principais vias metabólicas envolvidas no metabolismo energético celular, que, apesar de serem apresentadas isoladamente, devem ser estudadas de maneira integrada, pois ocorrem dentro de uma entidade dinâmica e programada para sobreviver, a célula. No capítulo 9 sobre bioenergética, foram apresentados os principais processos energéticos celulares comum a todas as células enquanto que neste capítulo serão apresentados as vias metabólicas próprias de cada biomolécula.

Metabolismo dos Carboidratos

Após a absorção dos carboidratos nos intestinos, a veia porta hepática fornece ao fígado uma quantidade enorme de glicose que é impossível ser totalmente degradada no metabolismo energético por extrapolar a capacidade de suporte calórico da hepatócito.

Já no fígado, o excesso de glicose tem vários destinos metabólicos, que serão os mesmos na maioria das células extra-hepáticas, porém possuem, sem dúvida nenhuma, maior importância para o hepatócito em virtude de receber o primeiro suprimento de glicose. As rotas metabólicas da glicose, além da produção de ATP, são:

- 1) síntese de glicogênio;
- 2) síntese de pentoses e redutores citoplasmáticos (NADPH);
- 3) síntese de ácidos graxos (e em seguida triglicerídeos), que são enviados para os adipócitos através de lipoproteínas sintetizadas no fígado;
- 4) síntese de colesterol (que pode ser excretado na bile como sais biliares ou transportado para as células extra-hepáticas através das mesmas lipoproteínas que os triglicerídeos);

- 5) síntese de corpos cetônicos (que possuem função energética para os tecidos extra-hepáticos, principalmente os neurônios e músculos).

O fígado é a única célula que pode liberar glicose da célula para o sangue, fato indispensável para suprir as necessidades energéticas de todas as células do organismo. Essa liberação só é possível graças à enzima **glicose-6-fosfatase**, que reverte a primeira reação da glicólise (a formação de glicose-6-fosfato, ver capítulo 9). As demais células, por não possuírem esta enzima, consomem integralmente a glicose baixando a glicemia, já que absorvem glicose do sangue mas não são capazes de liberá-la para o meio extracelular. Além dos hepatócitos, algumas células justaglomerulares (renais) possuem pequena atividade de glicose-6-fosfatase, mas não exercem papel significativo na manutenção da glicemia.

Apesar da grande quantidade de glicose liberada para o sangue pelo hepatócito, as concentrações normais de glicose plasmática (glicemia) não sofrem grande variação além de 70 - 110 mg/dl, devido à regulação hormonal pelos hormônios pancreáticos **insulina** e **glucagon**.

É importantíssima a manutenção dos níveis de glicemia dentro dessa faixa estreita, pois uma **hiperglicemia** contínua torna o sangue muito concentrado alterando os mecanismos osmóticos de reabsorção de água nos túbulos renais, induzindo a uma **diurese** excessiva que pode levar à desidratação e uma série de alterações patológicas específicas típicas de uma doença metabólica muito comum, a **diabetes mellitus** onde a falha no mecanismo de absorção celular leva a uma hiperglicemia crônica (ver capítulo 15 sobre Diabetes Mellitus).

A insulina e o glucagon não são os únicos hormônios que possuem ação regulatória sobre a glicemia plasmática. Vários outros hormônios (p.ex.: hormônios sexuais, glicocorticóides, tireoidianos, GH etc.) também têm ação metabólica, porém possuem uma função energética secundária, sendo produzidos a partir de estímulos outros que não a hiperglicemia ou hipoglicemia, como é o caso da insulina e do glucagon. Outros hormônios

dois pancreáticos, a **somatostatina pancreática** e a **amilina**, também são identificados como possuidores de função reguladora da glicemia.

1. Insulina

A insulina é um polipeptídeo (PM = 5.700d) formado por duas cadeias de aminoácidos (a cadeia A com 21 e a cadeia B com 31), unidas entre si por duas pontes dissulfeto de cistina e uma ponte dissulfeto interna na cadeia A (Figura 10-2). Promovendo a união entre as duas cadeias, existe o peptídeo de ligação com 36 aminoácidos (**peptídeo C**) que é responsável pelo alinhamento da molécula favorecendo a formação das pontes dissulfeto fundamentais pela estabilidade da molécula. As cadeias A e B da insulina, quando ligadas ao peptídeo C, no conjunto, são denominados de **pró-insulina** que possui baixa atividade metabólica (cerca de 5 a 10% da atividade da insulina).

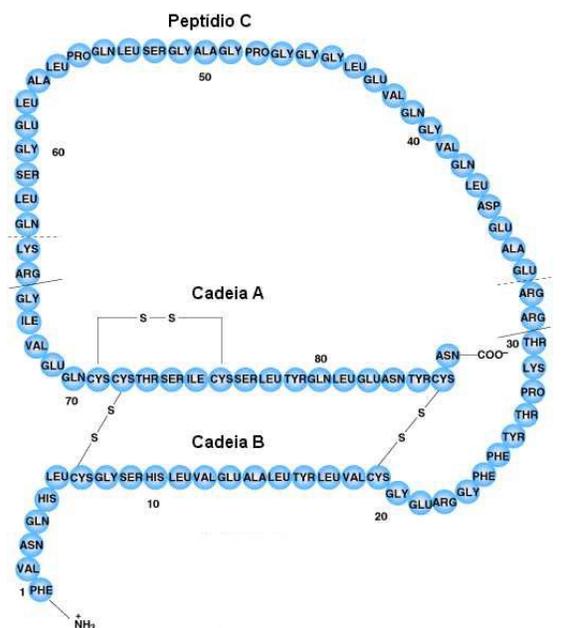


Figura 10-2 - A estrutura secundária da pró-insulina. Na forma de pró-hormônio, é composto por três cadeias polipeptídicas distintas (A, B e C) onde o peptídeo C é o conector entre as demais cadeias e é separado da molécula por hidrólise durante a secreção pancreática. (Adaptado de DEVLIN, 2000)

A insulina é produzida nas células β das ilhotas de Langerhans e é armazenada em vesículas do Aparelho e Golgi. Quando a concentração de glicose sanguínea atinge ní-

veis acima de 110 mg/dl, há um excesso do metabolismo oxidativo mitocondrial nas células beta o que determina a liberação de insulina para a circulação sanguínea a partir de um mecanismo complexo (Figura 10-3). Sabe-se que esse excesso do metabolismo mitocondrial nas células beta é devido a pouca atividade das vias de desvio do metabolismo energético comuns nas demais células (síntese de glicôgeno, lipídios e corpos cetônicos) o que acarreta uma grande produção de ATP mitocondrial, fato que desencadeia a liberação de insulina para o sangue.

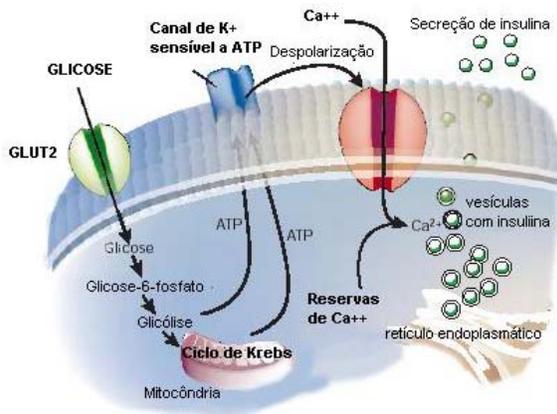


Figura 10-3 - A regulação da síntese e secreção de insulina está relacionada ao aumento da atividade oxidativa mitocondrial devido à hiperglicemia, uma vez que as vias naturais de desvios do metabolismo energético possuem baixa atividade nas células beta do pâncreas. O ATP gerado abre canais de K^+ que despolariza a membrana levando à entrada de Ca^{++} que, juntamente com o Ca^{++} disponível nas reservas intracelulares estimula a secreção da insulina produzida no retículo endoplasmático

O estresse oxidativo indicado pelo aumento da produção de ATP pode levar a produção de produtos indesejados para a célula (p.ex.: radicais livre), que pode destruir a células beta.

Uma vez na corrente sanguínea, a insulina possui três efeitos principais: 1) estimula as células a captar a glicose; 2) estimula os músculos e fígado a armazenar glicose na forma de glicôgeno; e 3) estimula a síntese de ácidos graxos e aminoácidos.

A forma como a insulina exerce essas funções na célula depende da interação com receptores específicos que desencadeiam reações intracelulares específicas. Após a libera-

ção da insulina para a corrente sanguínea, ela liga-se a um receptor específico nas membranas celulares das células alvo. O receptor para insulina é uma glicoproteína com duas subunidades α e β (Figura 10-4). Após a ligação da insulina com a subunidade α , o complexo insulina-receptor estimula um sistema específico envolvendo a fosforilação de tirosina na subunidade β , o que ativa o sistema de segundo mensageiro responsável pelas ações fisiológicas celulares.

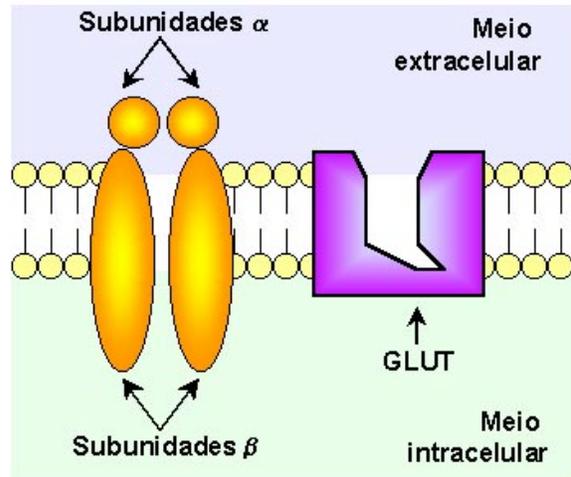


Figura 10-4 - O receptor de insulina possui duas subunidades α que fica no domínio extracelular e liga-se com a insulina. As duas subunidades β situam-se na porção citoplasmática e possuem atividade catalítica citoplasmática. Para a entrada de glicose na célula, há a necessidade da integração de um transportador de glicose (GLUT), específico para cada tipo de tecido.

O GLUT4 está presente na maioria das células do organismo, o que torna a presença de insulina indispensável para a entrada de glicose na célula. Entretanto, células importantes como as células beta-pancreáticas, os enterócitos, as hemácias, o hepatócito e os neurônios possuem outros tipos de GLUT que não dependem de insulina, o que significa que, para essas células, não necessitam da ativação inicial de um receptor para insulina para que a glicose penetre na célula.

O GLUT4 modifica sua conformação espacial quando há a ligação da insulina com o receptor, permitindo a entrada de glicose na célula. Entretanto, esta entrada não é contínua, devido a um processo de endocitose do GLUT4 que torna indisponível a entrada de novas moléculas de glicose até que haja a

regeneração do GLUT4. Este processo regula a entrada de glicose na célula, possibilitando que todas as células tenham um aporte de glicose suficiente, não havendo um consumo exagerado por parte de nenhum tecido (Figura 10-5).

Tabela 10-1 - Transportadores de glicose (GLUT).

Tipo	Localização	Insulino-dependente
GLUT1	hemácias	NÃO
GLUT2	hepatócito células beta	NÃO
GLUT3	neurônios hemácias	NÃO
GLUT4	músculos adipócitos a maioria das células	SIM
GLUT5	enterócito	NÃO
GLUT7	retículo endoplasmático dos hepatócitos	NÃO

A insulina só é liberada pelo pâncreas quando há hiperglicemia, o que faz com que as células tenham uma quantidade garantida de glicose suficiente para o metabolismo energético.

Para a entrada de glicose nas células, há a necessidade de um transportador de glicose (GLUT, do inglês *Glucose Transporter*) que está acoplado ao receptor de insulina e modifica sua conformação espacial permitindo a entrada de glicose na célula. Há vários tipos de GLUT denominados GLUT1, 2, 3, 4, 5 e 7, sendo que somente o GLUT4 são insulino-dependentes (Tabela 10-1). Os demais tipos de GLUT permitem a entrada de glicose na célula independente da existência de receptor para insulina.

As células que além do GLUT4 possuem os demais tipos de GLUT, entretanto, não dependem da hiperglicemia para que absorvam glicose uma vez que esses transportadores não dependem da insulina. É o caso do enterócito que possui o GLUT5 e consegue absorver ativamente a glicose liberada na digestão e transportá-la para a veia porta hepática. Os hepatócitos, que além do GLUT4 possui os GLUT 2 e 7, absorvem toda a glicose

vinda da digestão independente da existência de insulina plasmática.

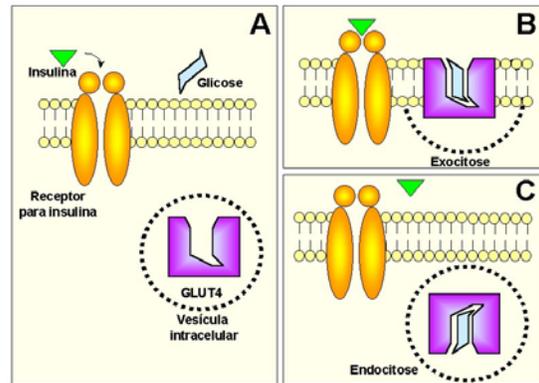


Figura 10-5 - A entrada de glicose na maioria das células é mediada pela interação da insulina, seu receptor e o GLUT4. A) o GLUT4 permanece em vesículas citoplasmáticas enquanto a insulina não se liga ao receptor. B) a interação insulina/receptor promove a exocitose do GLUT4 e sua ligação com a glicose extracelular. C) a retirada de insulina induz a endocitose do complexo GLUT4/glicose.

As hemácias possuem os GLUT1 e 3, o que permite a absorção direta de glicose. Os neurônios também são insulino-independentes uma vez que possuem no GLUT3 um importante transportador de glicose. As próprias células beta-pancreáticas possuem o GLUT2 como transportador de glicose o que as torna independente da insulina, fato que é crucial para que esta célula absorva glicose e possa liberar a insulina que será utilizada nas demais células.

2. Glucagon

É um polipeptídeo formado por uma cadeia única de 29 aminoácidos (PM = 3.500d), sintetizado pelas células alfa das ilhotas pancreáticas (Figura 10-6). Um peptídeo similar é produzido pelas células do trato gastrointestinal (principalmente pelo estômago), o que pode interferir nas dosagens deste hormônio.

O principal estímulo para sua secreção é a **hipoglicemia** e o aumento de ácidos graxos e aminoácidos livres no plasma (especialmente a alanina).

O glucagon possui ações contrárias às da insulina, principalmente no que diz respeito ao armazenamento energético, promovendo a degradação das reservas energéticas, aumentando a glicogenólise e a mobilização dos

ácidos graxos dos adipócitos. É um potente estimulador da neoglicogênese.

3. Somatostatina

A **somatostatina pancreática** é produzida pelas células delta das ilhotas, possuindo forte ação parácrina (em células adjacentes), inibindo a secreção de insulina e glucagon. Apresenta-se sob duas formas: uma cadeia peptídica única de 14 aminoácidos e outra com o dobro, possuindo vida média de cerca de 2 minutos (Figura 10-7).

A somatostatina atua, ainda, inibindo a secreção dos hormônios gastro-intestinais gastrina e secretina, diminui a motilidade gastro-intestinal, da vesícula biliar e do pâncreas exócrino.

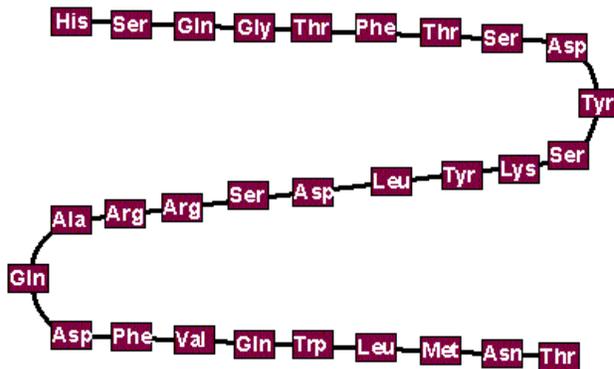


Figura 10-6 - Estrutura secundária do glucagon.

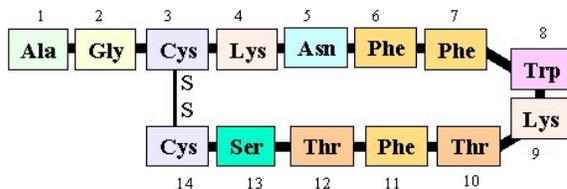


Figura 10-7 - Estrutura secundária da somatostatina pancreática de 14 aminoácidos.

4. Amilina

Este polipeptídeo pancreático foi identificado em células beta das ilhotas, possuindo 37 aminoácidos (Figura 10-8). Entre as funções observadas, destaca-se a estimulação da secreção do suco gástrico e pancreático, diminuindo, entretanto, a motilidade intestinal e da vesícula biliar, diminuindo o metabolismo absorptivo pós-prandial e, conseqüentemente, atrasando a absorção de carboidratos o que,

em pessoas normais, age como um regulador da glicemia.

Sua secreção é estimulada pela hiperglicemia (de maneira idêntica à insulina), desconhecendo-se, porém, o significado fisiológico de tais ações, supondo-se tratar de um resquício evolucionário.

Existem evidências que a deposição de amilina nas células beta pancreáticas leva a sua destruição progressiva, estando este fato associado a gênese da diabetes mellitus (ver capítulo 15 sobre Diabetes Mellitus).

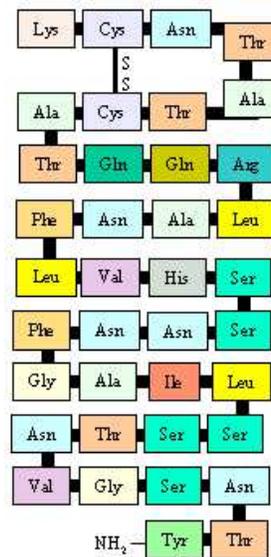


Figura 10-8 - Estrutura secundária da amilina.

5. Síntese do glicogênio

Ocorre, principalmente no fígado e nos músculos, apesar de a maioria das células possuírem as enzimas necessárias para esta síntese. Os músculos, em razão de sua grande massa, apresentam cerca de 4 vezes mais glicogênio do que o fígado (Tabela 10-2). O glicogênio é uma fonte imediata de glicose para as células (principalmente os músculos) quando há a diminuição da glicose sangüínea.

A síntese de glicogênio ocorre sempre em condições de excesso de glicose e corresponde a importante rota de desvio do metabolismo energético. Como toda reação anabólica, é extremamente endergônica e produz uma macromolécula solúvel que se deposita em grânulos solúveis no citoplasma.

Esta propriedade do glicogênio torna o excesso de sua síntese um perigo para a célula

la, já que por ser solúvel e depositar-se no citoplasma, leva ao aumento da concentração do citoplasma, tornando-o muito “viscoso” e diminuindo a atividade enzimática celular, o que pode levar, inclusive, à morte celular. Por isso, é fundamental que a célula possua um mecanismo de regulação da síntese de glicogênio bem coordenado para impedir os efeitos nocivos de um acúmulo de glicogênio.

A síntese de glicogênio é estimulada pela insulina, o que permite a rápida retirada de glicose plasmática e seu depósito quase que imediato como glicogênio. É obvio que a glicose que penetra na célula terá que seguir outras vias metabólicas, além da síntese de glicogênio, uma vez que não possuímos um órgão especializado para esse armazenamento, como é o caso dos vegetais que armazenam o amido nas raízes e sementes.

Tabela 10-2: Armazenamento de carboidratos em adultos normais (peso médio de 70 kg).

Carboidrato	Peso Relativo	Massa Total
Glicogênio Hepático	4,0%	72g ⁽¹⁾
Glicogênio Muscular	0,7%	245g ⁽²⁾
Glicose extracelular	0,1%	10g ⁽³⁾
TOTAL	4,8%	327g

⁽¹⁾ Peso do fígado: 1.800g;

⁽²⁾ Massa muscular: 35kg;

⁽³⁾ Volume total: 10 litros.

(Adaptado de MURRAY *et al.*, 2000, p.181).

Como visto anteriormente, a primeira reação do processo glicolítico é a formação de glicose-6-fosfato a partir da fosforilação da glicose. A síntese de glicogênio se inicia pela ação da enzima **fosfoglicomutase** que forma glicose-1-fosfato a partir da glicose-6-fosfato. Esta enzima é ativada pela insulina e a glicose-1-fosfato não pode seguir para as vias glicolíticas, o que faz desta via um importante desvio do metabolismo energético e é frequente, portanto, quando há um excesso de glicose como substrato energético.

A partir daí, há a incorporação de uma molécula de **uridina-tri-fosfato (UTP)** que proporciona a ligação entre o C1 de uma molécula com o C4 de outra (reação catalisada pela enzima **glicogênio sintase**), formando uma maltose inicial que logo será acrescida de

outras, formando um polímero $\alpha(1\rightarrow4)$. A união inicial da molécula de UDP com a glicose-1-fosfato forma a **UDP-glicose** (uridina-difosfato-glicose) pela retirada do Pi do C1 da glicose-1-fosfato e do UTP.

Uma primeira molécula de UDP-glicose é captada por uma proteína denominada **glicogenina** que se liga covalentemente à glicose e libera o UDP. Esta união glicose-glicogenina é indispensável para a ação da enzima glicogênio sintase que promove a adição de pelo menos mais sete moléculas de glicose, em ligações $\alpha(1\rightarrow4)$ sempre liberando o UDP.

A partir daí, há o crescimento da cadeia até cerca de 15 moléculas de glicose, a partir do qual, a **enzima ramificadora** (amido-1 \rightarrow 4,1 \rightarrow 6-transglucosidase) promove a retirada de um fragmento contendo cerca de 7 moléculas de glicose e o adiciona à molécula em uma cadeia paralela na oitava molécula de glicose em ligações do tipo $\alpha(1\rightarrow6)$. A glicogênio sintase volta a atuar acrescentando mais um fragmento de cerca de 15 moléculas de glicose para uma nova retirada de um fragmento de 7 moléculas pela enzima ramificadora.

Desta forma, estas duas enzimas trabalham coordenadamente possibilitando a formação de uma molécula de amido extremamente ramificada, o que garante sua alta solubilidade devido a estrutura tridimensional. A molécula de glicogenina permanece ligada covalentemente à molécula de glicogênio durante todo o processo.

O glicogênio fica disponível no fígado e músculos, sendo consumido totalmente dentro de um intervalo que varia de 12 a 24 horas após a última refeição, dependendo das necessidades energéticas.

A enzima **glicogênio sintase** é regulada por vários mecanismos, sendo que a ativação pela glicose-6-fosfato um dos mecanismos mais eficazes. Esta enzima existe em duas formas diferentes: forma inativa D (Dependente de glicose-6-fosfato, não fosforilada) e forma ativa I (Independente de glicose-6-fosfato, fosforilada). A forma inativa é ativada por fosforilação, em mecanismos envolvendo os segundos mensageiros AMPc, Ca⁺⁺ e diacilglicerol, estimulados por vários hor-

mônios. Um aumento da concentração de glicose-6-fosfato na célula leva a um aumento da forma D ativa da glicogênio sintase, o que estimula a síntese de glicogênio.

Para que haja uma grande quantidade de glicose-6-fosfato é preciso um alto grau de fosforilação mediado pela grande quantidade de glicose intracelular. A fosforilação é um fato celular importante para a ativação de várias vias metabólicas, além desta, e revela um estado de alta atividade metabólica e, portanto, uma situação de excesso de substratos energéticos. Um alto estágio de fosforilação pode ser obtido pela ação de hormônios, conforme discutido no capítulo 9 sobre bioenergética.

Um grupo especial de enzimas denominadas **fosfoproteínas fosfatases** são identificadas como enzimas reguladoras da síntese de glicogênio e atuam inativando a atividade da glicogênio sintase.

Naturalmente, as fosfoproteínas fosfatases ligam-se ao glicogênio e promovem a inativação da glicogênio sintase retirando seu fosfato e incorporando à sua molécula. Esta ligação das fosfoproteínas fosfatases com o glicogênio não permite a síntese de mais glicogênio e ocorre quando alguns hormônios, como o glucagon, promovem sua fosforilação. Note que, neste estado metabólico, a fosforilação das fosfoproteínas fosfatases é oposta a defosforilação da glicogênio sintase, logo promove sua inativação.

Entretanto, quando há hiperglicemia, uma grande quantidade de glicose está disponível para o metabolismo celular e há o aumento da quantidade de insulina plasmática. A fosfoproteína fosfatase ligada ao glicogênio é fosforilada por proteínas ativadas pela insulina, o que leva a retirada da fosfoproteína fosfatase da molécula de glicogênio. Esta retirada permite que a glicogênio sintase permaneça fosforilada e, portanto, ativa induzindo a síntese de glicogênio.

Nas Figura 10-9 e 10-10 estão resumidos os principais passos na regulação da síntese de glicogênio.

6. Glicogenólise

Quando há a necessidade de glicose para o metabolismo energético, o glicogênio é

movilizado a partir de uma seqüência de reações que não são o inverso da sua síntese, por uma via metabólica complexa que se inicia a partir de estímulos hormonais reflexos à hipoglicemia (glucagon) ou estímulos externos (adrenalina, glicocorticóides). Esses estímulos possuem como segundo mensageiro o AMP cíclico (AMPc), que é formado a partir do ATP sob ação da enzima adenilato-ciclase.

O AMPc converte a enzima **fosforilase-quinase-b** (inativa) em **fosforilase-quinase-a** (ativa), que por sua vez retira uma molécula de glicose do glicogênio, na forma de glicose-1-fosfato, liberando-a para o metabolismo em uma reação que utiliza a mesma enzima que inicia a síntese de glicogênio, a fosfoglicomutase, formando glicose-6-fosfato.



Figura 10-9 – A síntese do glicogênio. 1) a enzima *fosfoglicomutase* é convertida glicose-6-fosfato em glicose-1-fosfato; 2) a formação de UDP-glicose inicia a síntese de glicogênio; 3) a enzima *glicogênio sintase* torna-se ativa por estímulo da insulina iniciando a extensão da cadeia de glicogênio a partir da ligação covalente de uma molécula de glicose com a proteína *glicogenina*; 4) a molécula de glicogênio cresce até cerca de 15 fragmentos de glicose em ligações do tipo $\alpha(1\rightarrow4)$; 5) a *enzima ramificadora* promove a quebra de um fragmento com cerca de 7 moléculas de glicose e a acrescenta em uma cadeia paralela em ligações do tipo $\alpha(1\rightarrow6)$; 6) a molécula final de glicogênio contém cerca de 40.000 moléculas de glicose.

A ativação desta enzima, que tem como co-fator a vitamina B6, gera glicose-1-fosfato através da quebra das ligações $\alpha(1\rightarrow4)$. As ligações $\alpha(1\rightarrow6)$ dos pontos de

ramificação são quebradas pela **enzima de desramificação**, denominada $\alpha(1\rightarrow6)$ - $\alpha(1\rightarrow4)$ glicanotransferase.

No fígado, a existência da enzima **glicose-6-fosfatase** permite a conversão da glicose-6-fosfato em glicose livre que sai para o sangue e eleva a glicemia. Nas demais células, principalmente nos músculos, a glicose-6-fosfato não pode ser convertida em glicose livre e, portanto, segue para o metabolismo energético.

O aumento da glicemia faz com que cesse os estímulos do glucagon inibindo a glicogenólise. O AMPc que é produzido pela ação do glucagon, epinefrina e cortisol (estimulantes da glicogenólise) é degradado pela enzima **fosfodiesterase**. A insulina aumenta a atividade desta enzima, levando, portanto, ao bloqueio da glicogenólise.

A seqüência de reações da glicogenólise, mediada pela inibição da glicogênio sintase e ativação da glicogênio fosforilase encontra-se resumida nas figuras 10-11.

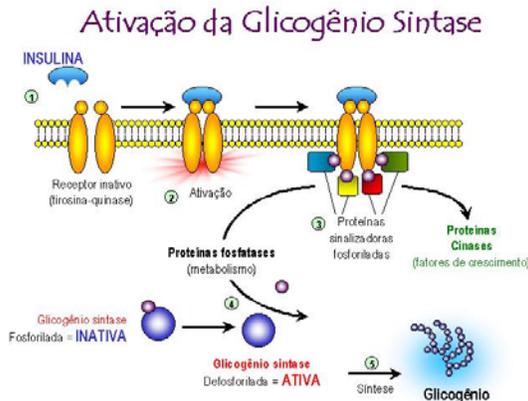


Figura 10-10 – A ativação da *glicogênio sintase*. 1) a insulina liga-se ao receptor inativo; 2) a ativação do receptor de insulina promove 3) a fosforilação de proteínas sinalizadoras que promovem a ativação de proteínas cinases que funcionam como fatores de crescimento e 4) proteínas fosfatases que atuam no metabolismo ativando a *glicogênio sintase* que, por sua vez induz 5) a síntese do glicogênio.

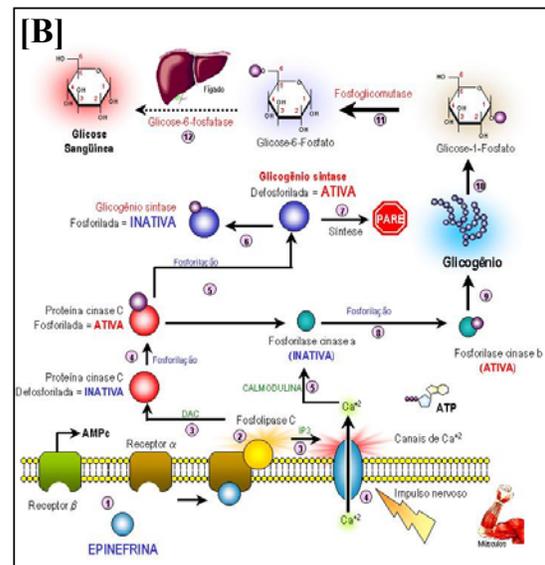
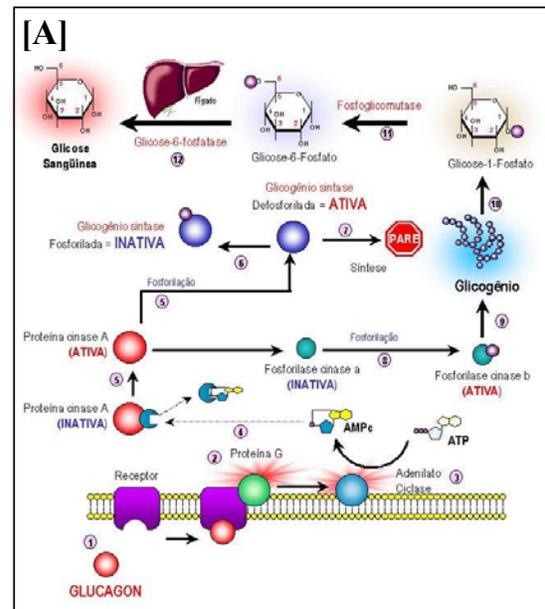


Figura 10-11 – Esquema geral da glicogenólise no jejum [A] e no exercício físico [B]. Ver o texto para detalhes.

Na figura 10-11 [A] representa a regulação da glicogenólise no jejum onde o glucagon conecta-se ao seu receptor e 2) ativa a proteína G que, por sua vez, 3) ativa a *adenilato ciclase* que possui função de converter ATP em AMPc que, na seqüência, 4) liga-se a forma inativa da proteína cinase A 5) ativando-a e, por fosforilação, 6) inativa a glicogênio sintase e, finalmente, 7) pára a síntese de glicogênio. A forma inativa da *fosforilase cinase A* pode 8) por fosforilação induzida pela mesma forma ativa da proteína cinase A

ser ativada 9) e degradar o glicogênio formando 10) a glicose-1-fosfato que 11) pela ação da fosfoglicomutase gera glicose-6-fosfato que retorna ao sangue como glicose 12) pela ação da glicose-6-fosfatase hepática.

A Figura 10-11 B representa o mesmo mecanismo mediado pela epinefrina onde 1) a ligação com os receptores alfa ativa a enzima *fosfolipase C* que leva a formação dos segundos mensageiros 3) di-acil-glicerol (DAG) e inosina-3-fosfato (IP3). O DAG possui mecanismo idêntico de inibição da glicogênio sintase mediado pelo glucagon. O IP3, após 4) abrir canais de cálcio (da mesma forma que impulsos nervosos), promove 5) a ativação da calmodulina e a ativação da fosforilase cinase da mesma forma que o glucagon.

7. Neoglicogênese

Quando há uma queda na concentração de glicose plasmática são ativadas rotas metabólicas que proporciona uma liberação de glicose para o plasma e o retorno dos níveis normais de glicemia. A glicogenólise hepática é um processo muito eficaz, entretanto as reservas logo são exauridas e o fígado lança mão de uma nova via de síntese de glicose que utiliza substratos não glicídicos.

Esta nova via metabólica hepática, a neoglicogênese ou gliconeogênese, fornece glicose para o plasma. Porém quando ocorre em tecidos extra-hepáticos, principalmente no músculo, a glicose formada é utilizada somente no metabolismo energético devido a ausência da enzima glicose-6-fosfatase, exclusiva do hepatócito.

Esta síntese de novas moléculas de glicose ocorre a partir de precursores mais simples como o **glicerol, lactato, piruvato e aminoácidos glicogênicos**. Não é um processo reverso da glicólise, porém utiliza os substratos comuns da via glicolítica para produzir glicose.

A razão de a neoglicogênese não poder utilizar a via reversa da glicólise, é que as fosforilações da primeira fase (conversão de glicose em glicose-6-fosfato e a conversão de frutose-1,6-fosfato em frutose-1,6-bi-fosfato) e a formação de piruvato a partir do fosfoenol-piruvato, são reações **irreversíveis**.

A neoglicogênese corresponde, portanto, no contorno dessas três reações em vias específicas da neoglicogênese, descritas a seguir e apresentadas de maneira esquemática na Figura 10-12.

1. Conversão de piruvato em fosfoenol-piruvato: ocorre em uma seqüência de reações citoplasmáticas e mitocondriais. O piruvato citoplasmático é convertido a oxalacetato na mitocôndria, que é reduzido pelo NADH em malato e liberado para o citoplasma. No citoplasma, o malato é oxidado a malato pelo NAD⁺ gerando, novamente, o oxalacetato que é convertido em fosfoenol-piruvato pela *fosfoenol-piruvato-carboxiquinase*, cujo doador de Pi é GTP.

Na carência de NAD⁺ citoplasmático (típico da glicose anaeróbica) o oxalacetato mitocondrial é convertido diretamente a fosfoenol-piruvato pela ação da enzima *fosfoenol-piruvato-carboxiquinase mitocondrial*.

2. Conversão de frutose-1,6-bi-fosfato em frutose-6-fosfato: é catalisada pela enzima *frutose-1,6-bifosfatase* que promove a retirada do Pi do C1 por hidrólise.

3. Conversão de glicose-6-P em glicose livre: ocorre no fígado, pois somente no RE dos hepatócitos encontra-se a enzima *glicose-6-fosfatase*. Esta reação é comum também a glicogenólise e permite que o fígado regule a concentração de glicose plasmática.

Através dessas três reações, todos os intermediários do ciclo de Krebs que são produzidos pelo catabolismo dos aminoácidos (citrato, isocitrato, α -cetogluturato, succinato, fumarato e malato), assim como os que fornecem piruvato, podem produzir **oxalacetato** e fornecer glicose através da gliconeogênese.

O oxalacetato não consegue sair da mitocôndria, mas o malato sim. Desta forma, o acúmulo de oxalacetato leva a reversão para malato e a saída para o citoplasma onde ocorrem as demais reações da neoglicogênese.

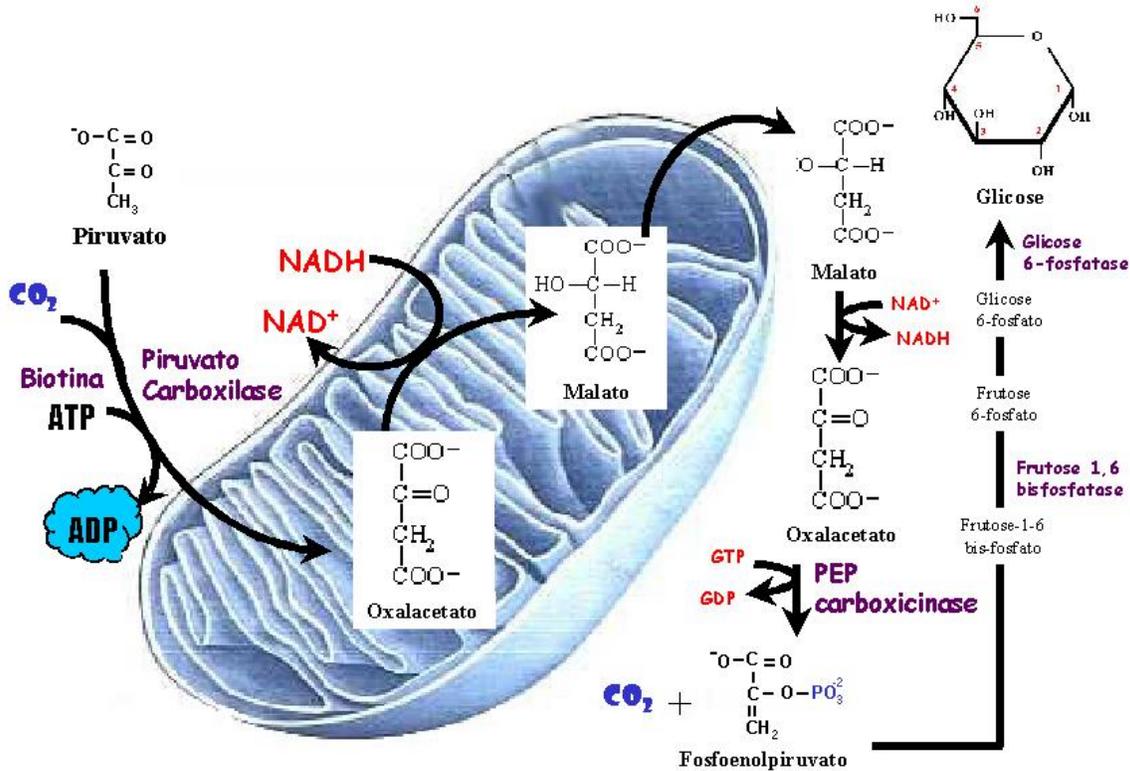


Figura 10-11 - A neoglicogênese é um processo mitocondrial e citoplasmático que ocorre como a reversão da glicólise onde as reações irreversíveis são substituídas por reações específicas da neoglicogênese, estimuladas pelo glucagon, epinefrina e cortisol.

As reações enzimáticas da neoglicogênese são estimuladas pelo glucagon, epinefrina e cortisol e é imprescindível que não haja acetil-CoA disponível na mitocôndria para que o oxalacetato formado não seja convertido em citrato e inicie o ciclo de Krebs. A ausência de acetil-CoA é compatível com o momento metabólico da célula onde há uma queda na degradação de glicose. O glucagon é um potente estimulador dessa via uma vez que é liberado pelo pâncreas após a hipoglicemia.

A neoglicogênese estimulada pelo cortisol e epinefrina corresponde a uma ação metabólica derivada não a um estímulo hipoglicêmico mas por uma necessidade metabólica derivada a um estresse energético.

Os aminoácidos são importantes fornecedores de substratos da neoglicogênese, porém aqueles que fornecem acetil-CoA diretamente (cetogênicos) não fornecem substratos para esta via metabólica e sim estimulam a produção de energia para o ciclo de Krebs.

Os aminoácidos glicogênicos permitem a formação de glicose que será utilizada como energia por todas as células pela neoglicogênese hepática, evitando os efeitos da hipoglicemia.

Os ácidos graxos não fornecem substratos para a neoglicogênese devido ao fato que a acetil-CoA é utilizada direta para a produção de energia ou é deslocada para o citoplasma para a produção de colesterol ou corpos cetônicos. Entretanto, quando os triglicerídeos são degradados, há a liberação de glicerol que pode ser utilizado como substrato para a neoglicogênese, porém convém lembrar que neste estado metabólico (de consumo de ácidos graxos) a grande quantidade de acetil-CoA não permite um acúmulo de oxalacetato devido a grande quantidade de acetil-CoA que estimula o Ciclo de Krebs.

8. *Via das pentoses ou via do fosfogliconato*

Esta rota metabólica (Figura 10-12) produz NADPH e ribose-5-fosfato a partir da desidrogenação da glicose-6-fosfato pela enzima **glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD)** formando a 6-fosfo-glicoconolactona que é convertido em 6-fosfogliconato pela ação da **lactonase**. Este composto é convertido a ribulose-5-fosfato pela retirada de CO₂ e por desidrogenação pelo NAD⁺, catalisada pela enzima **6-fosfogliconato-desidrogenase**.

A ribulose-5-fosfato formada é isomerizada a ribose-5-fosfato pela enzima **fosfopentose-isomerase** e é utilizada na síntese de ácidos nucleicos.

A formação da pentose, entretanto, não é o principal produto desta via, mas sim a formação de NADPH em tecidos que necessitam de seu poder redutor em reações biológicas (p.ex.: síntese de ácidos graxos, redução do ferro nas hemácias).

As hemácias realizam este desvio metabólico de maneira exclusiva (não realiza a síntese de glicogênio, colesterol nem corpos cetônicos). A G6PD está associada ao GLUT1 o que estimula a via das pentoses em grande escala permitindo que o NADPH formado mantenha a enzima **glutathione redutase** ativa e, em consequência, o ferro do grupamento heme reduzido. Este fato permite que a hemoglobina transporte o oxigênio de maneira reversível onde o ferro liga-se ao O₂ por atração eletrostática e não por ligação covalente, que aconteceria na ausência da glutathione-redutase.

Mutações no gene da G6PD favorecem a destruição da capacidade da hemoglobina em transportar o oxigênio de maneira reversível e a destruição da hemácia precocemente levando a anemias hemolíticas graves.

Em casos de extrema carência energética, a ribose formada pode ser requisitada pelo metabolismo celular. Neste caso, a ribose-5-fosfato regenera a glicose-6-fosfato por uma via diferente de sua síntese (não gastando os NADPH produzidos) sob a ação sequencial de enzimas denominadas **transaldolases** e

transcetolases que proporcionam a formação de trioses, tetroses e heptoses intermediárias.

Esses carboidratos se combinam entre si, através da ação dessas enzimas, e geram a glicose de várias maneiras diferentes, sempre reordenando os carbonos disponíveis nas reações. Duas riboses (5C) formam uma heptose (7C) e uma triose (3C). Esses carboidratos formam a glicose (6C) e uma tetrose (4C).

A tetrose (4C) liga-se com outra pentose (5C) gerando uma outra glicose (6C) e uma triose (3C). Esta triose liga-se a outra triose formando uma terceira glicose.

9. *Metabolismo de outros carboidratos*

A **frutose** é convertida em frutose-6-fosfato pela hexocinase no fígado, e a enzima **frutoquinase** promove a formação de frutose-1-fosfato que é quebrada em gliceraldeído e di-OH-cetona-fosfato pela enzima frutose-1-fosfato aldolase. Esses compostos são comuns a via glicolítica e prosseguem o metabolismo energético normal. A galactose é convertida em galactose-1-fosfato pela enzima **galactose-1-fosfato-4-epimerase**. A enzima **UDP-glicose-galactose-1-P-uridiltransferase** é a responsável pela conversão da galactose-1-fosfato em glicose-6-fosfato e a continuidade do metabolismo celular. A deficiência dessas enzimas proporciona o acúmulo de galactose plasmática (**galactosemia**) que pode acarretar em danos neurológicos graves.

A **manose** é convertida em manose-6-fosfato pela hexocinase que é isomerizada pela enzima **fosfomanose isomerase** formando a frutose-6-fosfato que prossegue no metabolismo glicolítico.

A **sacarose** é sintetizada nos vegetais a partir da UDP-glicose sendo a frutose-6-fosfato unida à UDP-glicose pela ação da enzima **sacarose-6-fosfato-sintase**, formando a sacarose-6-fosfato que tem seu Pi removido pela enzima sacarose-6-fosfatase disponibilizando a sacarose no citoplasma dos vegetais. Nos animais, entretanto, há a ação da enzima **sacarase** intestinal liberando glicose e frutose para a captação hepática, não havendo sacarose disponível para o metabolismo celular.

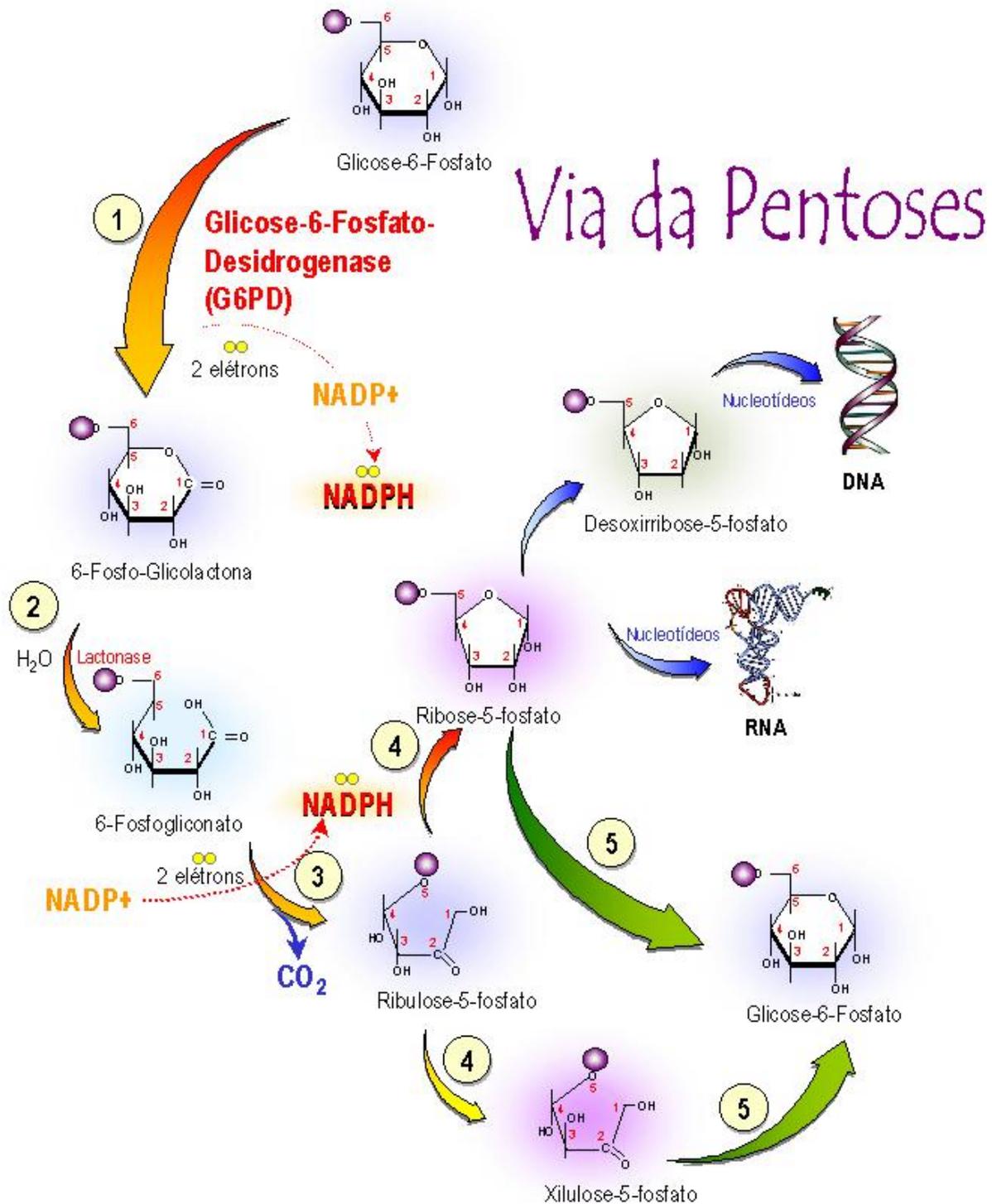


Figura 10-12- Na via das pentoses para cada seis moléculas de glicose degradadas, uma é convertida, novamente, a glicose-6-fosfato o que gera um ciclo sem fim. As cinco moléculas restantes são convertidas em ribose-5-fosfato que é requisitada para a síntese de nucleotídeos. Nas hemácias, no entanto, não há a formação de riboses e, portanto, a via das pentoses passa a ter no NADPH formado o produto principal, já que ele é utilizado no processo de manutenção da hemoglobina no estado reduzido, o que possibilita a ligação reversível com o oxigênio. A deficiência genética da G6PD leva a formação de uma hemácia frágil pelo depósito de metahemoglobina (hemoglobina oxidada irreversivelmente) que sofre hemólise mais rapidamente que uma hemácia normal.

A **lactose** é sintetizada na glândula mamária de maneira similar ao glicogênio, ou seja, há a ligação da galactose da UDP-galactose com a glicose, e a respectiva liberação de UDP, a partir da ação da enzima **lactose sintase**. Entretanto, esta enzima em outros tecidos promove a ligação da galactose com a N-acetil-glicosamina formando a porção carboidrato das glicoproteínas, sendo denominada nesses tecidos de **galactosil transferase**. A diferença da atividade dessas enzimas é a presença de proteína α -lactoalbumina na galactosil-transferase, que é sintetizada a partir do estímulo hormonal da prolactina. A lactose alimentar é degradada em glicose e galactose no intestino sob a ação da enzima intestinal **lactase**.

Na maioria dos animais ocorre a síntese de ácido ascórbico a partir da UDP-glicose que é desidrogenada em **UDP-glicuronato** através da enzima UDP-glicose-desidrogenase. O UDP-glicuronato é importante grupamento da detoxificação hepática existindo em todos os animais.

Na seqüência de reações que levam a síntese de ácido ascórbico, o UDP-glicuronato é convertido em gulonato pela enzima glicuronato-redutase (NAPH dependente) que é convertido em gulonolactona pela aldonolactonase. A síntese de ácido ascórbico dá-se pela conversão da gulonolactona pela ação da enzima **gulono-oxidase**, o que não ocorre em alguns poucos animais (alguns primatas, inclusive o homem, pássaros peixes e roedores).

Metabolismo dos lipídios

Os lipídios possuem características especiais no que diz respeito ao seu metabolismo em virtude ao processo absorção intestinal diferenciada que favorece a sua captação pelo sistema linfático o que faz com que não seja captado pelo fígado, logo após a digestão (ver capítulo 2 sobre Alimentos). O duto linfático abdominal, que capta os lipídios da alimentação, transfere os lipídios para o duto linfático torácico que se conecta com o sistema circulatório na altura do encontro das vei-

as subclávia e jugular que se conectam com a veia cava e o coração.

Os lipídios da dieta são, portanto, absorvidos no sistema circulatório sem passar pelo fígado o que permite que os triglicerídeos sejam captados pelos adipócitos (ou pelos músculos, caso haja necessidade energética) antes de serem submetidos ao poderoso metabolismo hepático, como acontece com os demais nutrientes.

A razão desta absorção diferenciada está nas propriedades lipossolúveis dos lipídios, o que faz toda a diferença no estudo do metabolismo lipídico. Uma vez que os triglicerídeos são primeiramente captados nos tecidos, resta somente o colesterol e os demais lipídios da dieta (sem função energética) a serem metabolizados pelo hepatócito quando o sangue retorna ao coração e, obrigatoriamente, tem que passar pelo fígado.

O colesterol dietético que chega para o metabolismo hepático é adicionado ao colesterol e triglicerídeos produzidos endogenamente como resultado dos desvios metabólicos resultantes de um excesso de acetil-CoA, principalmente originário de uma hiperglicemia.

O colesterol pode ser degradado até sais biliares e são excretados pela bile (Figura 10-12). Entretanto existe uma efetiva reabsorção dos sais biliares (até 99,5%) para o fígado após a digestão o que torna a necessidade de colesterol para sua síntese bem pequena. Desta forma os triglicerídeos e o colesterol, sintetizados no fígado, devem ser encaminhados para os tecidos extra-hepáticos para serem metabolizados.

O transporte dos lipídios na linfa e no sangue é feito por **lipoproteínas** que possuem função importantíssima na gênese de doenças relacionadas aos lipídios, as dislipidemias.

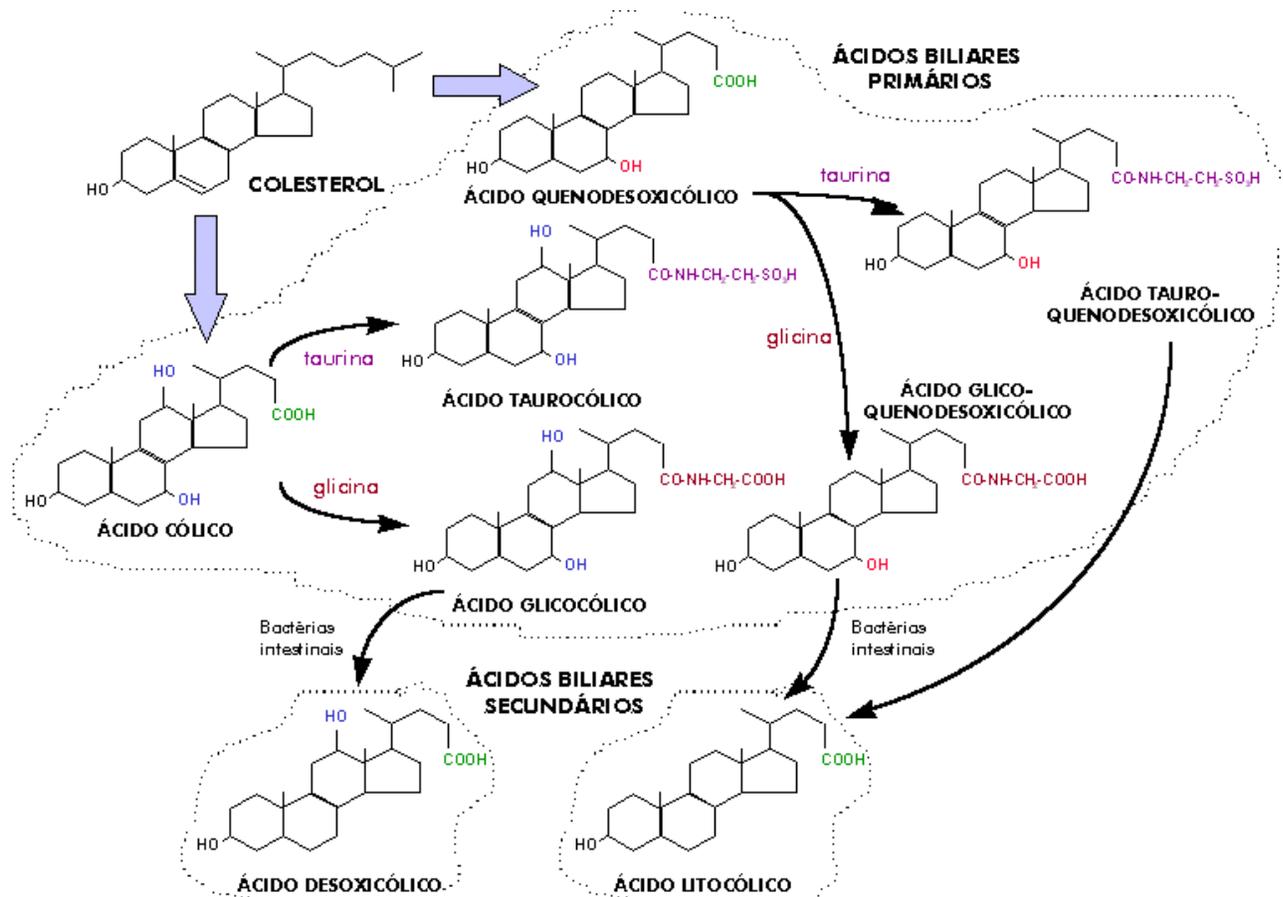


Figura 10-12 - Síntese dos ácidos biliares. A partir do colesterol há a síntese dos ácidos biliares primários no fígado que são excretados na bile. Uma vez no duodeno, sofrem a ação de bactérias intestinais produzindo os ácidos biliares primários. Devido ao pH alcalino da bile e do conteúdo duodenal, os ácidos biliares apresentam-se na forma de **sais biliares**.

1. Metabolismo das lipoproteínas

Lipoproteínas são proteínas sintetizadas na mucosa intestinal e no fígado durante o processo metabólico dos lipídios, sendo a estrutura básica mostrada nas Figura 10-13 e 10-14.

As proteínas das lipoproteínas são denominadas de **apoproteínas** e possuem a função de solubilizar os lipídios e possibilitar o seu transporte plasmático, além de corresponder a elementos identificadores de cada tipo de lipoproteína.

As apoproteínas podem ser **integrals** que penetram na matriz lipídica (apo A e apoB) ou **periféricas** que são superficiais à molécula (apoC, apoD e apoE). De uma maneira geral, a relação entre as apoproteínas com os lipídios é semelhante às membranas celulares que são, também, lipoprotéicas.

Os lipídios da alimentação são transportados pelos **quilomícrons** e os provenientes da síntese hepática são transportados pelas demais lipoproteínas.

A diferença básica entre cada lipoproteína diz respeito à quantidade de lipídios e proteínas na molécula, aumentando a densidade quanto maior a quantidade de proteínas presente em sua composição.

Desta forma existem lipoproteínas de baixa densidade (LDL = *low density lipoprotein*), muito baixa densidade (VLDL = *very low density lipoprotein*) e de alta densidade (HDL = *high density lipoprotein*). Os quilomícrons (do latim *quilo* = gordura e *micro* = pequena) são as de menor densidade enquanto que as de maior densidade são as albuminas ligadas aos ácidos graxos.

Nas Tabelas 10-3 e 10-4 podem ser observadas as composições relativas de lipídios e proteínas transportadas pelas lipoproteínas.

ínas plasmáticas, assim como suas principais funções.

Os quilomícrons são as primeiras lipoproteínas do metabolismo lipídico. São sintetizadas na mucosa intestinal transportando os lipídios oriundos da dieta, principalmente os triglicerídeos devido a grande quantidade existente na alimentação.

São captados primeiro pelo duto linfático e depois pela circulação sanguínea indo, primeiro aos tecidos e somente depois para o fígado.

Nos adipócitos, os quilomícrons deixam grande quantidade de seu conteúdo de triglicerídeos, convertendo-se em **quilomícrons remanescentes** que são absorvidos pelos hepatócitos para a degradação do colesterol restante.

O colesterol é excretado na bile como ácido biliar ou como colesterol livre até a saturação do sistema enzimático de síntese de ácidos biliares, levando a necessidade da exportação do colesterol em excesso para os tecidos extra-hepáticos.

Tabela 10-3 - Composição lipoprotéica relativa das lipoproteínas plasmáticas.

Lipoproteína	Densidade	Proteínas (%)	Lipídios (%)	TG	FL	Col (éster)	Col (livre)	FFA
Quilomícrons	↓ 0,95	1-2	98-99	88	8	3	1	-
VLDL	0,95 - 1,006	7-10	90-93	56	20	15	8	1
IDL	1,006 - 1,019	11	89	29	26	34	9	1
LDL	1,010 - 1,063	21	79	13	28	48	10	1
HDL2	1,063 - 1,125	33	67	16	43	31	10	-
HDL3	1,125 - 1,210	47	43	13	46	29	6	6
Alb-FFA (*)	↑ 1,210	99	1	0	0	0	0	100

TG = triglicerídeos Col = colesterol FL = fosfolípido FFA = free fat acid (ácidos graxos livres)

VLDL = very low density lipoprotein IDL = intermediate density lipoprotein

LDL = low density lipoprotein HDL = high density lipoprotein

(*) Alb-FFA = albumina ligada a ácidos graxos livres. Forma de transporte dos FFA após a mobilização dos adipócitos. (Adaptado de MURRAY *et al.*, 2000, p. 269)

Tabela 10-4 - Principais lipoproteínas plasmáticas e suas apoproteínas.

Lipoproteína	Funções	Apoproteínas
Quilomícron	Transportar os triglicerídeos da dieta e apresentá-los, aos adipócitos e tecidos periféricos cuja captação é mediada pela enzima <i>lipase-lipoproteína</i> , ativada pela apo-C2.	A1, A2, A4, B48, C1, C2, C3, E
Quilomícron remanescente	Apresentar os triglicerídeos e o colesterol remanescentes para a degradação hepática, mediada por endocitose mediada pelo receptor hepático que reconhece a apo-B48 e apo-E	B48, E
VLDL	Transportar os triglicerídeos endógeno para os depósitos no tecido adiposo, com captação e hidrólise mediada pela enzima <i>lipase-lipoproteína</i>	B100, C1, C2, C3, E,
VLDL remanescente ou IDL	Endocitose mediada por receptor hepático e conversão a LDL através remoção de apo-C2 e apo-E pela HDL plasmática	B100, E
LDL	Transportar o colesterol endógeno para a degradação hepática e de outros tecidos através de endocitose mediada por receptores para apo-B100.	B100
HDL	Retirada do colesterol livre da corrente sanguínea esterificando-o e transferindo-os à VLDL remanescente. Retirada do LDL da parede dos vasos.	A1, A2, A4, C1, C2, C3, D, E

(Adaptado de MURRAY *et al.*, 2000, p. 269)

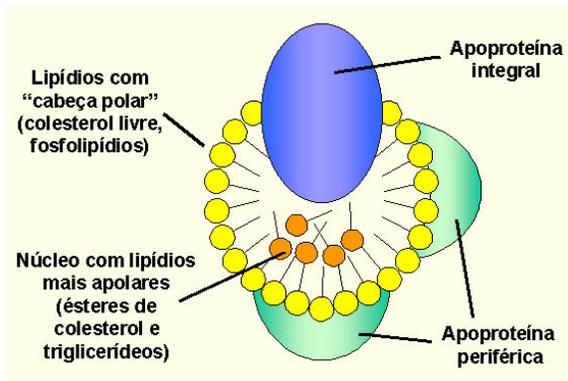


Figura 10-13 - Representação esquemática de uma lipoproteína. As apoproteínas integrais (apo A e apo B) estão inseridas firmemente na matriz lipídica, enquanto que as proteínas periféricas (apo C, apo D e apoE) ligam-se por forças fracas aos lipídios da periferia da molécula. Observe a semelhança com a estrutura lipoprotéica da membrana celular.

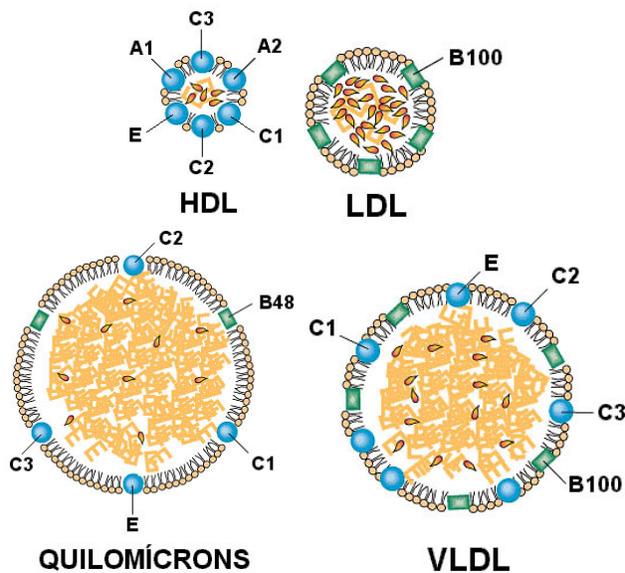


Figura 10-14 - Representação esquemática das lipoproteínas plasmáticas. (Adaptado de DEVLIN, 2000).

A **apoC2** é responsável pela identificação dos quilomícrons pelos adipócitos, induzindo a ação da enzima **lipase-lipoproteica** do adipócito para favorecer a captação dos triglicerídeos. Os quilomícrons não possuem esta importante apoproteína quando são sintetizados na mucosa intestinal. ApoC2 é adicionada pela lipoproteína **HDL** durante o transporte plasmático.

A **apoB-48** é uma proteína integral dos quilomícrons responsável pela sua identi-

ficação e captação pelo hepatócito para o processo de degradação. A **apoE** também tem esta função e também é adicionada à molécula do quilomícrons pelo contato com a HDL da mesma forma que a apoC2. Outras apoproteínas estão presentes na composição dos quilomícrons com a função de torna-lo solúvel (ver tabela 10-4).

No fígado, há a síntese constante de colesterol e triglicerídeos a partir do excesso de acetil-CoA produzida durante o metabolismo energético. Esses lipídios endógenos são transportados pela lipoproteína **VLDL** que possui a **apoB100** como principal apoproteína.

Após ser liberada para a corrente sanguínea, a HDL transfere a apoC2 e apoE para a molécula de VLDL, da mesma maneira como faz com os quilomícrons. Desta forma, a VLDL pode ser reconhecida pelos adipócitos e ter o seu conteúdo de triglicerídeos retirado para o armazenamento no tecido adiposo.

Após a retirada dos triglicerídeos, a VLDL torna-se mais densa e de menor tamanho, sendo denominada de **VLDL remanescente** (ou **IDL**).

Esta lipoproteína remanescente pode ser captada pelo fígado e o seu conteúdo de colesterol degradado. Porém isso raramente acontece uma vez que a VLDL que lhe deu origem foi sintetizada em uma situação de excesso de lipídios hepáticos e, portanto, não é de se esperar que o fígado proceda a sua degradação, mesmo depois do depósito de triglicerídeos nos adipócitos.

Observe que o colesterol que está na VLDL remanescente corresponde ao excesso da síntese e da alimentação, logo é de se esperar que não haja uma degradação hepática a menos que aumente a necessidade de síntese de sais biliares. Isto pode ser conseguido caso diminua a absorção dos sais biliares no intestino o que leva a uma maior necessidade de colesterol para a síntese. As fibras alimentares e medicamentos da classe dos fibratos promovem esta diminuição da absorção intestinal de sais biliares e levam a queda do colesterol plasmático em consequência. Em pacientes com altas concentrações de colesterol plasmático por causas genéticas (ver capítulo 16 sobre Dislipidemias) a retirada cirúrgica da úl-

tima porção do intestino delgado, onde ocorre a reabsorção em massa dos sais biliares, promove uma queda na concentração de colesterol sanguíneo devido o aumento da necessidade hepática de colesterol para a síntese de sais biliares.

Desta forma, a VLDL remanescente corresponde a uma lipoproteína com alto teor de colesterol cujas apoC2 e apoE tendem a sair da molécula, já que perderam sua função, sendo transferidas de volta para a HDL.

A HDL, por sua vez, possui a capacidade de transferir colesterol livre e ésteres de colesterol do plasma para a molécula de VLDL. Ao final deste processo de recombinação molecular entre as moléculas de HDL e VLDL, há a formação de uma nova lipoproteína, a LDL.

A LDL possui em sua composição quase que exclusivamente a apoB100 e uma grande quantidade de colesterol que não é captado pelo hepatócito.

O destino desse colesterol, entretanto, está assegurado em todas as células do organismo, devido à existência de receptores para LDL. A captação de colesterol, entretanto, ocorre, preferencialmente, nas células de tecidos que possuam grande necessidade de colesterol para a síntese de membrana celular devido a grande produção de células (medula óssea, testículos, tecido epitelial) ou para a produção de hormônios esteróides derivados do colesterol (gônadas e supra-renais). O próprio fígado capta colesterol da LDL quando os níveis de sais biliares reabsorvidos diminuírem e houver necessidade de mais colesterol para a síntese de novos sais biliares.

A captação da LDL se dá pela presença de receptor celular para a apoB100 que promove a internalização do complexo receptor/lipoproteína, possibilitando um controle da entrada de LDL na célula, uma vez que todas estas células são capazes de sintetizar colesterol (Figura 10-15).

O receptor para LDL é uma proteína transmembrana com até 822 aminoácidos distribuídos em cinco domínios diferentes (um citoplasmático, um transmembrana e três extra-celulares). Os 18 éxons do gene do receptor para o LDL são alvos de mais de 600 mutações diferentes responsáveis pela falha

na captação do colesterol plasmático, levando a uma hipercolesterolemia de difícil tratamento denominada **hipercolesterolemia familiar**. Na figura 10-16 está representado a estrutura do receptor para LDL. Para maiores detalhes sobre essa doença, ver capítulo 16 sobre Dislipidemias.

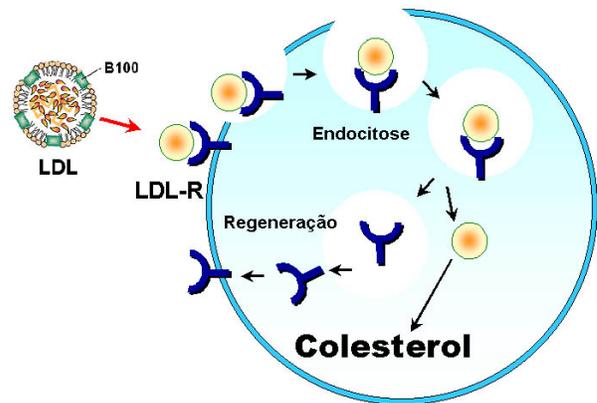


Figura 10-15 - A captação do colesterol da LDL é mediada por receptores celulares (LDL-R) que reconhecem a apoB100 da LDL. A regeneração do LDL-R é um importante mecanismo regulador da concentração de colesterol plasmático.

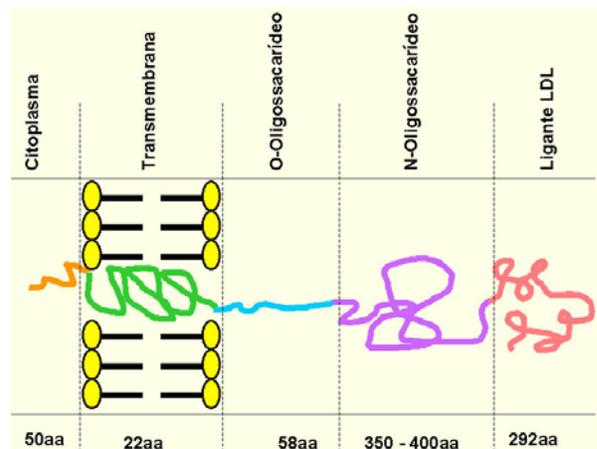


Figura 10-16 - A estrutura do receptor celular para LDL (LDL-R) revela cinco domínios distintos. Centenas de mutações no gene do LDL-R são responsáveis pelo acúmulo de LDL colesterol no plasma. (Adaptado de Stryer, 1992).

Com a endocitose do receptor celular de LDL, há uma regulação da entrada de colesterol na célula que é dependente da quantidade de colesterol necessária para a célula. As células com alta atividade biosintética de hormônios esteróides serão as que mais captarão o colesterol da LDL, porém todas as células tendem a captar o colesterol.

Entretanto quanto mais colesterol entra na célula, menos receptores se regeneram e, portanto, há um acúmulo fisiológico de LDL plasmática. Desta forma, uma grande quantidade de colesterol da alimentação e/ou da síntese hepática, leva a saturação do sistema de captação celular do colesterol e o conseqüente acúmulo de colesterol no sangue, uma vez que não pode ser excretado na urina por ser insolúvel e nem pelo fígado, já que o sistema de captação está saturado.

O último destino desse excesso de LDL é a deposição nos vasos sanguíneos uma vez que por ser um lipídio de baixa densidade a LDL flutua no sangue e deposita-se naturalmente nas paredes dos vasos. A fixação da LDL se dá em todos os vasos do organismo, havendo um tropismo especial para as artérias coronárias devido sua localização após a aorta, o que faz com que o sangue saia com alta pressão e em turbilhonamento graças à curva que a aorta faz ao sair do coração. Isto faz com que os componentes de baixa densidade percorram o vaso próximo à parede, o que favorece seu depósito quando estão em excesso (Figura 10-17).

O acúmulo de lipídios nos vasos pode levar a obstrução e nas artérias isto pode levar à necrose do tecido irrigado por ela. As artérias coronárias irrigam o miocárdio e o efeito principal de uma obstrução será o **infarto do miocárdio**. A obstrução da artéria coronária por LDL é denominada de **aterosclerose coronária** e é uma doença metabólica muito freqüente e de grande importância na clínica médica (ver Capítulo 16 sobre Dislipidemias).

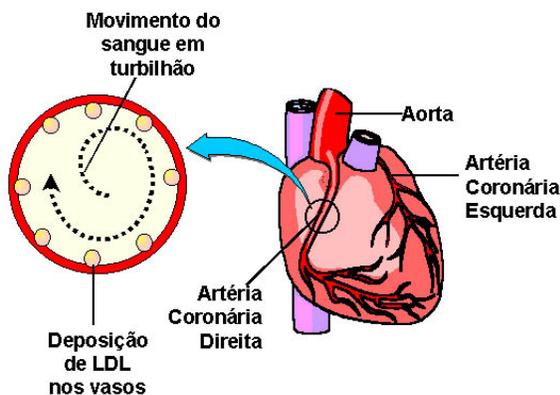


Figura 10-17 - Um excesso de LDL tende a se depositar naturalmente na parede das artérias coronárias devido à baixa densidade dos lipídios e ao movimento em turbilhão do sangue nas artérias próximas à aorta.

O colesterol da LDL depositada na parede dos vasos pode ser retirado pelas moléculas de HDL pela ação da enzima **lecitina colesterol acil transferase (LCAT)** que esterifica o colesterol com triglicerídeos e o transporta para novas moléculas de VLDL ou LDL para que possam novamente ser metabolizadas nas células.

Porém, quanto maior a concentração de LDL (e menor a de HDL) o colesterol tende a se oxidar ao passar através do endotélio. Essa oxidação impede que os macrófagos (células de defesa) reconheçam este LDL oxidado como estruturas próprias do organismo. Então, os macrófagos endocitam a LDL.

Esta endocitose, entretanto, ao invés de se constituir um importante processo para a retirada do colesterol da parede dos vasos, torna-se um desencadeador do enrijecimento da artéria coronária. Isto acontece porque após a endocitose os macrófagos não conseguem digerir o LDL e se tornam células grandes (**células espumosas**) sem função de fagocitose e se acumulam nas paredes dos vasos liberando fatores químicos que levarão à proliferação do músculo liso, a lesão do vaso e a calcificação do local, criando a **placa ateromatosa** que diminui a circulação sanguínea na área afetada, induzindo à necrose do tecido irrigado pelo músculo.

Na Figura 10-18 estão representados os eventos responsáveis pela formação da placa ateromatosa. Para maiores detalhes, ver o capítulo 16 sobre Dislipidemias.

Como foi descrito, a molécula de **HDL** possui importante função na manutenção dos níveis plasmáticos de colesterol dentro de valores compatíveis com a ausência de risco para aterosclerose coronária, pois possibilita a retirada do colesterol livre do plasma esterificando-o com o triglicerídeos através da LCAT, transferindo este colesterol à molécula de VLDL e LDL favorecendo o consumo do colesterol pelas células periféricas e pelo próprio fígado. Uma outra função atribuída à HDL é a retirada física da molécula de LDL da parede dos vasos, por um processo não bem conhecido, ajudando na prevenção da placa ateromatosa. A HDL, ainda, é captada pelos hepatócitos onde tem o seu colesterol

degradado em ácidos biliares ou excretados como colesterol livre na bile.

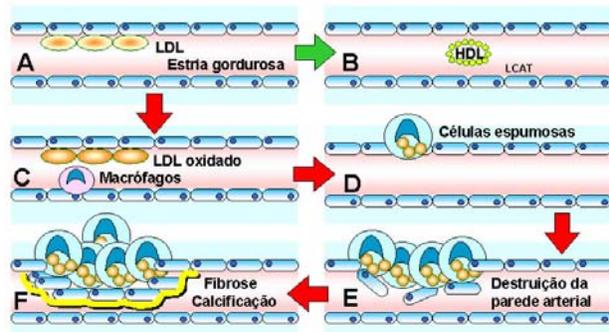


Figura 10-18 - Formação da placa aterosclerótica. A) o LDL em excesso deposita-se na parede dos vasos formando a estria gordurosa; B) a HDL pode retirar o colesterol pela ação da LCAT; C) o LDL em excesso se oxida e é endocitado por macrófagos; D) os macrófagos tornam-se células espumosas, incapazes em digerir a LDL oxidada; E) as células espumosas acumulam-se na camada íntima das artérias levando a sua destruição; F) a lesão contínua leva a fibrose e calcificação da placa aterosclerótica, impedindo a passagem de oxigênio para o miocárdio, levando ao infarto.

Por todos esses fatores, a HDL é considerada uma lipoproteína de proteção contra a aterosclerose coronariana, sendo denominado vulgarmente, como o **bom colesterol**. Em contrapartida, a LDL ganhou a “fama” de **mau-colesterol** por ser a partícula aterogênica. Entretanto, é o LDL que possibilita a captação do colesterol pelas células periféricas e fígado.

O mau-colesterol na verdade é aquele ingerido na dieta além da capacidade de excreção hepática diária do indivíduo (até 1g/dia).

Estudos recentes demonstram que uma lipoproteína sintetizada no fígado denominada de **lipoproteína (a)** é muito parecida com a LDL, possuindo uma **apo(a)** ligada através de ligação covalente com a **apo-B100**, o que lhe confere um poder extremamente aterogênico uma vez que possui uma função de retardo na degradação dos coágulos sanguíneos. Por isto, esta nova lipoproteína já vem sendo denominada como o **colesterol muito ruim**.

O metabolismo dos lipídios endógenos e exógenos é muito semelhante, variando no tipo de lipoproteína envolvida. Porém, as conseqüências de um aumento da LDL plasmático pode ter conseqüências desastrosas para o organismo, daí a importância do estudo deta-

lhado deste metabolismo para a compreensão da fisiopatologia de doenças metabólicas de grande importância na prática médica.

Nas figuras 18-19 e 18-20 estão representados os passos do metabolismo lipídico.

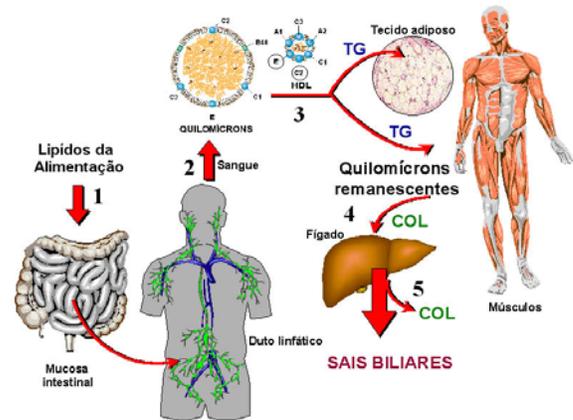


Figura 10-19 - O metabolismo dos lipídios exógenos. 1) Os lipídios da alimentação são digeridos no intestino delgado e absorvido para o sistema linfático; 2) o duto linfático conecta-se com a circulação sanguínea e transporta os lipídios em quilomícrons; 3) a HDL cede apoC2 e E que favorecem a captação de triglicerídeos pelo adipócito e pelos músculos; 4) o colesterol que restou e captado pelo fígado; 5) o fígado converte o colesterol em sais biliares ou o excreta livre na bile.

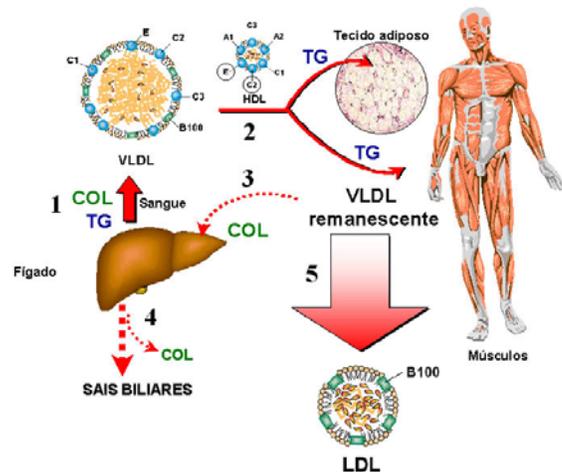


Figura 10-20 - O metabolismo dos lipídios endógenos. 1) o colesterol e triglicerídeos produzidos no fígado por um excesso de acetil-CoA são transportados para o sangue ligados à VLDL; 2) a HDL cede apoC2 e apoE para a VLDL facilitando a captação dos triglicerídeos pelos adipócitos e músculos; 3) o colesterol restante pode ser captado pelo fígado e 4) ser convertido em sais biliares ou excretado livre na bile. 5) a VLDL remanescente converte-se em LDL devido à impossibilidade da degradação hepática por saturação no processo de degradação do colesterol. A LDL plasmática pode ser captada pelas demais células do organismo.

2. Síntese do colesterol

O excesso de acetil-CoA é o sinal para o início da síntese hepática dos lipídios (colesterol e ácidos graxos) e corpos cetônicos. Esta síntese é citoplasmática o que significa que a acetil-CoA deve sair da mitocôndria para que as enzimas citoplasmáticas possam convertê-la nesses compostos. Entretanto a acetil-CoA é impermeável à membrana mitocondrial, o que obriga um processo metabólico especial para sua saída.

Isso ocorre com a formação de **citrato** após a condensação com oxalacetato (primeira reação do Ciclo de Krebs) porém não há o prosseguimento das reações para formar ATP, devido à inibição alostérica das enzimas do Ciclo pelo ATP. Isso leva a um acúmulo de citrato e a sua saída para o citoplasma, uma vez que é permeável à membrana mitocondrial. Uma vez fora da mitocôndria, o citrato é desdobrado pela enzima **citrato liase** liberando acetil-CoA e o oxalacetato que retorna à mitocôndria.

O colesterol existente no organismo pode ser de origem exógena (alimentação) ou endógena. Todas as células possuem o aparato enzimático para a síntese do colesterol a partir da acetil-CoA, porém grande quantidade de colesterol é sintetizada no fígado a partir do excesso de acetil-CoA proveniente do metabolismo dos carboidratos estimulado pela insulina. A acetil-CoA proveniente da beta-oxidação não é comumente destinada para a síntese de colesterol devido a baixa de concentração de insulina típica deste estado metabólico. Pelo contrário, a acetil-CoA destinada desse processo será aproveitada mais para a síntese de corpos cetônicos, como será vista adiante.

A síntese de colesterol compreende uma via metabólica de cinco fases. Nesta via metabólica é necessária a presença do redutor NADPH. Como este processo ocorre em um excesso de acetil-CoA típico de excesso de glicose, é de se esperar que a via das pentoses esteja ativa fornecendo este potencial redutor na forma de NADPH.

1) Síntese do mevalonato: 2 moléculas de acetil-CoA, formam **acetoacetil-CoA** que se converte em **hidróxi-metil-glutaril-**

CoA (HMG-CoA) pela adição de uma terceira acetil-CoA. A formação de HMG-CoA é etapa comum para a síntese de corpos cetônicos. A enzima **HMG-CoA-redutase** é a responsável pela conversão de HMG-CoA em **mevalonato (6C)**, sendo, portanto, uma enzima reguladora da síntese de colesterol.

- 2) Formação de unidades isoprenóides:** forma-se o **isopentenil-pirofosfato (5C)** por fosforilação do ATP e perda de CO₂.
- 3) Formação de esqualeno:** seis moléculas da unidade isoprenóide (5C), formadas na etapa anterior, condensam-se formando o **esqualeno (30C)**, sendo necessário a presença de NADPH.
- 4) Conversão do esqualeno em lanosterol:** o lanosterol é um composto cíclico que contém o núcleo ciclo-pentano-per-hidro-fenantreno. Esta fase necessita de NADPH e FAD⁺.
- 5) Conversão do lanosterol em colesterol:** ocorre no retículo endoplasmático, sendo necessários 4 NADPH e 1 NAD⁺. O colesterol possui 27 carbonos pois nesta fase há a perda de 2 CO₂ e um radical livre HCO-OH.

O colesterol não possui função energética, mas possui importante função na formação da membrana celular, na síntese de hormônios esteróides e na síntese dos ácidos biliares. Nas figuras 10-21 e 10-22 estão apresentadas as etapas na síntese de colesterol.

A enzima **HMG-CoA redutase** é responsável pela regulação da síntese do colesterol, que acontece em de três níveis diferentes:

- 1) *Feedback* negativo da HMG-CoA redutase pelo próprio colesterol sintetizado. Esta inibição alostérica é extremamente eficaz e impede uma superprodução de colesterol citoplasmático.
- 2) Ativação da HMG-CoA-redutase pela insulina e inativação pelo glucagon, o que faz da concentração de glicose plasmática é um importante regulador da síntese de colesterol.
- 3) Redução na transcrição do gene da HMG-CoA-redutase através do colesterol captado pela célula através da LDL. Alguns medicamentos (p. ex.: levastatina e meva-

tastina) são utilizados para diminuir os níveis plasmáticos de colesterol por inibir a ação enzimática da HMG-CoA-redutase

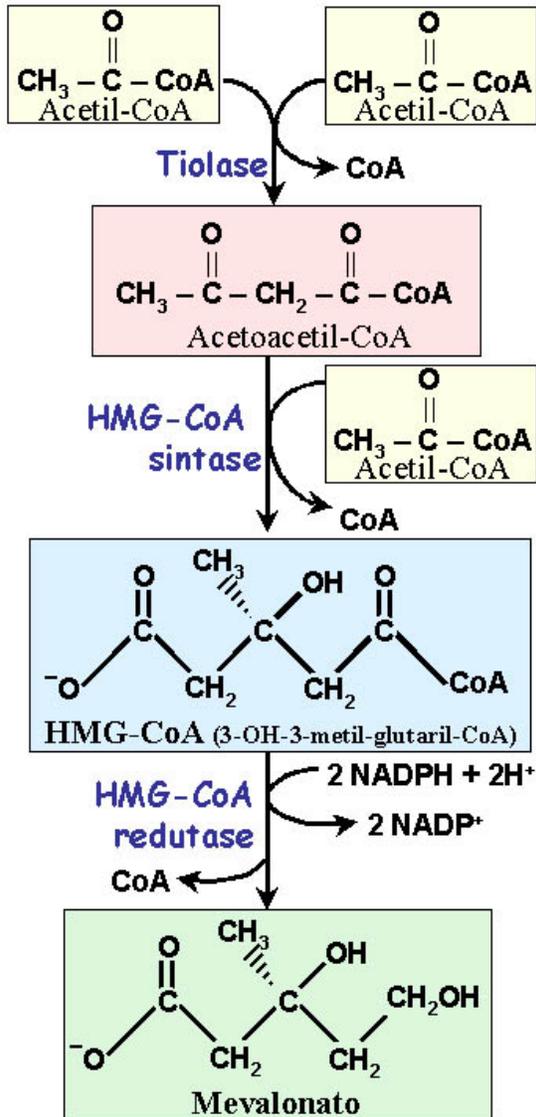


Figura 10-21 - A síntese do mevalonato é uma etapa inicial importante que diferencia a síntese de colesterol da síntese de corpos cetônicos. A enzima HMG-CoA redutase é a responsável por essa diferenciação.

3. Síntese dos Ácidos Graxos e Triglicerídeos

É estimulada pela insulina, onde a acetil-CoA é oriunda, principalmente do excesso de glicose plasmático. A forma de obtenção da acetil-CoA citoplasmática é a mesma que a discutida para a síntese de colesterol, ou seja,

o citrato mitocondrial é a forma de saída da acetil-CoA em excesso.

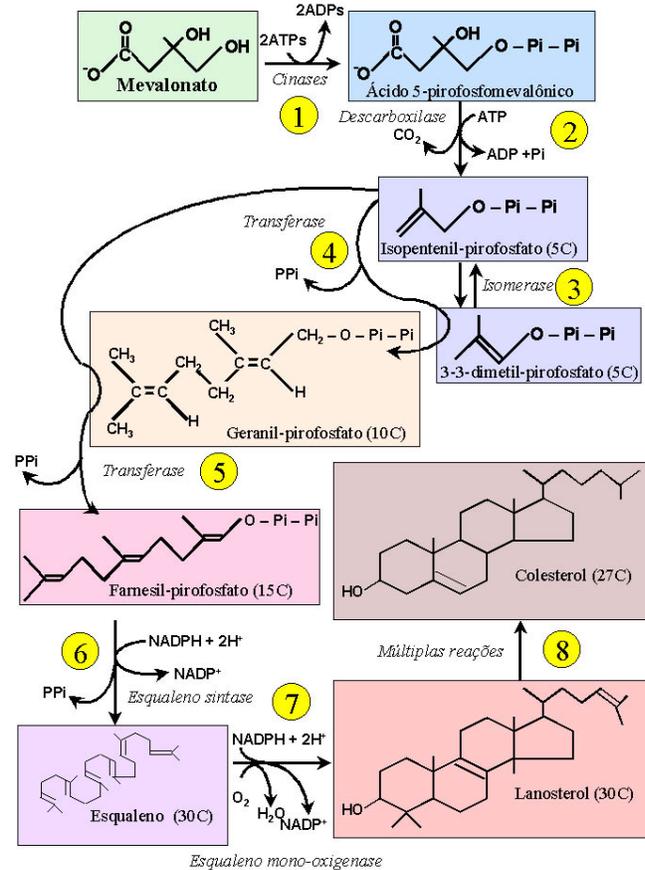


Figura 10-22 - A síntese do colesterol a partir do mevalonato ocorre em oito etapas distintas. 1) A ação de cinases acrescenta um grupamento pirofosfato (PPi) importante para a solubilização dos compostos a serem formados a partir daqui. A entrada e saída de PPi indica, também, reações irreversíveis o que impede o retorno do colesterol para formar acetil-CoA; 2) Descarboxilases são responsáveis pela retirada de CO₂ da molécula e a formação de uma unidade isoprenóide, o isopentenil-pirofosfato (IPP); 3) O IPP se isomeriza em 3,3-di-metil-pirofosfato (DPP); 4) IPP e DPP se unem para formar um composto de 10C; 5) Mais um IPP é adicionado para formar um composto de 15C. 6) Esses dois compostos de 15C se fundem formando o esqualeno de 30C; 7) O lanosterol é formado como produto da ciclização do esqualeno; 8) dezenas de reações enzimáticas adicionais encurtam a cadeia de lanosterol e formam o colesterol (27C).

A acetil-CoA no citoplasma é convertida em **malonil-CoA** (3C) pela adição de um CO₂ sob a ação da enzima **acetil-CoA carboxilase** (uma enzima dependente da vitamina biotina).

A partir daí, inicia-se a seqüência de reações coordenadas por um complexo multi-enzimático de seis enzimas (**complexo enzimático ácido graxo sintetase**) que promove a

adição de uma nova molécula de acetil-CoA (2C) ao malonil-coA (3C), formando um produto de 5C.

Em seguida, há a perda de uma molécula de CO₂ gerando o ácido butanóico (4C). A este ácido carboxílico de 4C é adicionado uma nova molécula de malonil-coA (3C) formando um composto de 7C. Uma nova retirada de CO₂ leva à formação do ácido hexanóico (6C). Assim, sucessivamente, há a adição de moléculas de malonil-CoA e retirada imediata de CO₂ promovendo o crescimento da molécula de ácido graxo até a formação do ácido palmítico de 16C.

Estas reações utilizam o NADPH formado na via das pentoses como composto redutor nas reações de síntese de ácidos graxos.

Em animais, o alongamento da molécula de ácido graxo pode ocorrer na presença de um excesso de acetil-CoA sob a ação de enzimas específicas para esse fim (**elongases**) a partir do ácido palmítico. Os ácidos graxos insaturados são formados a partir da ação de enzimas denominadas **dessaturases** que também utilizam o ácido palmítico como substrato, o que faz com os ácidos graxos insaturados produzidos em animais nunca tenha a dupla ligação antes do 16º carbono. Os ácidos graxos que possuem dupla ligação em carbonos de numeração inferior a 16 (p.ex.: ácido aracdônico, ácido linólico) só são produzidos em vegetais e são, por isso, denominados de ácidos graxos essenciais (ver Capítulo 7 sobre estrutura dos lipídios).

Os hepatócitos e os adipócitos são as principais células produtoras de ácidos graxos e triglicerídeos, apesar de a maioria das células possuírem o aparato enzimático para a sua síntese.

A síntese de ácidos graxos é regulada por modulação da atividade da enzima **acetil-CoA carboxilase**, a primeira enzima dessa via metabólica. A insulina promove sua ativação, enquanto que o glucagon e a epinefrina a tornam inativa.

Essa enzima também é inibida alostericamente pelo malonil-CoA e pelo ácido palmítico, produto final da síntese, o que constitui em um importante mecanismo regulador. Uma alimentação rica em ácido palmí-

tico (presente em quase todo tipo de gorduras animais e vegetais) e ausente de carboidratos, portanto, promove a inibição da síntese de ácidos graxos. Pelo contrário, alimentação rica em carboidratos leva a um aumento da síntese de ácidos graxos. A enzima ácido graxo sintase também possui esse tipo de regulação.

A cada três ácidos graxos formados são combinados com uma molécula de glicerol (derivado do gliceraldeído-3-P do metabolismo da glicose) formando o triglicerídeo que é “embalado” em uma VLDL para ser armazenado no adipócito (como visto anteriormente).

Os triglicerídeos são sintetizados no fígado sob ação estimulante da insulina, portanto, quando há uma condição metabólica de excesso de acetil-CoA, como no caso de um excesso de ingestão de carboidratos.

Na Figura 10-23, está representado o processo de síntese dos ácidos graxos.

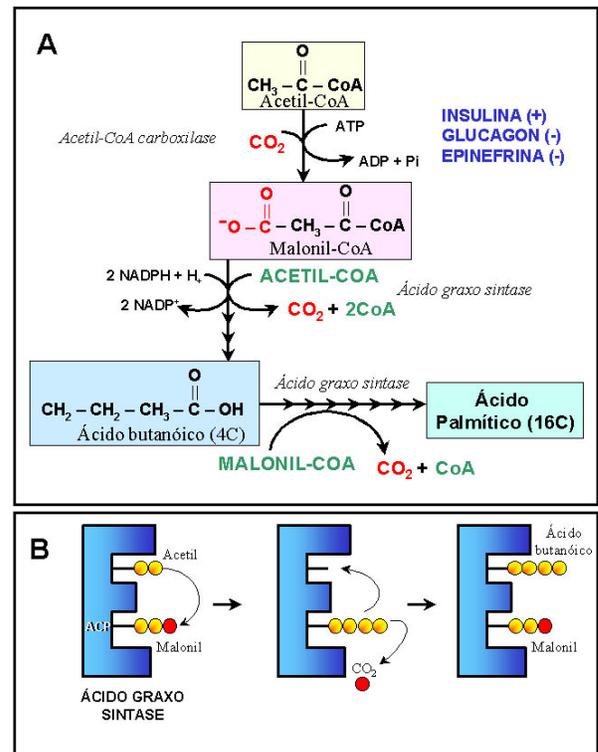


Figura 10-23 - A síntese dos ácidos graxos. A) O processo inicia-se com a formação de malonil-CoA (3C) a partir de acetil-CoA (2C) e a adição de outra acetil-CoA para a formação de ácido butanóico, com perda de CO₂. A partir daí, há o aumento da cadeia pela adição de malonil-CoA e retirada de CO₂ até a formação de ácido palmítico (16C). B) A enzima ácido graxo sintase possui dois domínios: um de ligação ao malonil e outro de alongamento da cadeia.

4. Síntese de Corpos Cetônicos

O acúmulo de acetil-CoA devido ao excesso da β -oxidação, leva à síntese hepática dos **corpos cetônicos** (ácido ceto-acético, ácido β -hidróxi-butírico e acetona). A reação inicial da síntese dos corpos cetônicos é semelhante à da síntese do colesterol, com a condensação de duas moléculas de acetil-CoA através da enzima **tiolase** formando ceto-acetil-CoA, que se condensa com outra molécula de **ceto-acetil-CoA** formando o HMG-CoA (semelhante ao processo inicial de síntese do colesterol).

Na presença de glucagon, epinefrina ou altas quantidades de colesterol citoplasmático ou na ausência de insulina (quando há hipoglicemia ou em pacientes diabéticos) a enzima HMG-CoA redutase (que levaria a síntese de colesterol) está inibida o que promove um acúmulo de HMG-CoA e a ativação da enzima **HMG-CoA liase** que retira uma molécula de acetil-CoA e gera o primeiro corpo cetônico, o **ácido cetoacético**. Parte do ácido cetoacético é convertido, espontaneamente, em **acetona** pela perda de CO_2 , porém a maior parte é convertida em **ácido β -hidróxi-butírico**, através da enzima **3-OH-butirato-desidrogenase**.

Os corpos cetônicos (com exceção da acetona) possuem função energética como substrato da neoglicogênese ou por oxidação direta gerando acetil-CoA através da ação da enzima **tiolforase** que gera acetoacetil-CoA e, posteriormente, a acetil-CoA. Os neurônios utilizam os corpos cetônicos como fonte imediata na ausência de glicose, não utilizando nenhum outro substrato energético.

No jejum prolongado, os corpos cetônicos constituem-se importante fonte energética, entretanto, um excesso sanguíneo leva a uma queda acentuada do pH (cetoacidose) que pode levar ao coma e ao óbito.

A acetona, entretanto, não tem função energética e tende a destruir a bainha mielínica dos neurônios devido seu alto poder solvente de lipídios. A acetona formada pode ser excretada na urina ou pelos pulmões por ser

volátil, o que leva a um hálito cetônico característico.

Em pacientes diabéticos, a ausência de insulina e a alta quantidade de acetil-CoA pela β -oxidação estimulam intensamente a síntese de corpos cetônicos o que leva a sérias complicações patológicas (ver Capítulo 15 sobre Diabetes Mellitus).

O fígado é um grande produtor de corpos cetônicos, embora não tenha a capacidade de gradá-los uma vez que não possui a enzima tiolforase. Desta forma, os hepatócitos liberam para o sangue quase todo os corpos cetônicos circulantes.

Quando se realiza uma dieta isenta de carboidratos e rica em lipídios, há uma inibição da síntese de ácidos graxos e a queda de insulina e aumento de glucagon observado, promove o desvio da grande quantidade de acetil-CoA resultante da β -oxidação dos ácidos graxos para a única via metabólica disponível para o metabolismo energético que é a síntese de corpos cetônicos.

Na figura 10-24 está resumido o processo de síntese de corpos cetônicos.

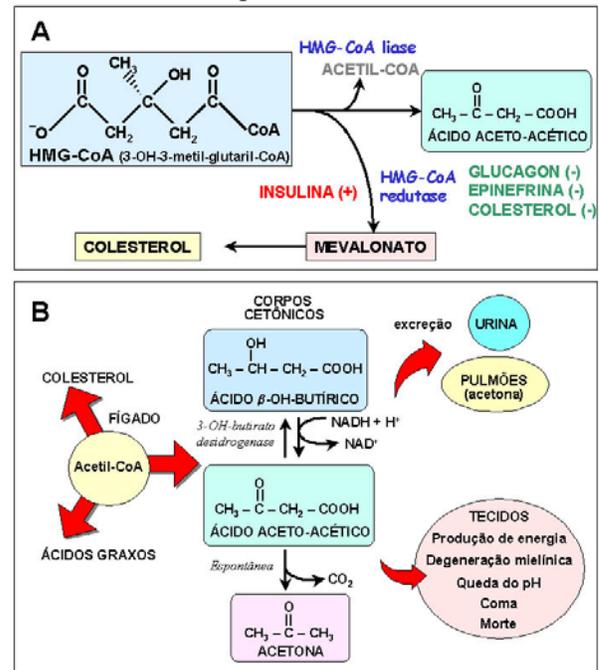


Figura 10-24 - A síntese dos corpos cetônicos. A) As reações iniciais são idênticas às da síntese de colesterol, com exceção da ativação da enzima HMG-CoA liase ao invés da HMG-CoA sintase. B) Os corpos cetônicos fazem parte de uma tríade de desvios metabólicos do excesso de acetil-CoA na mitocôndria e possuem importante função energética sendo, entretanto, danosos ao organismo quando em excesso.

Metabolismo das proteínas

Os aminoácidos são importantes fontes de energia para o metabolismo celular, porém só são utilizados quando há uma extrema carência energética ou durante a prática de exercícios físicos intensos. É importante frisar que os carboidratos e lipídios são melhores produtores de energia e a mobilização de aminoácidos pode estar relacionada a uma degradação de proteínas musculares ou plasmáticas levando o organismo a uma depleção dessas proteínas, o que pode trazer consequências desastrosas como a atrofia muscular e a hipoalbuminemia.

De fato, um dos maiores cuidados entre atletas é o balanceamento nutricional fornecendo fontes de carboidratos e lipídios compatíveis com suas atividades energéticas, além de proteínas suficientes para o gasto energético extra causado pelos exercícios físicos intensos ao qual são submetidos. Esta complementação alimentar de proteínas é fundamental para que haja aminoácidos suficientes para a síntese de novas proteínas musculares, aumentando a massa muscular ao invés de atrofiar os músculos.

O fígado, entretanto, utiliza frequentemente aminoácidos como fonte energética após a alimentação, uma vez que a glicose absorvida é grandemente desviada para a síntese de glicogênio devido à presença de insulina assim como a síntese dos lipídios e não sua degradação. Nos músculos também, a degradação protéica é frequente e o metabolismo energético a custos de aminoácidos faz parte da rotina metabólica diária.

Após a absorção dos nutrientes da alimentação, o fígado recebe uma grande quantidade de aminoácidos constituem uma quantidade enorme de substratos que devem ser metabolizados ao invés de serem simplesmente repassados para o sangue. De fato, a concentração de aminoácidos no plasma sanguíneo é infinitamente menor do que a quantidade de aminoácidos ingeridos e presentes na veia porta-hepática.

O fígado mobiliza esses aminoácidos da alimentação (além dos que sintetiza, os não essenciais) principalmente para a síntese de

proteínas especializadas a serem enviadas para o sangue.

A proteína plasmática presente em maior quantidade é a **albumina** e possui a importante função de transportar nutrientes, ácidos graxos, medicamentos, hormônios e vários compostos de importância para o metabolismo celular. As albuminas são proteínas de baixo peso molecular que podem ser captadas pelas células (principalmente pelos músculos) para fornecerem aminoácidos para o metabolismo energético. Uma outra importante função das albuminas é a manutenção do equilíbrio hídrico do sangue induzindo a passagem da água do líquido intersticial evitando **edema** (acúmulo de água nos tecidos).

Outras proteínas plasmáticas são sintetizadas no fígado e possuem importante função para a coagulação sanguínea. É o caso da protrombina, fibrinogênio, globulina aceleradora da coagulação e fator VII da coagulação. Esta propriedade faz com que o fígado seja um órgão fundamental na manutenção da homeostase sanguínea e uma insuficiência hepática traz consequências graves no metabolismo protéico (ver Capítulo 12 sobre Bioquímica da Função Hepática).

A síntese da uréia, um dos processos metabólicos mais importantes pois impede a formação de amônia tóxica ao organismo a partir do nitrogênio protéico, é exclusiva do fígado o que o torna o centro da degradação de aminoácidos. Os músculos precisam ajustar o consumo de aminoácidos com a exportação da amônia para o fígado na forma dos aminoácidos glutamina ou alanina, em uma via metabólica extremamente importante e que permite o equilíbrio fisiológico, principalmente durante a realização de exercícios físicos, como será discutido adiante.

A seguir, serão apresentadas as principais vias envolvendo os aminoácidos dentro do metabolismo energético.

1. Transaminação e Desaminação

A maior parte do nitrogênio protéico não é utilizada em vias metabólicas nos seres humanos. Sendo assim, a retirada do grupo amina ($-NH_3^+$) dos aminoácidos é o

primeiro passo metabólico, com a formação de **amônia** (NH_3), um composto altamente tóxico que é excretada, na forma de **uréia** pelos rins.

A uréia é a principal forma de excreção do nitrogênio protéico nos vertebrados terrestres. Em aves e répteis, o **ácido úrico** é a principal forma de excreção do nitrogênio protéico; em peixes e larvas de anfíbios a amônia é excretada intacta, permanecendo em alta concentração plasmática em peixes de água salgada para manter o equilíbrio osmótico.

O processo de síntese da uréia envolve enzimas tanto citoplasmáticas quanto mitocondriais. A retirada do grupamento amino é a reação preparatória para essa síntese e é comum em todos os tecidos podendo ocorrer por dois processos diferentes: a **transaminação** e a **desaminação**.

A **transaminação** ou **aminotransferência** é catalisada por enzimas chamadas **transaminases** ou **aminotransferases**, que possuem como co-fator o piridoxal-fosfato, a forma ativa da vitamina B6 (Figura 10-25).

Esse processo metabólico consiste na transferência do grupamento amino para o α -**cetoglutarato** (um cetoácido) formando um outro **cetoácido** e o aminoácido **glutamato**. Dependendo do aminoácido transaminado, haverá um tipo diferente de cetoácido formado (p.e.x.: a alanina forma o piruvato; o aspartato forma o oxalacetato) porém sempre o mesmo aminoácido glutamato é formado. Isso faz com que após essa reação, uma grande quantidade de glutamato seja produzida no fígado.

As principais transaminases do hepatócito são a **transaminase-glutâmico-pirúvica** (TGP) ou **alanina aminotransferase** (ALT) e a **transaminase-glutâmico-oxalacética** (TGO) ou **aspartato aminotransferase** (AST). Essas enzimas transaminam a alanina e o aspartato, respectivamente, possuindo também ação sobre os demais aminoácidos, apesar de haver uma transaminase para cada tipo de aminoácido.

Apenas doze dos vinte aminoácidos têm seu grupamento amino retirado por transaminação (alanina, arginina, asparagina, aspartato, cisteína, isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, triptofano, tirosina e valina). O processo metabólico dos demais aminoácidos (inclusive o glutamato produzido na transaminação) denomina-se **desaminação oxidativa**. Por essa via podem ser degradados inclusive os doze aminoácidos que são transaminados.

Nessa desaminação há a retirada do grupamento amino por enzimas denominadas **aminoácido-oxidases**, que convertem o grupamento amino em **amônia** livre (NH_3), liberando o cetoácido correspondente (Figura 10-26).

Em virtude da grande quantidade de glutamato produzido por transaminação, a via **glutamato-desidrogenase** é a mais freqüente. O acoplamento de transaminação e desaminação por essa via é denominado de **transdesaminação**. A vantagem da transaminação é justamente a formação de glutamato e a necessidade de uma única via metabólica posterior para a degradação dos doze aminoácidos.

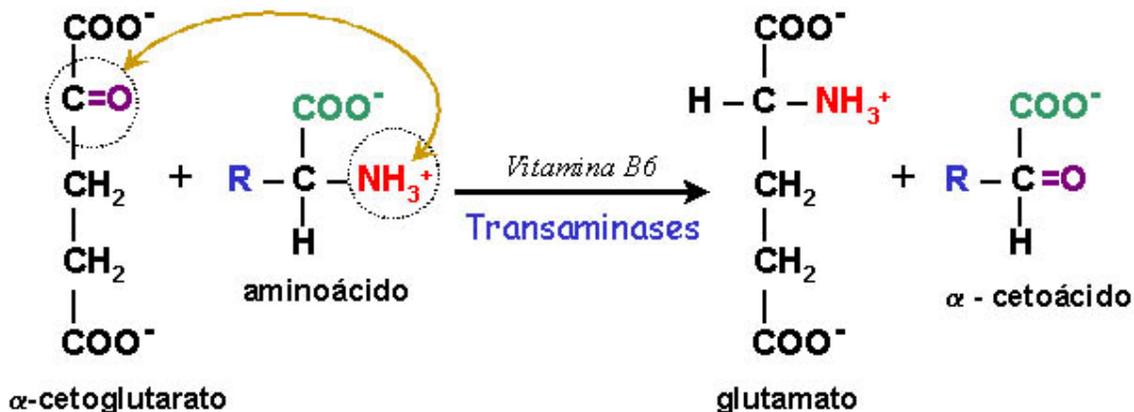


Figura 10-25 - A transaminação dos aminoácidos ocorre com a formação de um único aminoácido, o glutamato, e um cetoácido para cada tipo de aminoácido metabolizado. O receptor de amino é o cetoácido α -cetoglutarato.

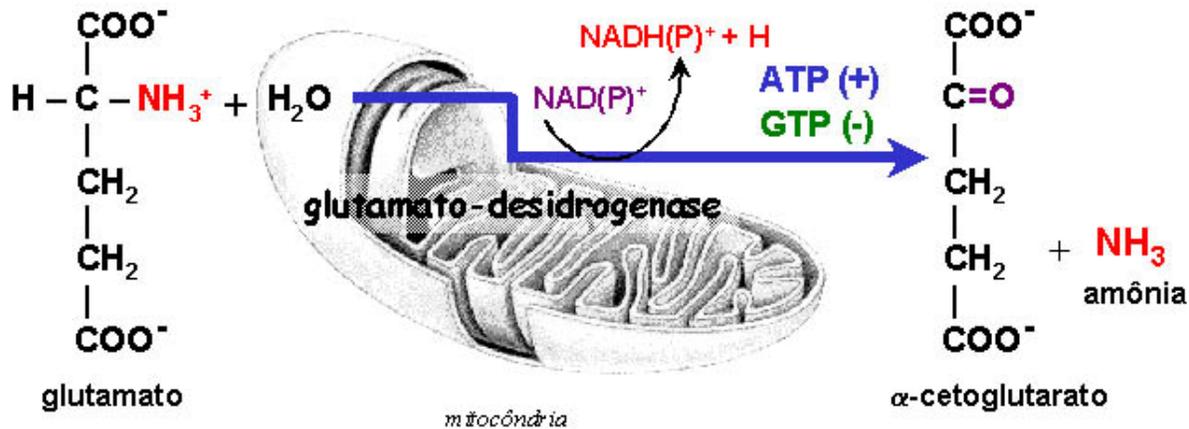


Figura 10-26 - A desaminação oxidativa é um processo intramitocondrial que gera amônia para a síntese de uréia. É estimulada pelo ATP e inibida pelo GTP. O α -cetoglutarato é regenerado para o citoplasma.

A toxicidade da amônia formada impede que esta reação seja citoplasmática pois poderia levar a sua saída para o sangue, o que acarretaria danos sérios, principalmente ao sistema nervoso central. A desaminação oxidativa é uma reação **intramitocondrial** e está acoplada a um processo eficaz de degradação da amônia formada, a **síntese da uréia**.

Essa desaminação mitocondrial, requer NAD^+ ou NADP^+ como receptor dos elétrons da reação. Com a retirada do grupamento amino do aminoácido, há a formação de um cetoácido.

No caso do glutamato (principal aminoácido dessa via) o cetoácido formado é o α -cetoglutarato que sai da mitocôndria e retorna ao citoplasma para servir de substrato para outra reação de transaminação.

O α -cetoglutarato é um intermediário do Ciclo de Krebs e a sua saída da mitocôndria só pode ocorrer quando o Ciclo de Krebs não está ativo, caso contrário ele será utilizado como substrato das enzimas.

Como já vimos anteriormente (Capítulo 9 sobre bioenergética) o ATP é um inibidor alostérico do Ciclo de Krebs. Dessa forma quanto maior a produção de ATP, menos o Ciclo de Krebs "funcionará" e mais a via de regeneração do α -cetoglutarato para o citoplasma estará ativa.

A degradação de aminoácidos por essa via acontece após a alimentação quando a quantidade de glicose é suficiente para gerar o ATP necessário para o hepatócito e, logo, o excesso de ATP produzido estará contribuindo para a degradação dos aminoácidos. De fato, as enzimas da desaminação mitocondrial são estimuladas pelo ATP.

Outro regulador é o GTP, porém atua inibindo as enzimas da desaminação mitocondrial. Como uma molécula de GTP é produzida diretamente no Ciclo de Krebs sem necessitar da cadeia respiratória, a desaminação é inibida quando o Ciclo de Krebs está em atividade. Este fato garante que quando a atividade do Ciclo de Krebs está alta, a via de desaminação dos aminoácidos também tende a diminuir, tornando o α -cetoglutarato disponível para o Ciclo de Krebs garantindo sua continuidade.

Esses dois efeitos, embora antagônicos, são responsáveis por uma perfeita interação entre o metabolismo energético mitocondrial no que diz respeito à degradação de aminoácidos e o Ciclo de Krebs.

Os aminoácidos podem, ainda, serem desaminados espontaneamente no citoplasma sem o auxílio de enzimas. Porém essa desaminação é lenta e só ocorre quando há lesão hepática severa e a diminuição da atividade enzimática nos hepatócitos. Neste caso, a consequência imediata será um aumento da concentração de amônia plasmática, uma vez

que o fígado tornou-se incompetente em sua função de degradar a amônia. Isto será responsável pela principal causa do coma observado em pacientes portadores de insuficiência hepática crônica (ver capítulo 12 sobre Bioquímica da Função Hepática).

2. Síntese da uréia

No fígado, irá haver a produção de grande quantidade de um composto nitrogenado atóxico formado por duas moléculas de amônia, conjugadas com CO_2 - a **uréia**. Esta reação se processa parte no citoplasma e parte na mitocôndria do hepatócito. Na seqüência de reações envolvendo a síntese da uréia (Figura 10-27), há a síntese do aminoácido **arginina** e a participação dos aminoácidos não-codificados **ornitina** e **citrulina**.

A arginina é consumida em grande quantidade na produção de uréia o que faz com que seja necessária na alimentação de animais jovens, em fase de crescimento. Portanto, esse aminoácido apesar de ser sintetizado torna-se essencial na alimentação.

As reações do ciclo da uréia podem ser agrupadas em cinco fases:

- a) **Formação da carbamoil-fosfato:** na mitocôndria, há a hidratação de um CO_2 e uma NH_3 (proveniente da desaminação do glutamato), com o gasto de 2 ATP's;
- b) **Formação da citrulina:** o carbamoil-fosfato doa seu grupamento carbamoil para a ornitina, que penetrou na mitocôndria através de um transportador específico, formando a citrulina. A citrulina sai da mitocôndria pelo mesmo transportador de ornitina;
- c) **Formação do arginino-succinato:** através da incorporação de aspartato na molécula de citrulina, com gasto de 1 ATP, no citoplasma. Esse aspartato é mobilizado da mitocôndria através do mesmo transportador que promove a entrada de glutamato na mitocôndria;
- d) **Síntese da Arginina:** o arginino-succinato sofre quebra, liberando uma molécula de **fumarato** e uma molécula de arginina. Esse fumarato é requerido para o Ciclo de

Krebs, ativando-o, o que faz com que a síntese de uréia e o Ciclo de Krebs "rodem" juntos, via metabólica denominada por muitos de "Bicicleta de Krebs";

- e) **Síntese da Uréia:** a arginina formada sofre ação da enzima **arginase**, que catalisa a síntese da **uréia** e a liberação de uma molécula de ornitina que retorna a mitocôndria, dando início um novo ciclo.

O Ciclo da Uréia pode ser resumido como um processo metabólico hepático que degrada amônia com a participação da ornitina e citrulina como transportadores dessa amônia mitocondrial, favorecendo a liberação da uréia formada no citoplasma.

A "Bicicleta de Krebs" é uma expressão que lembra a integração existente entre o ciclo da uréia e o metabolismo energético, pois não se pode esquecer que a cada amônia liberada significa que um aminoácido foi desaminado e o cetoácido formado está apto para o metabolismo celular. Por essas razões, pode-se perceber a importância dos aminoácidos para o metabolismo energético hepático, além de que a síntese de glicogênio e de ácidos graxos impedem uma maior utilização de carboidratos e lipídios exclusivamente para produzir energia para o hepatócito.

Um problema adicional enfrenta os músculos quando degradam aminoácidos para o metabolismo energético: a amônia formada e necessita ser convertida em uréia mas o músculo não possui as enzimas para essa síntese, somente o fígado. Logo, há a necessidade da formação de um produto não tóxico para transportar a amônia dos tecidos extra-hepáticos para serem metabolizadas até uréia no fígado.

O aminoácido **glutamina** é o principal transportador de amônia plasmática após ser sintetizado a partir da união de glutamato com amônia pela ação da enzima **glutamina-sintetase** existente no músculo (Figura 10-28). O glutamato não atravessa a membrana celular devido sua carga elétrica o que induz.

É uma reação que gasta ATP e produz a glutamina que será degradada até glutamato e amônia no fígado

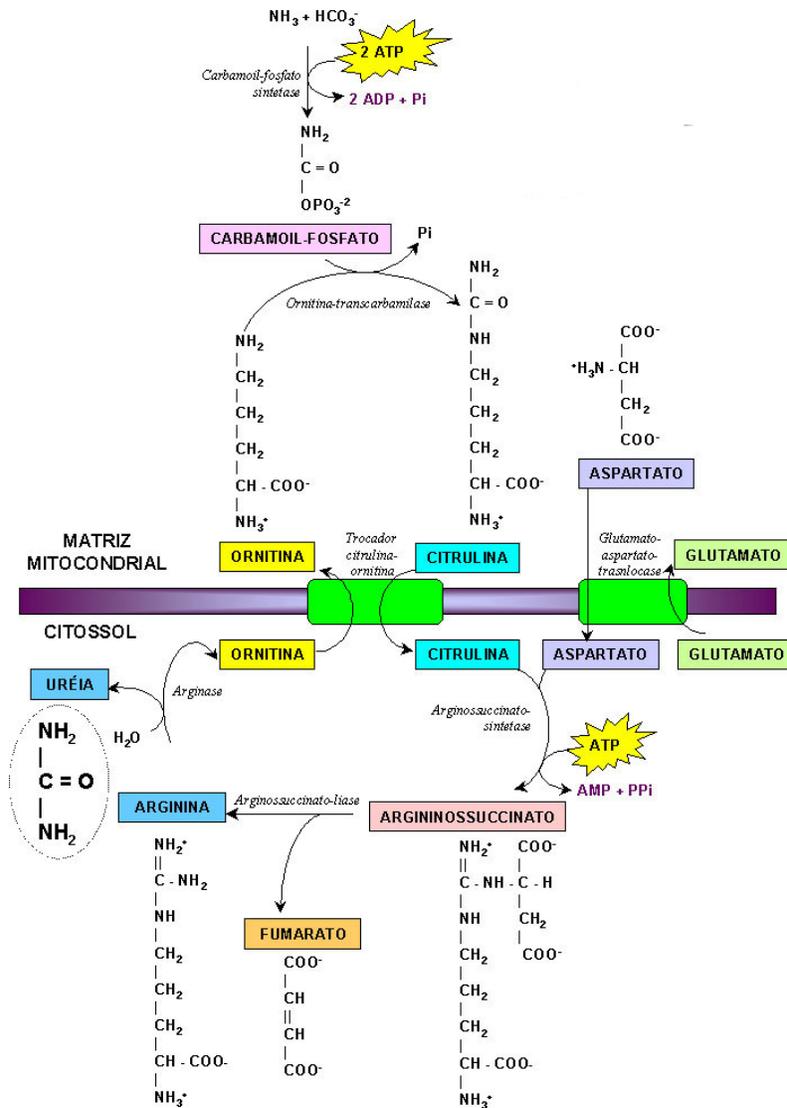


Figura 10-27 - O Ciclo de Uréia é uma via metabólica que se inicia no citoplasma e é concluída no citoplasma. A uréia produzida é quase que totalmente excretada nos rins e serve de bom parâmetro e avaliação da função renal.

A glutamina corresponde a um substrato importante para outros processos de síntese que requerem amônia como a síntese de aminoácidos e o metabolismo do nitrogênio em bactérias. Em seres humanos, ela possui uma função adicional ao funcionar como reguladora do pH em casos de acidoses.

Nesta situação patológica, a concentração de H^+ está perigosamente aumentada e os rins atuam de várias maneiras para inverter essa situação (ver capítulo 17 sobre Equilíbrio Ácido-Básico). Uma das formas de controle do pH é a ativação da enzima **glutaminase** das células justaglomerulares renais que converte a glutamina e glutamato e amônia.

A amônia formada se combina com os íons H^+ formando o íon amônio (NH_4^+) que é excretado na urina conjugado ao cloreto plasmático. Esse processo de excreção de amônia na urina (**amoniúria**) ocorre para diminuir a concentração de H^+ plasmático em casos de acidose. Em pacientes diabéticos existe uma acidose metabólica devido ao excesso de corpos cetônicos produzidos e a amoniúria vai estar particularmente acentuada devido ao aumento da degradação de proteínas musculares, uma vez que o metabolismo dos carboidratos não está ativo devido a falha na ação da insulina.

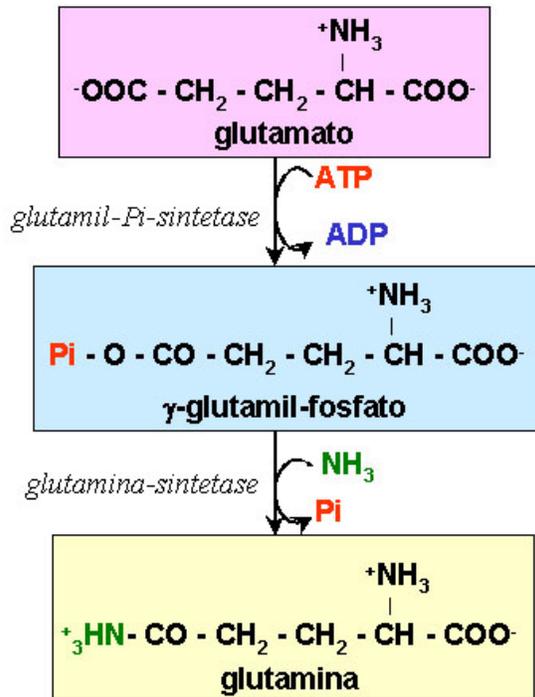


Figura 10-28 - A glutamina é sintetizada nos músculos a partir do glutamato como forma de absorver amônia e transportá-la até o fígado.

O aminoácido **alanina** também é um importante transportador de amônia dos tecidos extra-hepáticos. Entretanto, a sua síntese atende a algumas necessidades musculares específicas e só é observada quando há um intenso trabalho muscular. Nessa situação metabólica, o músculo tende a produzir muito lactato resultante da glicólise anaeróbica, a partir do piruvato (ver Capítulo 9 sobre bioenergética). O lactato pode ser reciclado no fígado gerando nova molécula de glicose na neoglicogênese. Porém, o H^+ liberado para o sangue tende a levar a uma acidose que é uma das causas da fadiga muscular. Da mesma forma, o músculo está degradando muitos aminoácidos e aumentando perigosamente a amônia celular.

Assim sendo, a síntese da alanina resolve estes dois problemas de uma só vez, já que são necessários piruvato e amônia para sintetizar uma molécula de alanina (Figura 10-29). A alanina é captada pelo fígado e degradada gerando novamente o piruvato, que é reciclado na neoglicogênese fornecendo novas moléculas de glicose, garantindo um "segundo fôlego" para o praticante de exercício físico intenso com uma nova carga de glicose

plasmática para o metabolismo energético. Esta via metabólica denominada de **Ciclo da glicose-alanina** é um importante meio de economia energética do organismo.

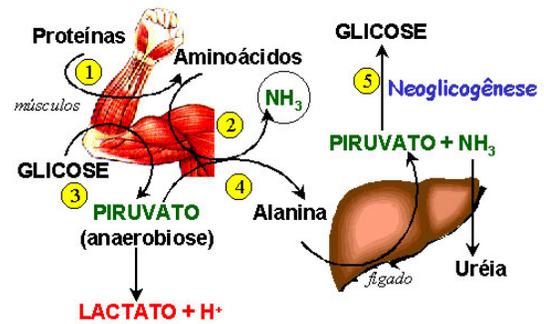


Figura 10-29 - A síntese muscular de alanina. 1) No exercício físico intenso há o consumo aumentado de proteínas para o metabolismo energético; 2) a amônia muscular tende a aumentar em resposta ao aumento do metabolismo energético dos aminoácidos; 3) o metabolismo anaeróbico da glicose também gera altas concentrações de lactato e H^+ para o sangue. 4) a síntese de alanina conjuga a amônia com o piruvato resolvendo os dois problemas metabólicos. 5) a alanina é metabolizada no fígado e gera mais glicose para o metabolismo energético através da neoglicogênese.

3. Catabolismo da cadeia carbonada dos aminoácidos

Diariamente, há um renovação de cerca de 400g de proteínas o que significa que, durante o dia, cerca de 400g de proteínas são degradadas porém a mesma quantidade está sendo produzida o que garante uma certa estabilidade na quantidade total de proteínas no organismo.

Esta taxa de renovação, denominada de taxa de *turnover*, implica na necessidade da obtenção de aminoácidos essenciais na dieta além da síntese dos não-essenciais.

Apenas 11 aminoácidos são sintetizados no organismo, porém a **arginina** é sintetizada, mas totalmente consumida no ciclo da uréia o que a torna indispensável na dieta e a **cisteína** e a **tirosina** são sintetizadas a partir da **metionina** e **fenilalanina** (aminoácidos essenciais) o que faz com somente nove aminoácidos sejam **verdadeiramente** independentes da alimentação.

Entretanto, uma alimentação completa apresenta uma grande quantidade de aminoácidos, sejam essenciais ou não ou que favore-

ce a uma absorção de aminoácidos sempre acima das necessidades diárias.

Desta forma, o catabolismo dos aminoácidos é intenso após uma refeição protéica, permitindo a formação de grande quantidade de uréia, resultado da degradação do grupamento amino, como visto anteriormente. O cetoácido resultado das reações de transaminação e desaminação., entretanto, possuem diversos destinos metabólicos que podem ser reunidos em dois grandes grupos: 1) os cetogênicos; e 2) os glicogênicos.

O primeiro grupo (os cetogênicos) corresponde aos que são degradados em acetil-CoA (de forma direta ou indireta, na forma de acetoacetil-CoA) e fornecem energia de forma imediata no ciclo de Krebs. São fenilalanina, tirosina, triptofano, lisina, isoleucina, treonina e leucina.

A acetil-CoA produzida pelos aminoácidos cetogênicos não pode ser convertida em glicose, o que vai induzir à entrada obrigatória no Ciclo de Krebs para a produção de energia. Desta forma, um excesso de catabolismo destes aminoácidos levará a desvio para a produção de ácidos graxos, colesterol e corpos cetônicos de maneira idêntica a um excesso de acetil-CoA oriundo do catabolismo de carboidratos e lipídios. Os demais fornecem intermediários do ciclo de Krebs (oxalacetato, fumarato, succinil-CoA e α -cetoglutarato) bem como o piruvato. Esses produtos podem ser convertidos em glicose através da neoglicogênese e, assim, produzirem energia para as reações metabólicas celulares, sendo os aminoácidos que os produzem chamados de glicogênicos por este motivo. Alguns aminoácidos cetogênicos (fenilalanina, tirosina, triptofano, isoleucina e teronina) podem ser utilizados como substratos para a neoglicogênese além de produzir acetil-CoA, sendo chamados, portanto, de glicocetogênicos.

A Figura 10-30 demonstra a entrada esquemática dos aminoácidos no metabolismo energético.

4. Síntese dos aminoácidos

Os aminoácidos essenciais são sintetizados nos vegetais através do aproveitamento do nitrogênio na forma de NH_4^+ , nitritos e nitratos presentes no solo e que são produzidos por bactérias capazes de fixar o N_2 atmosférico convertendo-os nos produtos nitrogenados absorvidos pelos vegetais (p.ex.: *Azobacter sp.* e *Rhizobium sp.* fixam o N_2 ; *Nitrosomonas sp.* e *Nitrobacter sp.* convertem amônia em nitritos e nitratos).

A decomposição bacteriana de animais mortos gera NH_4^+ , nitritos e nitratos, diretamente da degradação dos aminoácidos, independente da captação do N_2 atmosférico.

Os aminoácidos não-essenciais são sintetizados nos animais a partir de moléculas precursoras que fazem parte do ciclo de Krebs e do grupamento amino proveniente da degradação de aminoácidos. Como vários aminoácidos fornecem intermediários do ciclo de Krebs, há uma interdependência entre os aminoácidos no seu processo de degradação e síntese.

O glutamato, glutamina e prolina são sintetizados a partir do α -cetoglutarato. O aspartato é sintetizado a partir do oxalacetato (recebendo o grupo amino do glutamato). A asparagina é sintetizada a partir do aspartato e o grupo amino provém da glutamina. A alanina é formada da transaminação do piruvato e glutamato. A serina é sintetizada a partir do gliceraldeído-3-fosfato, sendo que a glicina e a cisteína derivam da serina. A arginina é utilizada durante o ciclo da uréia. A tirosina origina-se a partir da hidroxilação da fenilalanina.

A Figura 10-31 representa a esquematização das rotas de síntese dos aminoácidos.

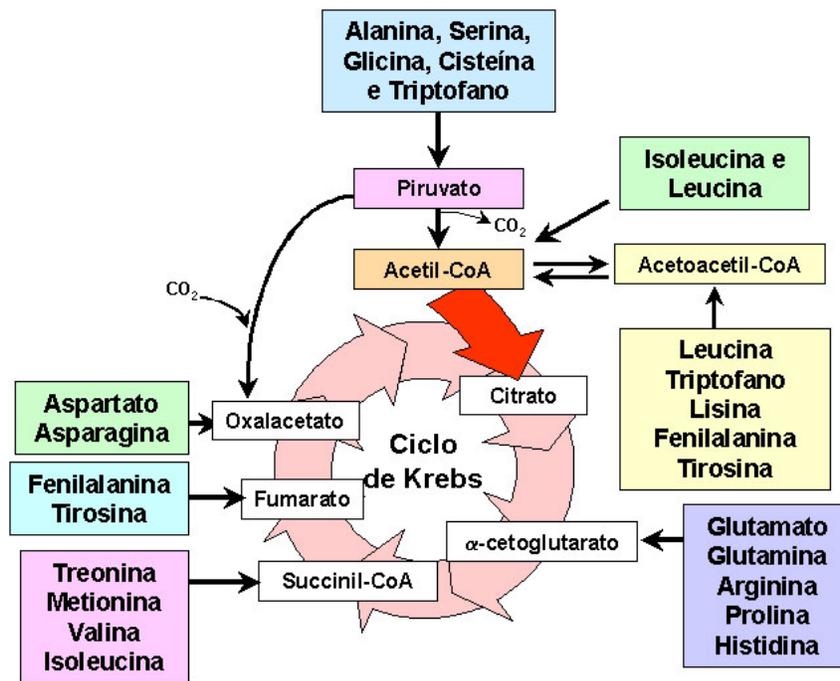


Figura 10-30 - Visão geral do metabolismo dos aminoácidos.

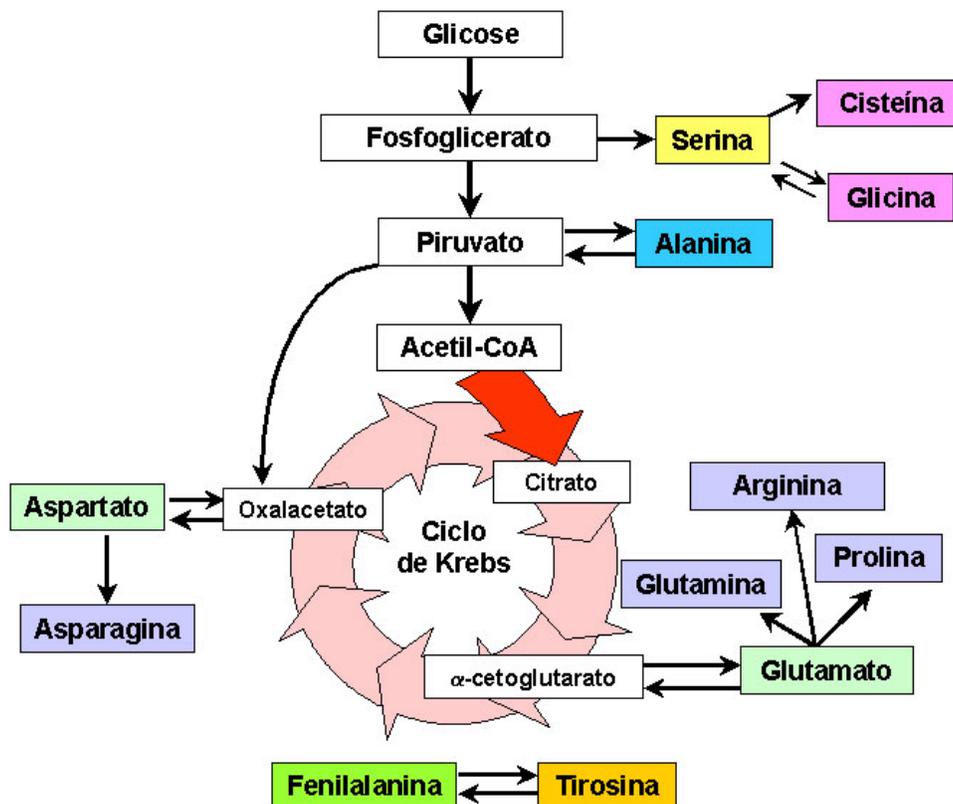


Figura 10-31 - Visão geral da síntese dos aminoácidos não-essenciais.

Metabolismo das Bases Nitrogenadas

1. Metabolismo das purinas

As bases nitrogenadas derivadas da purina (adenina e guanina) são sintetizadas a partir de um composto denominado **5-fosforribosil-1-pirofosfato** (PRPP) que corresponde a uma molécula de ribose-5-fosfato (formada no atalho das pentoses, durante o metabolismo da glicose) adicionada de dois fosfatos inorgânicos (pirofosfato) no carbono 1 da ribose pela ação da enzima PRPP-sintetase.

O produto final desta via glicolítica, gera um nucleotídeo denominado **inosina-monofosfato** (IMP) que é a base para a síntese de **adenosina-monofosfato** (AMP) e **guanosina-monofosfato** (GMP). Esses nucleotídeos vão ser convertidos em ATP e GTP que são utilizados na síntese de DNA ou em funções energéticas celulares.

Participam desta síntese a vitamina **ácido fólico**, que fornece dois carbono para fechar a molécula de inosina que é “montada” na ribose-5-fosfato a partir dos aminoácidos não-essenciais **glicina, glutamina e aspartato** e CO₂.

As enzimas que catalizam estas reações estão presentes no citoplasma da maioria das células, permitindo uma independência celular quanto à necessidade da ingestão de ácidos nucléicos na dieta. Uma exceção importante está na incapacidade da hemácia de sintetizar purinas devido não possuir as enzimas necessárias, apesar da grande quantidade de ribose-5-fosfato produzida no desvio das pentoses da via glicolítica.

Devido a esta independência celular na síntese de purinas, a adenina e a guanina proveniente da alimentação são transformadas, ainda na mucosa intestinal, em **ácido úrico** que é excretado nas fezes sem que haja a sua absorção intestinal. Porém, esta não é a via principal de excreção, uma vez que grande parte das purinas é absorvida para o fígado e, este sim, encarrega-se de convertê-las em ácido úrico e excretá-lo por via urinária. Des-

ta forma, um excesso de adenina e guanina na alimentação resultará em uma excreção aumentada de ácidos nucléicos, da mesma forma que uma alimentação em excesso dos aminoácidos envolvido na síntese de purinas.

As purinas são convertidas em **xantina** (a adenina, primeiramente em hipoxantina) que é convertida em ácido úrico pela enzima **xantina-oxidase**.

Uma enzima reguladora, a **hipoxantina-guanina-fosforribosiltransferase** (HGPRTase) catalisa a recuperação de adenina e hipoxantina (derivada da guanina) para uma síntese “de novo” de IMP, GMP ou AMP, conforme haja a necessidade celular para a síntese de ácidos nucléicos ou outras funções dos nucleotídeos.

O acúmulo de ácido úrico no organismo (**hiperuricemia**) é observado quando há uma hiperatividade enzimática da enzima PRPP-sintetase ou por diminuição da atividade da HGPRTase, levando, em ambos os casos, a uma superprodução de ácido úrico.

Uma outra condição patológica de hiperuricemia é observada quando há a diminuição da atividade da enzima **glicose-6-fosfatase** que possibilita a liberação de glicose do fígado para o sangue, fazendo com que, desta forma, haja um excesso de glicose hepática aumentando a síntese de pentoses e, conseqüentemente, a de ácido úrico.

Todas essas alterações enzimáticas são hereditárias e caracterizam uma doença metabólica denominada **gota**, que caracteriza-se por acúmulo de ácido úrico nas articulações levando a um processo inflamatório doloroso que é reversível mediante a diminuição de alimentação rica em material celular (carnes vermelhas, principalmente) e uso de medicamentos bloqueadores da síntese de ácido úrico.

2. Metabolismo das pirimidinas

A partir dos aminoácidos não-essenciais **glutamina** e **aspartato**, há a síntese de **ácido orótico**, que combina-se com o PRPP fornecendo a **uridina-monofosfato** (UMP) formando, posteriormente, UTP que pode ser convertido em **citidina-monofostato**

(CTP) pela adição de glutamina. O UMP pode ser convertido em **timidina-monofosfato** (TMP) e este em TTP. Esses nucleotídeos são utilizados para a síntese das bases nitrogenadas uracila, citosina e timina, que fazem parte das moléculas de DNA e RNA, ou são utilizadas no metabolismo energético celular.

Da mesma forma que as purinas, essas bases nitrogenadas possuem uma independência celular de substratos alimentares (a exceção da ribose, é claro, considerando-se sua origem a partir da glicose).

Assim sendo, a ingestão de pirimidinas na alimentação leva à conversão hepática de **citocina** e **uracila** no aminoácido não-codificado β -alanina, um importante precursor da coenzima-A junto com a vitamina ácido pantotênico, enquanto que a **timina** é convertida em β -amino-iso-butirato, um precursor da neoglicogênese e que pode ser excretada na urina.

Na Figura 10- 32 está representado um esquema relatando as principais vias do metabolismo das bases nitrogenadas.

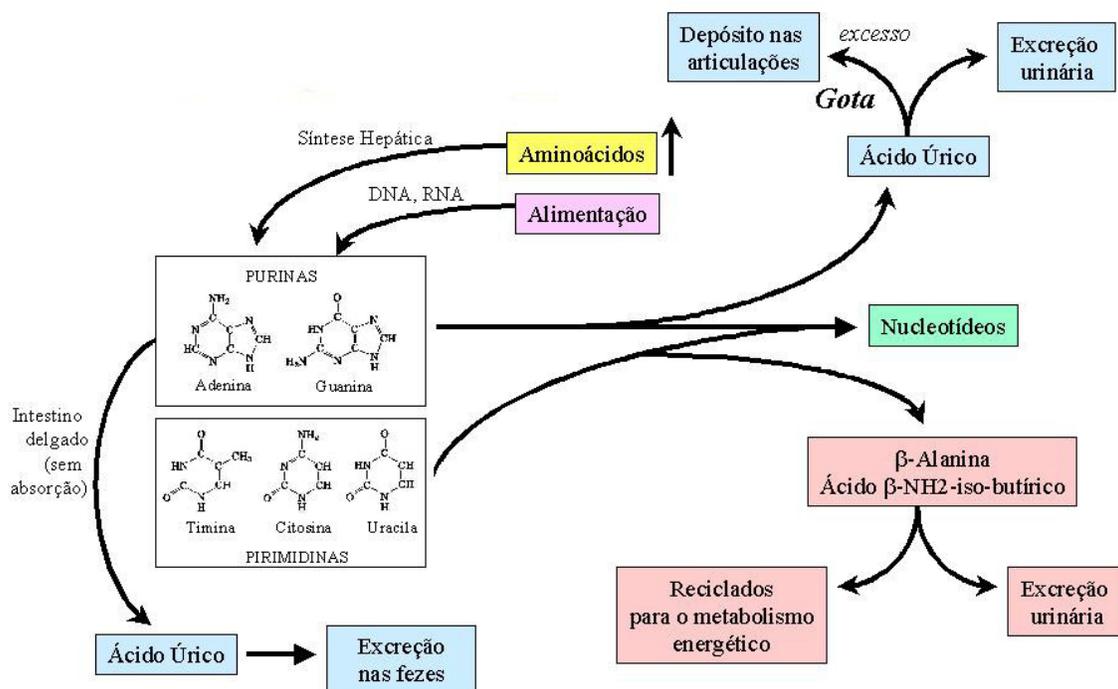


Figura 10-32 - O Metabolismo das bases nitrogenadas está relacionado com a formação de produtos de excreção (ácido úrico) ou de intermediários metabólicos (β -alanina e ácido β -NH₂-isobutírico).

O que é vida?

Ricardo Vieira

Professor de Bioquímica - Universidade Federal do Pará

E-mail: jrvieira@ufpa.br

O conceito de vida não é privativo da ciência, da mesma forma que não pode a religião ou a filosofia requerer a propriedade deste conceito. Em ciência, instrumento de estudo dos fenômenos naturais abordados neste Curso, não importa saber o que é a vida como um conceito pronto, mas sim estudar e discutir o que é a vida, baseado em evidências comprovadas e reproduzíveis pelos cientistas.

Muitos cientistas pensaram nisto antes de se chegar ao estágio atual do conhecimento científico, por isso é indispensável saber o papel desempenhado por esses grandes nomes dentro desse contexto em que a vida também está inserida, a ciência.

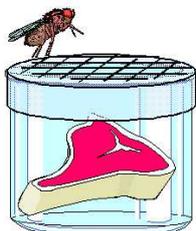
A evolução científica do conceito de vida Idade Média (Século V a XV)

- Poder religioso-medieval estabelece uma limitação criativa de ordem política e cultural ("1000 anos de escuridão").
- O imaginário popular adota conceitos excêntricos para a origem da vida.
- A abiogênese torna-se a única forma não-bíblica de se explicar a origem da vida a ser disseminada na antiguidade clássica.
- A igreja católica impõe à força seus conceitos, porém ignora a abiogênese, talvez por achá-la inofensiva ou por considerar que o poder divino criativo possa continuar se manifestando.



Cavaleiro Medieval

A explosão de idéias do Século XVI a XVIII



Experimento de Redi

- A teoria da geração espontânea ganha grande divulgação dentre os meios científicos.
- Francesco Redi (1621 - 1697) combate a teoria da geração espontânea provando que as moscas precisam que outras moscas para que surjam novas moscas.
- Lazaro Spalanzani (1729 - 1799) demonstra que é necessário contato com o ar para que se apodreça material orgânico fervido previamente sugerindo a natureza biológica da putrefação dependente de fatores não visíveis presentes no ar.

- Em 1543, Nicolau Copérnico contradiz a Igreja e demonstra que a Terra não é o centro do Universo.
- Isaac Newton, em 1665, estabelece a lei da gravitação universal, (fundamento das modernas teorias da origem do universo).
- Lineu cria o sistema de classificação das espécies em 1735.
- Lavoisier (1743-1794) cria a química moderna (da bioquímica atual).
- Em 1618, os alemães dominam a tecnologia de aparelhos ópticos e inventam o primeiro microscópio.
- Robert Hooke visualiza a célula em 1665.
- Leeuwenhoek, em 1674, descobre a existência dos espermatozoides e em 1683 demonstra a existência de vida microscópica.



Isaac Newton



Antoine-Laurent Lavoisier

- Em 1637 e 1641, René Decartes publica o trabalho que fundamenta o pensamento científico atual, criando o método científico que se baseia na observação e comprovação seguindo rígida interpretação e teorização do fenômeno observado.
- Durante esse período, muitos cientistas tiveram que abdicar de seus pensamentos para não serem condenados em tribunais da inquisição.



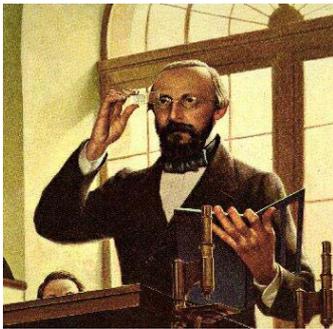
René Descartes

Século XIX: a ciência emite conceitos de vida

- Theodore Schwan & Matthias Schleiden, em 1839, estabelecem os fundamentos da Teoria Celular: todos organismos são feitos de células; as células são as unidades básicas da organização dos seres vivos; cada célula desenvolve-se e funciona de maneira independente.
- Robert Virchow, em 1850, consolida a teoria celular: "*omnis cellulae e cellulae*": toda célula provém de uma célula pré-existente.

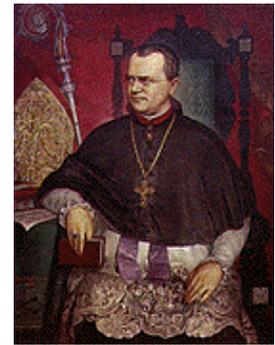


Schwan & Schleiden

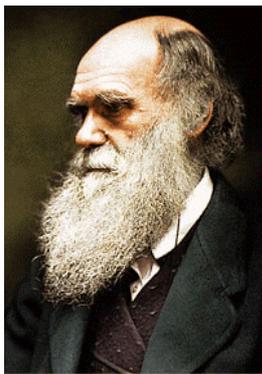


Robert Virchow

- Em 1858 o monge austríaco Gregor Mendel publica seus experimentos de hibridização com ervilhas realizados no jardim de seu mosteiro e conclui existirem fatores hereditários que segregam independentemente nas gerações. Seu trabalho não é compreendido pela comunidade científica devido ao complicado fundamento matemático e a não existência de evidências de quais seriam esses fatores hereditários.



Gregor Mendel



Charles Darwin & Alfred Wallace



- Thomas Henry Huxley (apelidado de o "bulldog de Darwin" devido a sua rígida defesa às teorias da evolução) descreve uma forma protoplasmática primitiva encontrada no lodo de fossas abissais

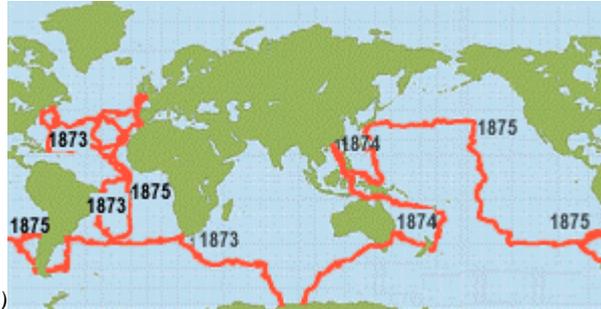
- Charles Darwin e Alfred Wallace, em 1858, elaboram, independentemente, a teoria da Evolução por Seleção Natural. Darwin publica o livro "A origem das espécies" após 30 anos de estudos e reflexões.
- Em 1866, Ernest Heinrich Haeckel publica seus trabalhos estabelecendo o Reino Monera para as bactérias e afirmando que as células primordiais no início dos tempos eram agrupamentos protoplasmáticos (a quem denomina *Protamoeba primitiva*) e que sua formação ainda ocorre em locais onde não há competição entre os seres primitivos e os mais avançados. Era o ressurgimento da abiogênese em formato científico adequado às modernas teorias da evolução.

conservado em álcool e a denomina *Bathybius haeckelei* em homenagem a Haeckel.

- Tem início a "onda *Bathybius*" que trás à tona a discussão da possibilidade da vida poder surgir espontaneamente a partir de reações químicas.
- Em 1873 tem início a Expedição Challenger que viaja pelo mundo colhendo e analisando amostras do lodo de fossas abissais ainda frescas e comprova que *Bathybius* não passa de um artefato produzido pelo álcool utilizado como conservante por Huxley.

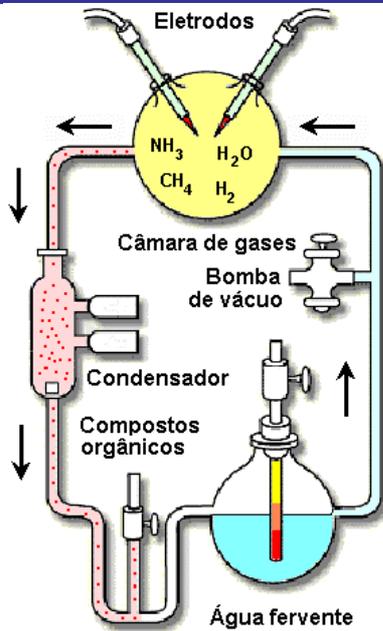


Thomas Henry Huxley

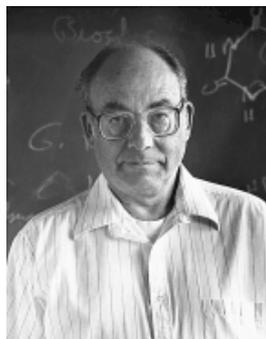


A expedição Challenger (1873 - 1875)

O Século XX: abiogênese, de novo



Aparato de Miller

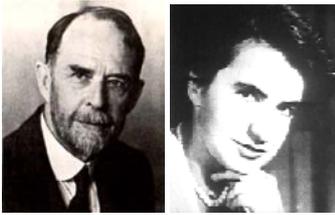


Stanley Miller

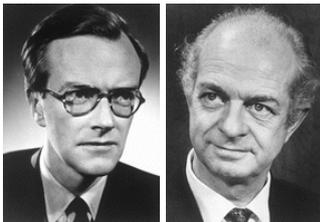
- Uma nova abordagem para a abiogênese surgiu da demonstração que a vida é fruto espontâneo de reações químicas a partir de elementos químicos fundamentais existentes em todo o universo conhecido.
- Em 1929, John Haldane e Aleksander Oparin comprovaram que a atmosfera primitiva não continha O_2 mas elementos que hoje não mais existem na atmosfera atual.
- Harold C. Urey, em 1952, sugeriu que a atmosfera primitiva tinha a mesma composição da poeira estelar (H_2 , NH_3 , CH_4 , H_2O).
- Em 1953, Stanley Miller, estudante de Urey, criou um aparato para síntese de compostos orgânicos a partir de elementos da atmosfera primitiva.

- Esta teoria de que a vida surgiu de uma "sopa" cósmica única, é radicalmente diferente da teoria de Haeckel, pois é necessário que haja condições atmosféricas próprias (que não mais existem) e um tempo de bilhões de anos até um estágio de organização molecular que suporte a vida.
- Somente com a utilização do Carbono-14 como método de datação é que se pôde estabelecer a idade tempo provável da Terra (cerca de 4,5 bilhões de anos) e esta teoria ganhou força dentro do meio científico.

O Século XX: o século da genética



Thomas Morgan Rosalind Franklin



Maurice Wilkens Linus Pauling



Watson & Crick

- O século XX trás como sua marca registrada o surgimento e incrível expansão de uma ciência revolucionária que ousa entender e até recriar a vida: a genética.
- Em 1900, de Vries, Correns e Tschermak redescobrem o trabalho de Mendel.
- Alfred Sturtevant e Thomas Morgan iniciam os mesmos estudos de Mendel utilizando com *Drosophila melanogaster* como modelo e chegam às mesmas conclusões mas sugerem a existência de ligação gênica.
- O mapeamento gênico torna-se possível através de estudos de ligação, antes mesmo de ser decifrado o código genético.
- Após a comprovação de que o DNA é o material genético em 1944 por Avery, vários cientistas iniciam uma corrida para a descoberta da estrutura de sua molécula.
- Linus Pauling estuda a composição química. Rosalind Franklin e Maurice Wilkens descrevem a forma em dupla hélice. Mas é o trabalho teórico de Watson e Crick que em 1953 estabelece a estrutura da molécula de DNA e abre caminho para a moderna genética molecular que revoluciona a ciência criando novos paradigmas e levantando questões éticas.
- A vida passa a ser estudada em experimentos que vão do seqüenciamento do genoma de vários seres vivos, inclusive o homem até a clonagem de organismos complexos, inclusive o homem.

E o Século XXI?: uma opinião pessoal

- As técnicas de biologia molecular prometem ser a ferramenta ideal para desvendar o funcionamento dos organismos vivos.
- Bem distante de se estabelecer novos conceitos para a vida, a ciência deve dissecar as moléculas e encontrar as respostas para descrever como a vida funciona. A molécula alvo é o DNA de onde se pode tirar conclusões baseadas na simples decodificação de sua seqüência e o estudo de como o gene se expressa e regula.
- O estudo do genoma favorecerá a compreensão de vários mecanismos biológicos e os métodos de clonagem e de DNA recombinante trarão a comprovação das novas teorias formuladas.
- A ciência deve superar os problemas éticos para se estabelecer como testemunha de como a vida é gerada.
- A busca incessante por vida extraterrestre em planetas vizinhos, como Marte, deve prosseguir por todo este século. Os resultados são imprevisíveis, podendo modificar drasticamente os conceitos atuais de vida, ou, simplesmente, mantê-los.
- Entretanto, independente do progresso científico, a resposta para a pergunta "**o que é vida?**" continuará com suas múltiplas respostas. A diferença é que a resposta da ciência deverá estar bem mais fundamentada.
- E você? Já pensou sobre o assunto?

A origem das biomoléculas

Ricardo Vieira

Professor de Bioquímica - Universidade Federal do Pará

E-mail: jrvieira@ufpa.br

A pesar de frágil as evidências em virtude do insignificante número de planetas estudados (somente a Terra!), a vida terrestre se apóia na existência de água disponível em estado líquido, além de temperatura compatível com o estágio de vida e de elementos químicos essenciais como hidrogênio, carbono, nitrogênio, oxigênio, sódio, magnésio, fósforo, enxofre, potássio, cálcio, manganês, ferro e zinco (Tabela 1).

O clássico experimento de Miller (Figura 1), em 1953, demonstrou a possibilidade da formação de aminoácidos, carboidratos e nucleotídeos a partir de uma mistura de gás hidrogênio (H₂), gás nitrogênio (N₂), dióxido de carbono (CO₂), água (H₂O), amônia (NH₃) e metano (CH₄) submetido a descargas elétricas e radiação ultravioleta em temperatura compatível à provável atmosfera primitiva terrestre. Esta suposta composição química mínima é perfeitamente plausível uma vez que tais componentes encontram-se disponíveis em todo o universo e, certamente, deveriam estar presentes em uma Terra “recém-nascida” (há torno de 4,6 bilhões de idade), conforme sugerido por John Haldane e Aleksander Oparin em 1929 e por Harold C. Urey em 1953.

É claro que qualquer outro composto químico presente poderia favorecer combinações diferentes gerando produtos ainda mais complexos. O tempo de cerca de um bilhão de anos disponível desde a origem da Terra até o surgimento da vida, há 3,4 bilhões de anos, permitiram que, aleatoriamente, tais compostos complexos fossem formados.

Desta forma, é viável a teoria que se uma molécula orgânica formada espontaneamente tivesse a propriedade de catalisar a síntese de outras moléculas idênticas, em algum momento o agrupamento de tais moléculas poderia levar à reprodução de um conjunto de moléculas com características químicas semelhantes, onde o equilíbrio químico formado entre seu processo de síntese e degradação favoreceria a multiplicação de tais conjuntos de moléculas.

Tabela 1 – Abundância relativa de elementos importantes para a vida em número de átomos por cada 1.000 átomos de carbono.

Elemento	Abundância em organismos	Abundância no universo
Hidrogênio	80 – 250	10.000.000
Carbono	1.000	1.000
Nitrogênio	60 – 300	1.600
Oxigênio	500 – 800	5.000
Sódio	10 – 20	12
Magnésio	2- 8	200
Fósforo	8 – 50	3
Enxofre	4 – 20	80
Potássio	6 – 40	0,6
Cálcio	24 – 50	10
Manganês	0,25 – 0,8	1,6
Ferro	0,25 – 0,8	100
Zinco	0,1 – 0,4	0,12

(Fonte: CAMPBELL, 1995 – p.13)

O experimento de Miller não se resume em demonstrar a formação de compostos orgânicos apenas de maneira aleatória, pois, se assim fosse, a probabilidade de as reações químicas se repetissem de maneira ordenada (como ocorre nos seres vivos) seria quase zero tendo em vista as inúmeras combinações possíveis entre os átomos e moléculas. Mas, diferente de uma reação apenas aleatória, as moléculas primordiais têm que adquirir propriedades de **autocatálise** para poder justificar o prosseguimento das reações químicas em um sentido: o da vida.

Parece difícil acreditar que algo tão simples advindo de um evento aleatório poderia gerar a diversidade de vida de nosso planeta. De fato, os nucleotídeos podem se polimerizar de maneira espontânea em reações químicas em condições semelhantes à atmosfera primitiva, porém os aminoácidos não têm essa capacidade nem os carboidratos.

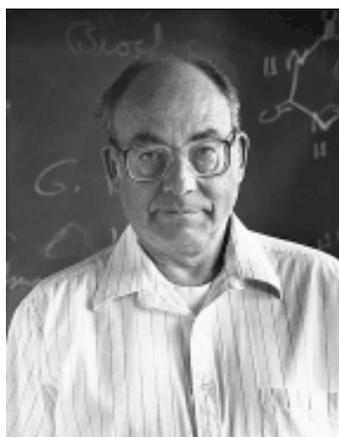
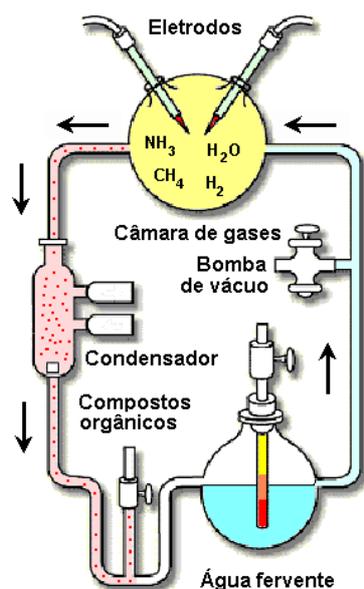


Figura 1 – O aparato de Miller: vapor d'água misturado a componentes elementares no universo sob a ação de descargas elétricas permite a síntese de moléculas orgânicas. Acima, o Dr. Stanley Miller

Fonte: <http://www.accessexcellence.com/WN/NM/miller.html>

Hoje, sabe-se que as proteínas com função enzimática são os catalisadores biológicos por excelência e a impossibilidade de serem sintetizadas em condições primitivas é um empecilho para a elaboração de uma teoria que abrangesse a origem de um sistema biológico na ausência de tais enzimas. Somente com a descoberta, em 1982, de que a enzima **peptidil-transferase** (que catalisa a ligação peptídica que ocorre nos ribossomos durante a síntese protéica) é uma molécula de RNA, pôde-se formular teorias mais consistentes. Vários estudos demonstram a presença dessas moléculas de RNA em outros sistemas biológicos (p.ex.: em retrovírus), como reguladores do processo de *splicing* da molécula de RNAm ou até mesmo sintetizadas em laboratório com propriedades catalíticas, sendo denominadas de **ribozimas** (Tabela 2).

Tabela 2 – Reações catalisadas por ribozimas

Reação	Ribozima
Formação de ligações peptídicas	RNA ribossomal
Clivagem de RNA, ligação de RNA	Auto <i>splicing</i> de RNA
Clivagem de DNA	
<i>Splicing</i> de RNA	RNA sintetizado <i>in vitro</i>
Ligação de DNA	
Polimerização, fosforilação, aminoacilação e alquilação de RNA	
Isomerização (ligação C-C)	

(Adaptado de ALBERTS *et al.*, 1999, p. 241)

Com os trabalhos de Sidney Altman, Thomas Cech, Francis Crick e Leslie Orgel (todos ganhadores de Prêmio Nobel), tornou-se plausível a teoria de que uma molécula formada espontaneamente em condições primitivas pudesse autocatalisar a síntese de outras moléculas, agora não mais randomicamente, mas organizadamente e de maneira idêntica (CECH, 1986; LEWIN, 1986).

Este mundo pré-biótico onde uma espécie de “sopa orgânica” fervilhava ao calor e descargas elétricas e novas macromoléculas complexas que se multiplicavam, agora poderia abrigar um sistema químico estável, assim que as condições de reação química da Terra permitissem (Figura 2).

Provavelmente, vários milhões de anos se passaram até a organização de um sistema micelar onde partículas lipídicas pudessem proporcionar um microambiente aquoso diferente do meio externo e as reações químicas pudessem ocorrer de maneira organizada.

De fato, a propriedade apolar dos lipídios é um trunfo especial neste período pré-biótico, onde as moléculas podem experimentar uma sorte de combinações que se adaptam ou não às condições ambientais.

Assim, as moléculas de RNA que conseguem catalisar sua própria síntese podem ser selecionadas nessas microesferas lipídicas e se multiplicar em bloco, uma protocélula.

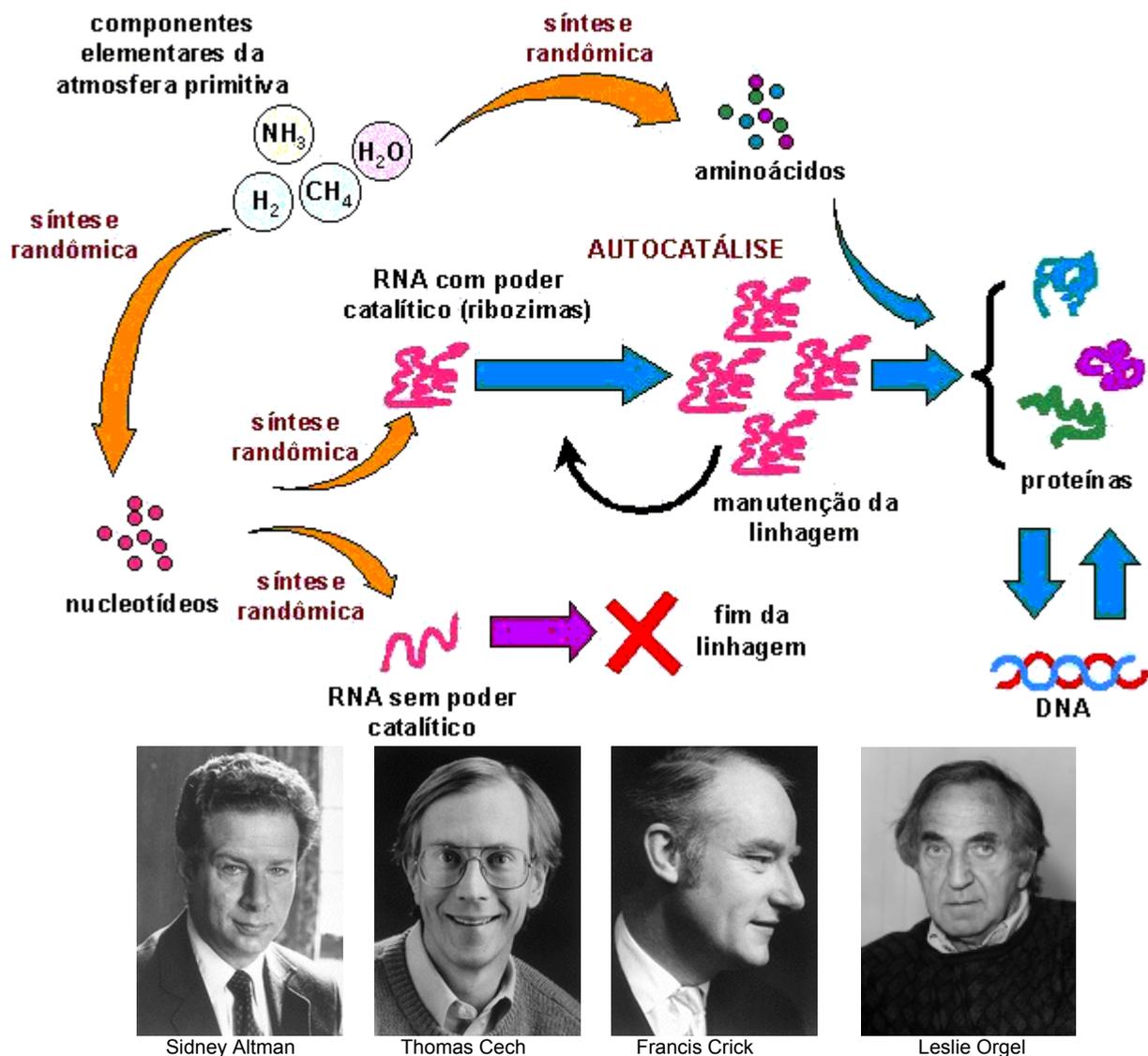


Figura 2 – A molécula de RNA com poder catalítico deve ter sido a primeira biomolécula a ter sido sintetizada de maneira não randômica, o que garantiu a perpetuação das moléculas mais estáveis durante milhões de anos de experimentação aleatória. Acima, os autores desta teoria que supõe um “mundo de RNA” pré-biótico. (Fotos: www.nobel.se)

Esses microambientes ricos em macromoléculas favoreceram a ação catalítica dessas ribozimas sobre aminoácidos (gerados por síntese randômica), gerando polipetídeos específicos que, em virtude de suas propriedades químicas naturais, passam a exercer uma ação catalítica mais complexa e, em um frenético processo de síntese orgânica, chegam a formar um agrupamento de biomoléculas que reagem entre si reguladas por um equilíbrio químico específico que, quando não adaptado às condições químicas do ambiente, levam ao decaimento das concentrações dos substratos e aquele ambiente reacional deixava de existir.

Este processo primitivo de morte selecionou os grupos de moléculas mais adaptados quimicamente às condições ambientais e a seleção natural passa a exercer sua ação evolutiva permitindo a sobrevivência dos mais adaptados.

A seleção natural não é a essência da evolução, mas o principal mecanismo pelo qual as espécies hoje adquirem sua adaptabilidade e diversidade genética. Mesmo as biomoléculas primordiais estavam sujeitas às leis da evolução e, mesmo sem haver um objetivo específico a ser atingido, as biomoléculas foram diversificando-se em protocélulas e criando massa crítica para o

surgimento da primeira célula primitiva inaugurando a vida em nosso planeta.

Um momento crítico para o surgimento da primeira célula era a existência de estruturas químicas que possibilitassem reações em ambientes aquosos diferentes ao do meio externo. Em 1972, o cientista americano Sidney Fox demonstrou a formação de microesferas após o aquecimento contínuo dos compostos orgânicos do experimento de Miller (Figura 3).

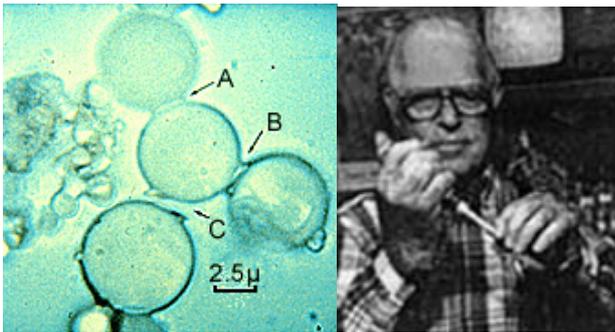


Figura 3 – As microesferas de Sidney Fox e seu descobridor, indicado para o Prêmio Nobel por seu trabalho.
(Fonte: <http://www.siu.edu/~protocell>)

Tais teorias são fortemente apoiadas por experimentos científicos rigidamente controlados, realizados por renomados cientistas e publicadas em revistas científicas especializadas com rígido corpo editorial. Todavia não são isentas de críticas, pois apenas pintam um cenário químico provável para o surgimento da vida em tempos imemoriais.

A comprovação poderá ser feita caso seja encontrado outros sistemas biológicos primitivos em outros planetas com condições afins às propostas pela ciência atual. Ainda assim, restará a dúvida: não poderia a vida ter sido originada aqui na Terra e enviada para esses ambientes extraterrestres através de meteoritos, por exemplo. Ou então o contrário: a vida teria surgido em outro lugar, que não a Terra e para cá migrado em cometas ou meteoros?

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERTS B, BRAY D, ALEXANDER J, LEWIS J, RAFF M, ROBERTS K & WALTER P. **Fundamentos da Biologia Celular: uma introdução à biologia molecular da célula**. Artmed, Porto Alegre, 1999.
- CAMPBELL MK. **Biochemistry**. 2nd ed., Saunders College Publishing, Philadelphia, 1995.
- CECH TR. **RNA as an enzyme**. *Sci. Amer.* **255** (5), 64-75, 1986.
- LEWIN R. **RNA Catalysis Gives Fresh perspective on the origin of life**. *Science* **231**, 545-546, 1986.

LITERATURA RECOMENDADA

- ARTHUR W. The emerging conceptual framework of evolutionary developmental biology. *Nature*, 415(14):757-764, 2002
- CAIRNS-SMITH AG. **The first organisms**, *Sci. Amer.* **252** (6), 90-100, 1985.
- FUTUYMA DJ. **Biologia Evolutiva**. Sociedade Brasileira de Genética/CNPq. São Paulo, 1993.
- GODFREY J. **The Wonderland of primordial life: Book review**. *Nature*, **405**, 619 - 620 (08 Jun 2000)
- LENTON TM. **Gaia and natural selection**. *Nature*, **394**, 439 – 447, 1998.
- VIDEIRA AAP & EL-HANI CN. (Eds.) **O que é vida? Para entender a biologia do século XXI**. Faperj/Editora Relume Dumará. Rio de Janeiro, 2000.

REFERÊNCIAS DA INTERNET

- **A Brief History of Biochemistry**: <http://www.wvc.edu>
- **Biologia Evolutiva**
<http://www.nceas.ucbs.edu/~lroy/lefa/lophodon.html>
- **Entrevista com Dr. Stanley Miller**:
<http://www.accessexcellence.com/WN/NM/miller.html>
- **Microesferas de Sidney Fox**:
<http://www.siu.edu/~protocell/>
- **O que é vida?** <http://www.nbi.dk/~emmeche>
- **The Nobel Prize Official Site**: <http://www.nobel.se>

LITERATURA RECOMENDADA

VIDEIRA, A.A.P & EL-HANI, C.N. **O que é vida? Para entender a biologia do século XXI.** Faperj - Editora Relume Dumará. Rio de Janeiro, 2000.

INTERNET

O que é vida? <http://www.nbi.dk/~emmeche>

Biologia Evolutiva: <http://www.nceas.ucbs.edu/~lroy/lefa/lophodon.html>

Carta de Thomas Huxley sobre a inexistência de *Bathybius* - Nature (August 1879):
<http://aleph0.clarku.edu/huxley/UnColl/Nature/Rep-BAAS.html>

The Challenger Expedition: http://www.oceansonline.com/challenger_ex.htm

Entrevista com Dr. Stanley Miller: <http://www.accessexcellence.com/WN/NM/miller.html>

Microesferas de Sidney Fox: <http://www.siu.edu/~protocell/>